اختبرت حساسية 56 عزلة تعود لبكتريا *K. pneumoniae* بطريقة انتشار القرص جدول (4-6) اذ أظهرت هذه العزلات نسبة مقاومة 100% لمضاد الـCarbencilline، بينما جاءت نسبة المقاومة لمضادي الـPepracilline، Ticarcilline هي 83.9%، 75% على التوالي والتي تقع ضمن مجموعة البنسلينات، اما بالنسبة لسيفالوسبورينات الجيل الثالث ومنها Ceftazidime، Ceftriaxone، Cefotaxime فقد جاءت نسب المقاومة لها هي 75.6%، 71.4%، 69.6% على التوالي اما بالنسبة لمضادات الـMonobactams فقد اظهرت عزلات بكتريا *K. pneumoniae* نسبة مقاومة لمضاد الـMonobactam قد بلغت 64.2%.

كما بينت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة المقاومة لمضاد الـCefoxitin هي 44.6% كما أشارت النتائج الى إن العلاج الأمثل للإصابات التي تسببها *K. pneumoniae* هو المضاد الحيوي الـImepenem إذ جاءت جميع العزلات قيد الدرس حساسة لهذ المضاد وبنسبة 100%، بينما سجلت النتائج ارتفاعاً طفيفاً في نسبة المقاومة لمضاد الـMeropenem إذ بلغت 4%.

أشارت النتائج الى ان نسبة المقاومة لمضاد الـAmoxi-Calvهي 75.7%، بينما كانت نسبة المقاومة لمضادات الـCefexime، Cefepime، Cephalexin هي 73.2%، 60.7%، 69.6% على التوالي، اما بالنسبة لمضاد الـCefoxitin فقد كانت نسبة المقاومة لهُ هي 44.6%.

أوضحت النتائج وجود انخفاض ملحوظ في مقاومة العزلات لمضادات الـAminoglycosides ومنها الـAmikacin اذ بلغت 10.7%، اما بالنسبة لمضادات الـQuinolones ومنها الـNalidixic acid اذ بلغت نسبة المقاومة لهذا المضاد 48.2%، في حين بلغت نسبة المقاومة 7.5% لمضاد الـCiprofloxacin وهو احد مضادات الـFloroquinolones.

اعتبرت العزلات السريرية من ذوات المقاومة المتعددة جدول (4-8) في حال أظهرت مقاومة لثلاث او اكثر من المضادات التي تعود للأصناف الرئيسية Penicillins، Cephalosporins وAminoglycosides وغيرها.

جدول (4-6): مقاومة عزلات *K. pneumoniae* للمضادات الحيوية

انواع المضادات الحيوية	عدد ونوع العينات البكتيرية المقاومة للمضادات الحيوية(%)			عدد العزلات المقاومة (%)
	33 Urine	17 Wound	6 Burns	
Piperacillin	28(84.8%)	13(76.5%)	6(100%)	47(83.9%)
Ticarcilline	27(81.8%)	9(75%)	6(100%)	42(75%)
Carbenicline	33(100%)	17(100%)	6(100%)	56(100%)
Cefotaxime	24(72.7%)	11(91.7%)	4(66.7%)	39(69.6%)
Ceftriaxone	22(66.7%)	15(88.2%)	3(50%)	40(71.4%)
Ceztazidime	26(78.8%)	14(82.4%)	2(33.3%)	42(75%)
Aztreonam	28(84.8%)	4(23.5%)	4(66.7%)	36(64.3%)
Cefoxitin	20(60.6%)	2(11.8%)	3(50%)	25(44.6%)
Cephalexin	25(75.8%)	11(64.7%)	3(50%)	39(69.6%)
Cefixime	27(81.8%)	9(52.9%)	5(4.7%)	41(73.2%)
Cefepime	13(39.4%)	6(35.3%)	5(14.7%)	34(60.7%)
Amoxi-clav	32(97%)	10(58.8%)	6(100%)	48(85.7%)
Amikacin	0(0.0%)	4(23.5%)	2(33.3%)	6(10.7%)
Ciprofloxacin	8(24.2%)	5(29.4%)	1(16.7%)	14(25%)
Imipenem	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)
Meropenem	1(50%)	0(0.0%)	1(50%)	2(3.6%)
Nalidixic acid	19(57.6%)	5(29.4%)	3(50%)	27(48.2%)

اختبرت حساسية 64 عزلة *E. coli* تجاه 17 مضاداً حيوياً اذ بينت النتائج وكما في الجدول (4-7) ان هنالك مقاومة مرتفعه نسبياً ابدتها عزلات *E. coli* لمضادات البيتالاكتام، والمتمثلة بالبنسلينات مثل، مضادات الـ Ticarcilline، اذ بلغت نسبة المقاومة له 87.5%.

اما مضادات Carbencilline، Pepracilline اذ جاءت نسب المقاومة لها 82.8%، 78.1% على التوالي، وللجيل الثالث من السيفالوسبورينات متمثلتاً بـ Cefotaxime، Ceftazidime ، Ceftriaxone اذ جاءت نسب المقاومة لها 75%، 73.4%، 68.8% على التوالي وهي نسب مرتفعه الى حد ما. اما بالنسبة لمضاد الـAztreonam فقد كانت نسبة المقاومة له 62.5%.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية إن نسبة المقاومة لمضاد Amoxi-Clav هي 71.9%، كما اظهرت النتائج إن نسبة مقاومة مضاد الـImipenem و الـ Meropenem هي 6.28%، 4.7% على التوالي وهي نسب منخفظة نسبياً. كما اشارت النتائج ان العزلات التي مصدرها عينات الادرار كانت حساسة وبنسبة 100% لمضادات الـImipenem، Amikacin ، Ciprofloxacin كما تبين من الجدول (4-7).

كما اكدت نتائج الدراسة الحالية وجود انخفاض ملحوظ في مقاومة عزلات الـ*E. coli* لمضادات الـ Aminoglycosides ومنها الـAmikacin اذ أظهرت مقاومة منخفضة نسبياً بلغت 4.7%. كما اظهر مضاد الـCiprofloxacin وهو من مضادات الـFloroquinolones فعالية متوسطة ضد عزلات بكتريا *E. coli* اذ كانت نسبة المقاومة تجاه هذا المضاد هي 53.1%.

اما مضادات الـQuinolones ومنها الـNalidixic acid فقد اظهرت نسبة مقاومة هي 51.6%. كما اوضحت نتائج الدراسة الحالية ان عزلات بكتريا *E. Coli* لها نسبة مقاومة للـ Cephalexin، Cefepime، Cefixime هي 68.8%،65.6 %، 64.1% على التوالي اما بالنسبة لمضاد الـCefoxitin فقد جاءت نسبة المقاومة لهُ 42.2%.

جدول (4-7): مقاومة عزلات الـ *E. coli* للمضادات الحيوية المعزولة من العينات السريرية

انواع المضادات الحيوية	عدد (%) العزلات المقاومة			مجموع العزلات المقاومة (%)
	32 Urine	30 Wound	2 Burns	
Piperacillin	27(84.4%)	21(70%)	2(100%)	50(78.1%)
Ticarcilline	28(87.5%)	26(86.7%)	2(100%)	56(87.5%)
Carbeniclline	27(84.4%)	24(80%)	2(100%)	53(82.8%)
Cefotaxime	22(68.8%)	20(66.7%)	2(100%)	44(68.8%)
Ceftriaxone	23(71.9%)	22(73.3%)	2(100%)	47(73.4%)
Ceztazidime	26(81.3%)	20(66.7%)	2(100%)	48(75%)
Aztreonam	25(78.1%)	13(43.3%)	2(100%)	40(62.5%)
Cefoxitin	17(53.1%)	9(30%)	1(50%)	27(42.2%)
Cephalexin	25(78.1%)	17(56.7%)	2(100%)	44(68.8%)
Cefixime	24(75%)	15(50%)	2(100%)	41(64.1%)
Cefepime	18(56.3%)	22(73.3%)	2(100%)	42(65.6%)
Amoxi-clav	25(78.1%)	19(63.3%)	2(100%)	46(71.9%)
Amikacin	0(0.0%)	2(6.7%)	1(50%)	3(4.7%)
Ciprofloxacin	19(59.4%)	10(33.3%)	1(50%)	34(53.1%)S
Imipenem	0(0.0%)	0(0.0%)	0(0.0%)	1(6.25%)
Meropenem	0(0.0%)	2(6.7%)	1(50%)	3(4.7%)
Nalidixic acid	22(68.8%)	11(36.7%)	0(0.0%)	33(51.6%)

اوضحت الدراسة ان اغلب عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*، *K. pneumoniae*، *E. coli* قد اظهرت المقاومة لثلاث اصناف او اكثر من المضادات الحيوية اذ اعتبرت من ذوات المقاومة المتعددة (MDR) كما هو موضح في الجدول (4-8).

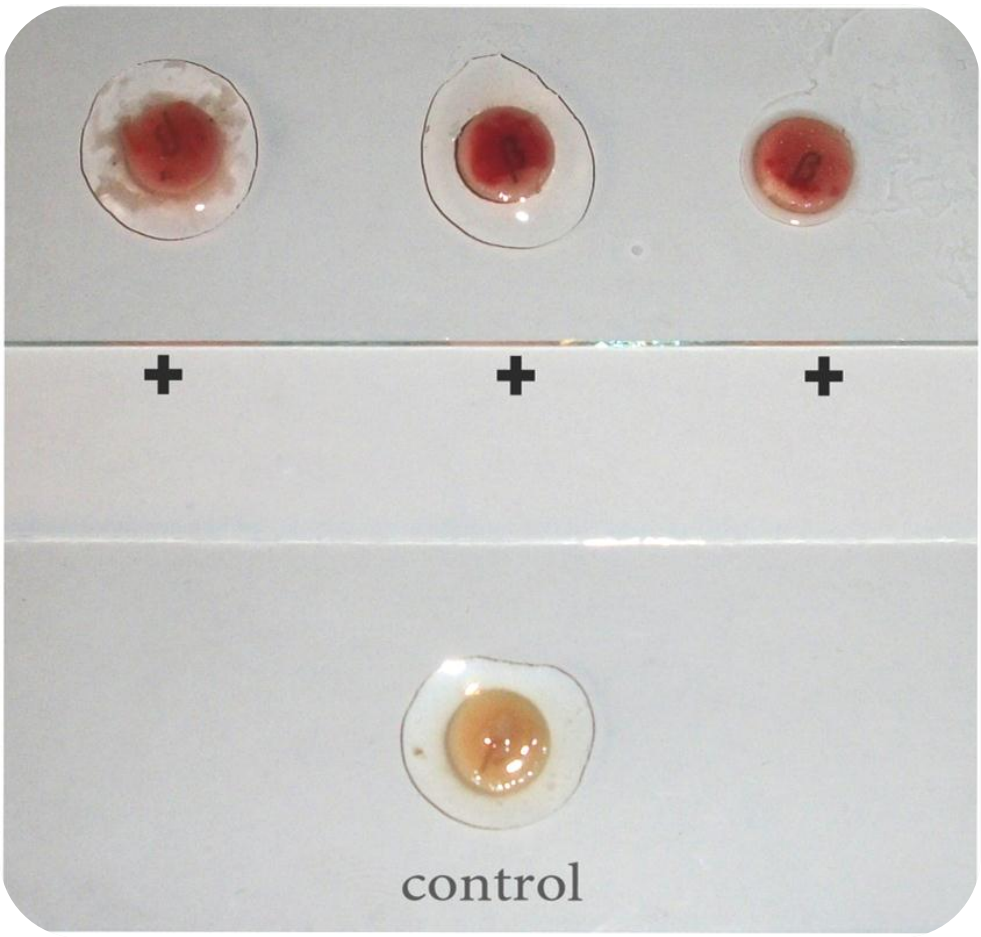
جدول (4-8): العزلات التي اظهرت نمط المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية

العزلة	العدد	العزلات التي تظهر نمط المقاومة المتعددة(%)
		العدد
Ps. aeruginosa	25	25 (%100)
K. pneumoniae	56	56 (%100)
E. coli	64	61 (95.3%)
المجموع	145	142 (97.9%)

4.4: التحري عن إنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز Detection of β-lactamases

1.4.4: اختبار قرص النايتروسيفين للتحري عن انتاج إنزيمات البيتالاكتاميز Detection of β-lactamases by cefinase disc

اختبرت 145 سلالة بكتيرية مقاومة لمضادات البيتالاكتام تعود للانواع البكتيرية قيد الدراسة باستخدام أقراص النايتروسيفين لغرض التحري عن إنزيمات البيتالاكتاميز وبصورة عامة، إذ أظهرت جميع عزلات الـ *Ps. aeruginosa* قابليتها على إنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز وبنسبة 100%، اما الـ *K. pneumoniae* و*E. coli* فكانت نسب إنتاجها لهذه الإنزيمات هي 57.1%، 35.9% على التوالي بينما بلغت النسبة الكلية لإنتاجها (56.6%) ويبين الشكل (4-1) والجدول (4-9) نتائج هذا الاختبار.



الشكل (4-1): قرص النايتروسيفين للتحري عن العزلات المنتجة للبيتالاكتاميز

جدول(4-9): إنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز بطريقة قرص النايتروسيفين للعزلات البكتيرية:

العزلة	عدد العزلات	العزلات المنتجة للبيتالاكتاميز (%)
Ps. aeruginosa	25	25(100%)
K. pneumoniae	56	32(57.1%)
E. coli	64	25(39.1%)
المجموع	145	82(56.6%)

2.4.4: التحري عن قابلية انتاج انزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف

Detection of extended spectrum β-lactamases (ESBL)

1.2.4.4: اختبار التحري الأولي Initial screening test

أظهرت نتائج الدراسة الحالية كما في الجدول (4-10) إن أفضل دليل على احتمالية انتاج انزيمات البيتالاكتاميز هو الحساسية لسيفالوسبورينات الجيل الثالث والـAztreonam اذ بلغت نسبة المقاومة لمضاد الـ Ceftazidime 72.6% وشكل الـAztreonam نسبة مقاومة بلغت 68.3% بينما اظهر كل من الـCeftriaxone، Cefotaxime نسب مقاومة هي 76.6%، 74.4% على التوالي من بين العدد الكلي للعزلات المدروسة.

أوضحت النتائج ان (96.6%) 140 من العزلات المدروسة أظهرت احتمالية إنتاج الإنزيمات واسعة الطيف في اختبار التحري الأولي جدول (4-11).

جدول (4-10): نتائج التحري الأولي عن الانزيمات الواسعة الطيف للعزلات المدروسة

العزلة	CAZ	CTX	CRO	ATM
Ps. aeruginosa	24(96%)	25(100%)	24(96%)	23(84%)
K. pneumoniae	42(75%)	39(69.6%)	40(70.4%)	36(64.2%)
E. coli	48(75%)	44(68.8%)	47(73.4%)	40(62.5%)
المجموع	114(78.6%)	108(74.4%)	111(76.6%)	99(68.3%)

Aztreonam =ATM ،Ceftriaxone = CRO ،Cefotaxime =CTX ،Ceftazidime = CAZ

جدول (4-11): العدد الكلي للعزلات المنتجة لإنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف

ت	العزلة	عدد	العدد(%) للعزلات المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز
1	*Ps. aeruginosa*	25	25(100%)
2	*K. pneumoniae*	56	56(100%)
3	*E. coli*	64	59(96.9%)
	المجموع	145	140(96.6%)

2.2.4.4: فحص الأقراص المزدوجة التازري Double disk synergy test

اختبرت 145 عزلة تعود لثلاث انواع بكتيرية هي *Ps. aeruginosa*، *K. pneumoniae*، *E. coli* إذ أظهرت نتائج الدراسة عدم فاعلية هذا الاختبار في الكشف عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف في بكتريا *Ps. aeruginosa*، إذ جاءت هذا نتائج الاختبار سالبة لجميع العزلات وبنسبة 100%.

كما أكدت نتائج الدراسة الحالية قابلية عزلات *K. pneumoniae*، *E. coli* على إنتاج الإنزيمات واسعة الطيف اذ وجد ان 20.7%، 64.8%، من العزلات ذات قابلية على انتاج هذه الإنزيمات كما يبين الجدول (4-12) كما إن نسبة إنتاج هذه الإنزيمات من قبل الـ*E. coli* أعلى منها بالنسبة للـ *K. pneumoniae*. اذ يبين الجدول (4-13) نسبة انتشار هذه الانزيمات حسب مصدر العزل بطريقة الاقراص المزدوجة التازرية.

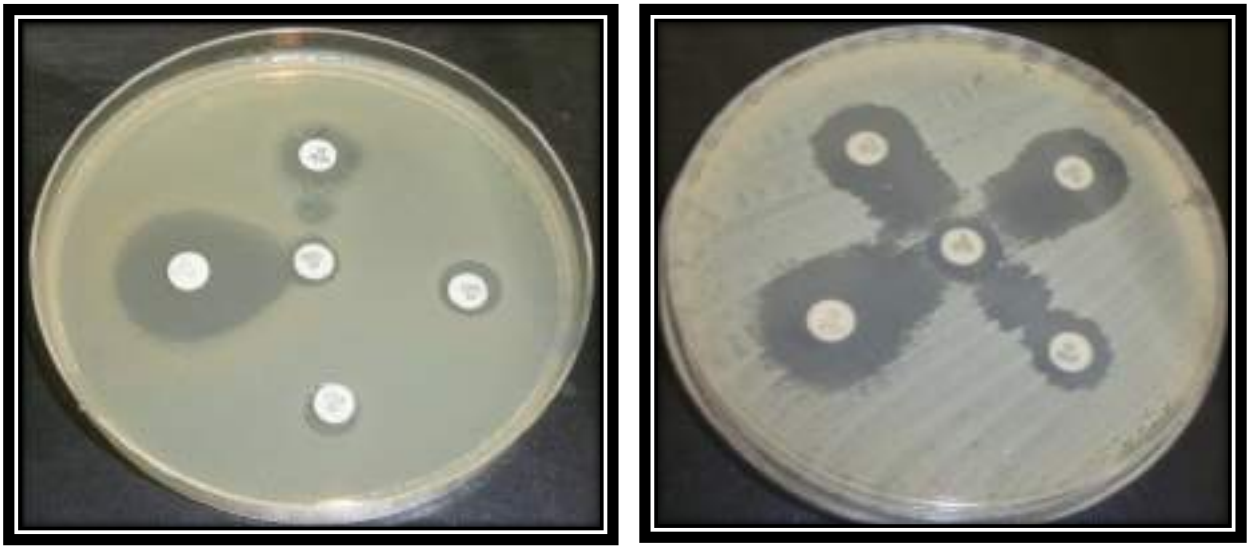
جدول(4-12): قابلية إنتاج العزلات للإنزيمات واسعة الطيف بطريقة تآزر القرص المزدوج

العزلة	عدد العزلات	عدد العزلات المنتجة (%)
Ps. aeruginosa	**25**	**0(0.0%)**
K. pneumoniae	**56**	**21(37.5%)**
E. coli	**64**	**9(14.1%)**
المجموع	**145**	**30(20.7%)**

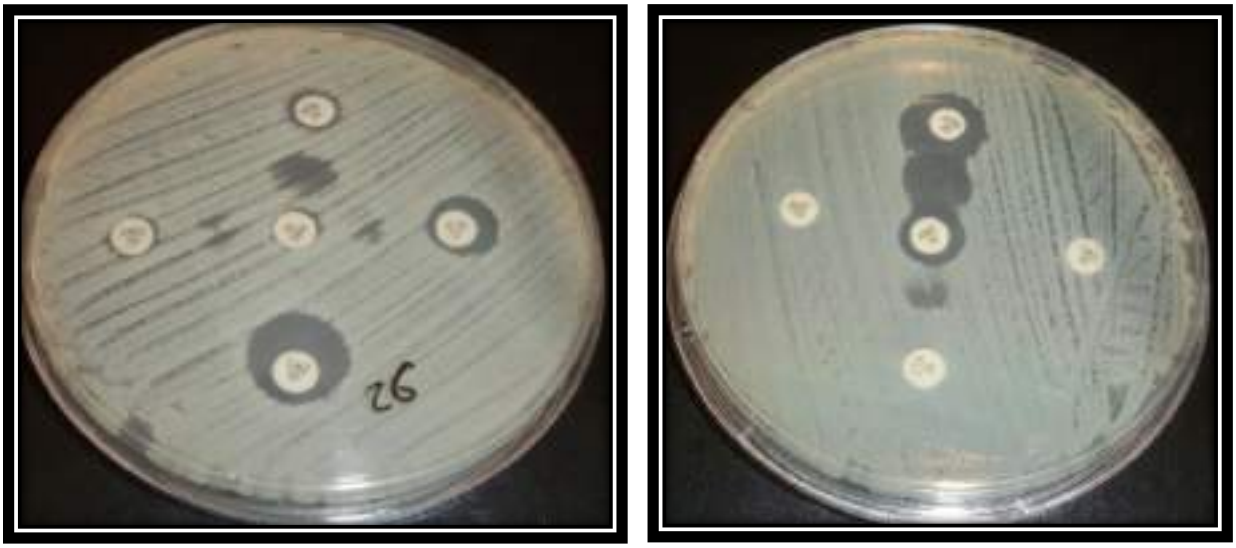
جدول(4-13): يبين العزلات المنتجة للبيتا لاكتاميز حسب مصادر عزلها

العزلة	العدد	العزلات المنتجة للإنزيمات الواسعة الطيف			المجموع
		Urine	Wound	Burns	
Ps. aeruginosa	25	0(0.0%)	-	0(0.0%)	0(0.0%)
K. pneumoniae	56	17(60.7%)	3(12%)	1(7.7%)	21(37.5%)
E. coli	64	7(10.9%)	2(3%)	0(0.0%)	9(14.1%)

(-): لم تعزل من الجروح



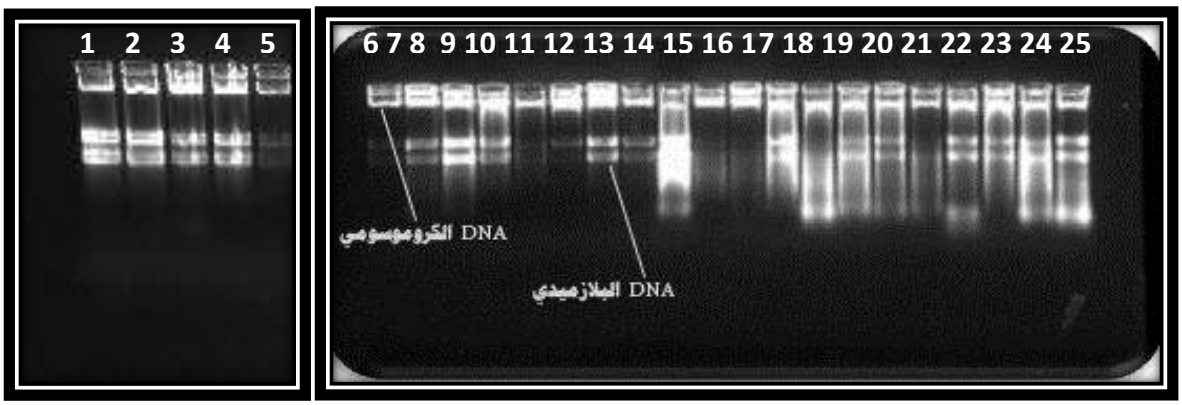
الشكل(4-2): اختبار التحري عن إنزيمات البيتالاكتاميز بطريقة القرص التازري المزدوج لبكتريا *K. pneumoniae* (Kp2, Kp8, from right to left)



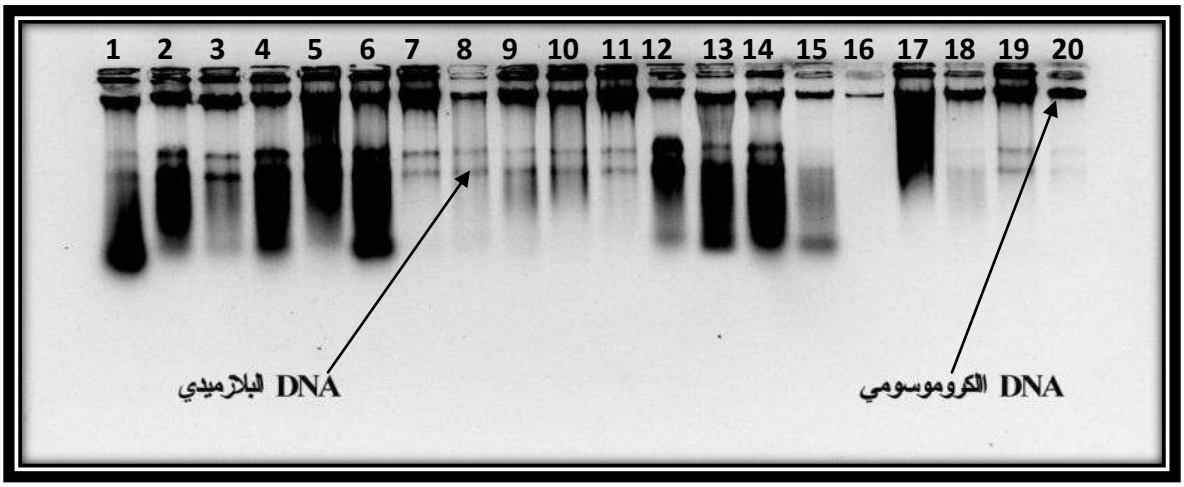
الشكل(4-3): اختبار التحري عن إنزيمات البيتالاكتاميز بطريقة القرص التازري المزدوج لبكتريا *E. coli* (EC33. EC26, from right to left)

5.4: دراسة النسق البلازميدي للعزلات: Plasmid profile of bacterial isolates

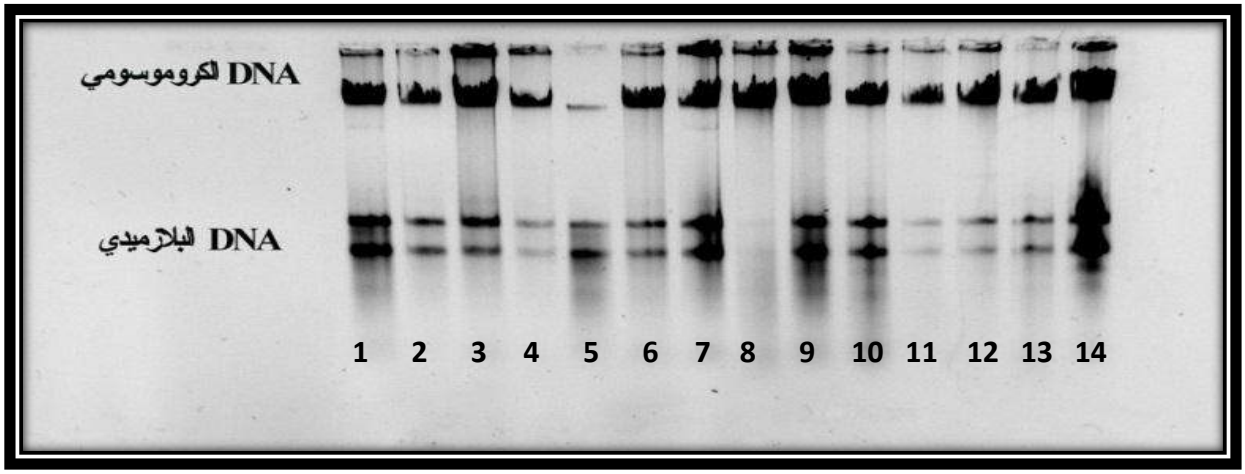
تم التحري عن المحتوى البلازميدي لعزلات كل من *Ps. aeruginosa*، *K. pneumoniae*، *E. coli*، على التوالي للعزلات التي أظهرت نمط المقاومة لجميع مضادات البيتالاكتام والمقاومة المتعددة للمضادات الحيوية المختلفة، والتي اثبتت قدرتها على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز، فقد أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي وجود نسق متشابه لمعظم العزلات، اذ امكن التميز بين الحزم الموجودة، فقد احتوت معضمها عل حزمتين بلازميديتين متشابهتين في الشكل والموقع، وكما موضح في الشكل (4-4)، (4-5)، (4-6) للبكتريا المذكورة.



الشكل (4-4): الترحيل الكهربائي للـDNA الكلي المستخلص من عزلات *Ps. aeruginosa*



الشكل (4-5): الترحيل الكهربائي للـDNA الكلي المستخلص من عزلات *K. pneumoniae*



الشكل (4-6): الترحيل الكهربائي للـDNA الكلي المستخلص من عزلات *E. coli*

6.4: التحر الجزيئي عن انزيمات البيتالاكتاميز-β Molecular detection of β-lactamases

بين الجدول (4-14) والشكل (4-8 A,B) آن 25/14 من عزلات *Ps. aeruginosa* وبنسبة (56%) من العزلات تمتلك المورث bla_{SHV}، إي بواقع (100%)2/2 من البكتريا التي حصلنا عليها من الإدرار، و23/12 (52.2%) من البكتريا التي حصلنا عليها من مسحات الحروق.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن (27%) 25/7من عزلات *Ps. aeruginosa* قيد الدراسة احتوت على المورث bla_{TEM} جدول (4-15) وكما في الشكل (4 A,B -7) وجميعها من مسحات الحروق فيما خلت العزلات التي حصلنا عليها من الإدرار من هذا المورث.

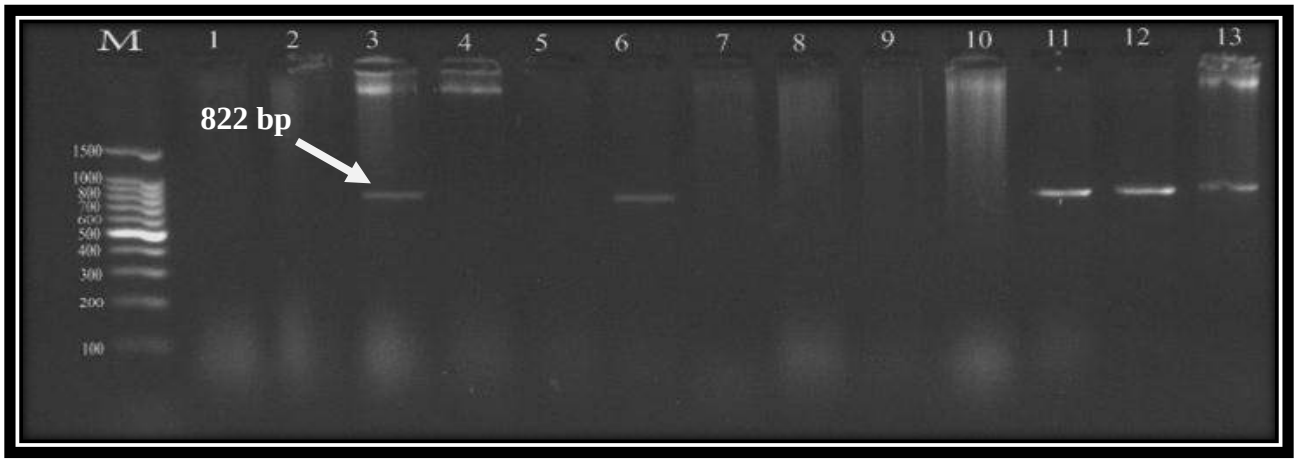
جدول (4-14): توزيع مورثات البيتالاكتاميز واسعة الطيف بين العزلات قيد الدراسه

العزلة	عدد العزلات	انواع إنزيمات البيتالاكتاميز	
		bla_{TEM}	bla_{SHV}
Ps. aeruginosa	25	7(28%)	14(56%)
K. pneumoniae	21	3(14.3%)	7(33.3%)
E. coli	9	2(22.2%)	2(22.2%)
المجموع	55	12(21.8%)	10(18.2%)

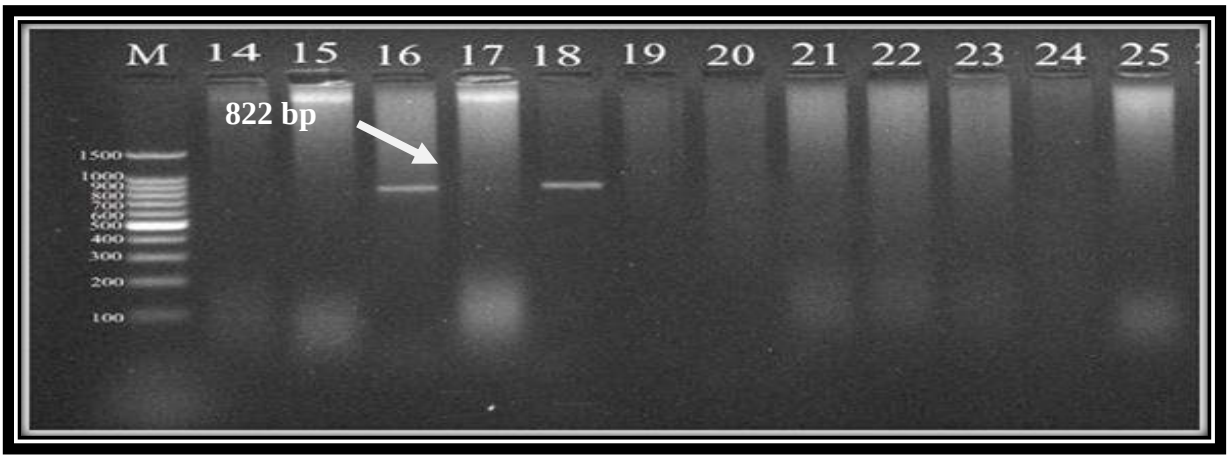
جدول(4-15): توزيع مورثات إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف والنسب المئوية بين عزلات *Ps. aeruginosa*

مصدر العزلة	العدد	bla_{TEM}	bla_{SHV}	bla_{SHV} + bla_{TEM}
Urine	2	0(0.0%)	2(100%)	0
Burns	23	7(30.4%)	12(52.2%)	4
المجموع	25	7(23.7%)	14(56%)	4

بينت النتائج كما في الجدول (4-14) ان 25/4(16%) من العزلات قيد الدرس كانت تمتلك نوعين من مورثات إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف إذ شملت كلا من الإنزيم bla_{TEM}، bla_{SHV} وكانت25/12(48%) من العزلات تمتلك نوعاً واحدا من المورثات، في حين كانت 25/8(32%) من العزلات لاتمتلك إي نوع من انواع المورثات قيد الدراسة.



لشكل (4A-7): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{TEM} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*



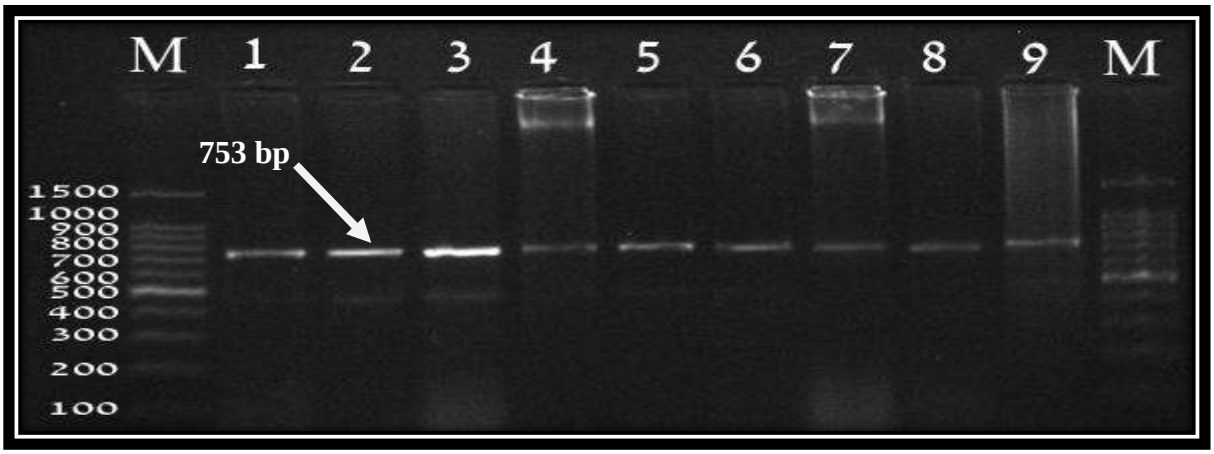
لشكل (7-4B): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{TEM} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*

Lanes: (**PA,**3,6,11,12,13,16,18) =Positive for ***bla*$_{TEM}$** gene.

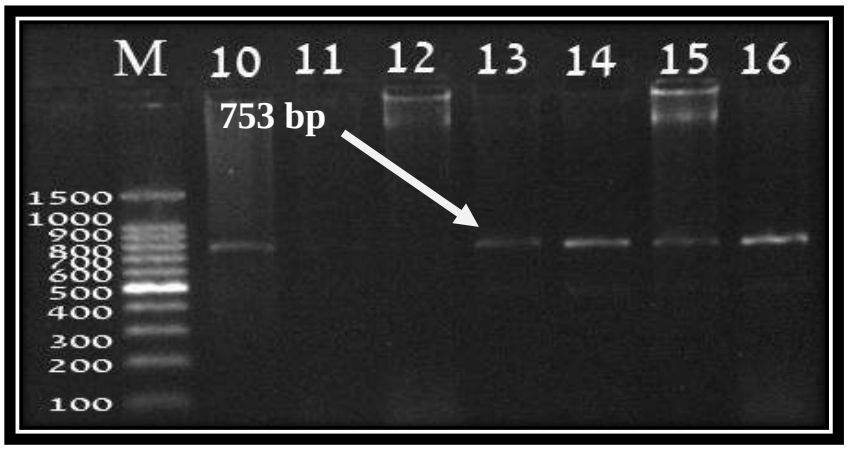
Lanes: (**PA**, 1,2,4,5,7,8,9,10,14,15)= Negative for ***bla*$_{SHV}$** gene.

M= Molecular weight marker (100-bp DNA ladder).

PA=*PS. aeruginosa*



الشكل(8-4A): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{SHV} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*



الشكل(B 4-8): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{SHV} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*

Lanes: (PA, 1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,13,14,15,16)=Positive for bla_{SHV} gene.

Lanes: (PA, 1,2,4,5,7,8,9,10,14,15)= Negative for bla_{SHV} gene.

M= Molecular weight marker(100-bp DNA ladder).

PA=*PS. aeruginosa*

اشارت نتائج الدراسة كما في الجدول (4-16) والشكل (A,B 4-9) ان (14.3%) 16/3عزلة *K. pneumoniae* تحتوي عل المورث bla_{TEM} وبواقع 16/2(12.5%) من العزلات التي مصدرها الادرار في حين أظهرت العزلات التي مصدرها الحروق 5/1 (20%)، كما أظهرت الدراسة الحالية ان 21/7(33.3%) من العزلات تحتوي المورثbla_{SHV} وبواقع 16/5(31.3%) للعزلات التي مصدرها الادرار، واظهرت 5/2 (40%) من العزلات التي مصدرها الحروق.

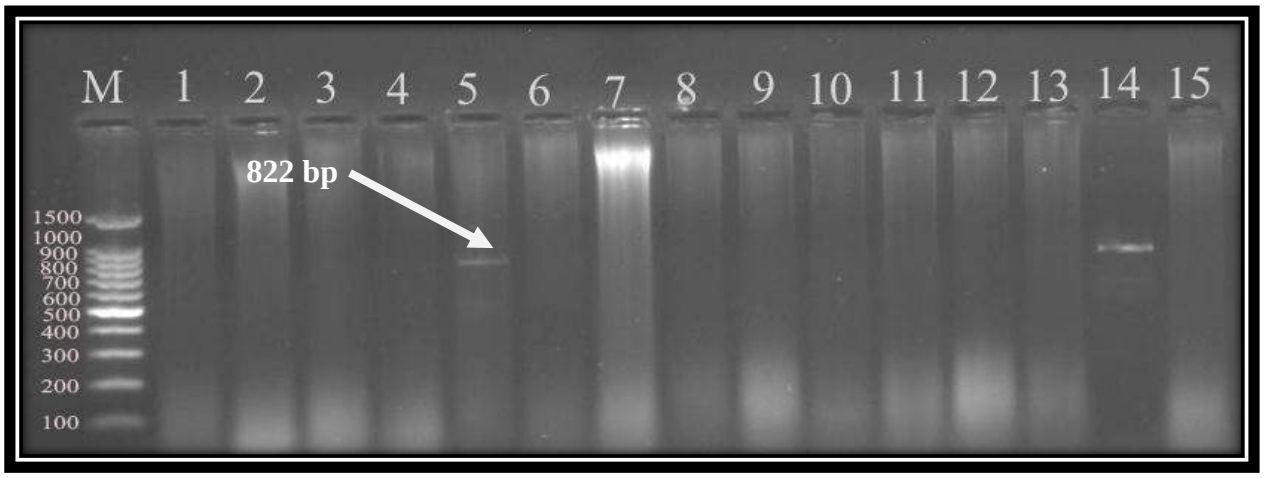
جدول (4-16): يبين توزيع مورثات إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف والنسب المئوية بين عزلات *K. pneumoniae*

مصدر العزلة	العدد	bla_{TEM}	bla_{SHV}
Urine	16	2(12.5%)	5(31.3%)
Burns	5	1(20%)	2(40%)
المجموع	21	3(14.3%)	7(33.3%)

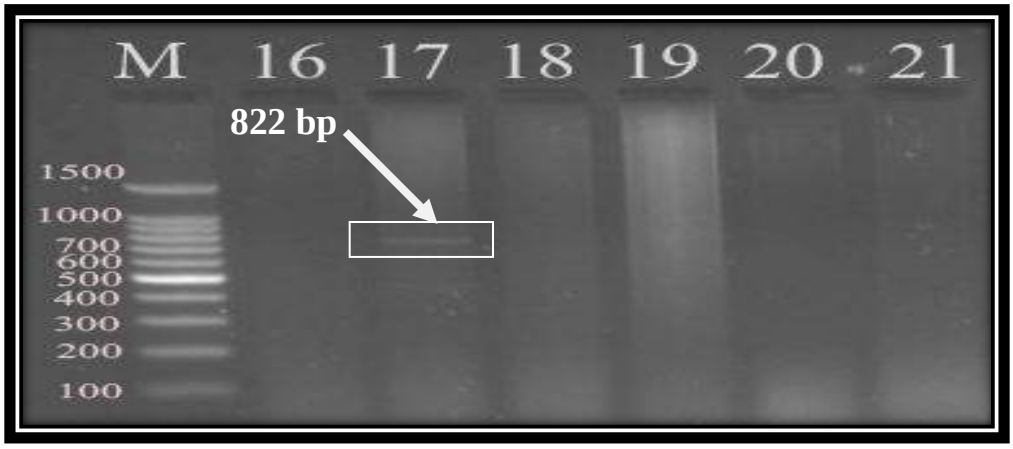
اوضحت النتائج كما في الجدول (4-17) إن 21/10(52.4%) من العزلات كانت تمتلك مورثات إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف إذ شملت كلا من الإنزيم bla_{TEM}، bla_{SHV} وكانت 21/7(38.1%) من عزلات بكتريا *K. pneumoniae* تمتلك نوعاً واحداً من مورثات البيتالاكتاميز واسعة الطيف، في حين كانت 21/2(57.1%) من العزلات لاتمتلك إي من إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف جدول (4-17).

جدول(4-17): توزيع موثات البيتالاكتاميز واسعة الطيف بين عزلات *K. pneumoniae*

مصدر العزل	انواع مورثات البيتالاكتاميز		
	bla_{TEM}	bla_{SHV}	$bla_{TEM} + bla_{SHV}$
Urine	1	5	0
Burns	2	2	1
المجموع	3	7	1



الشكل(4A-9): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{TEM} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *K. pneumoniae*

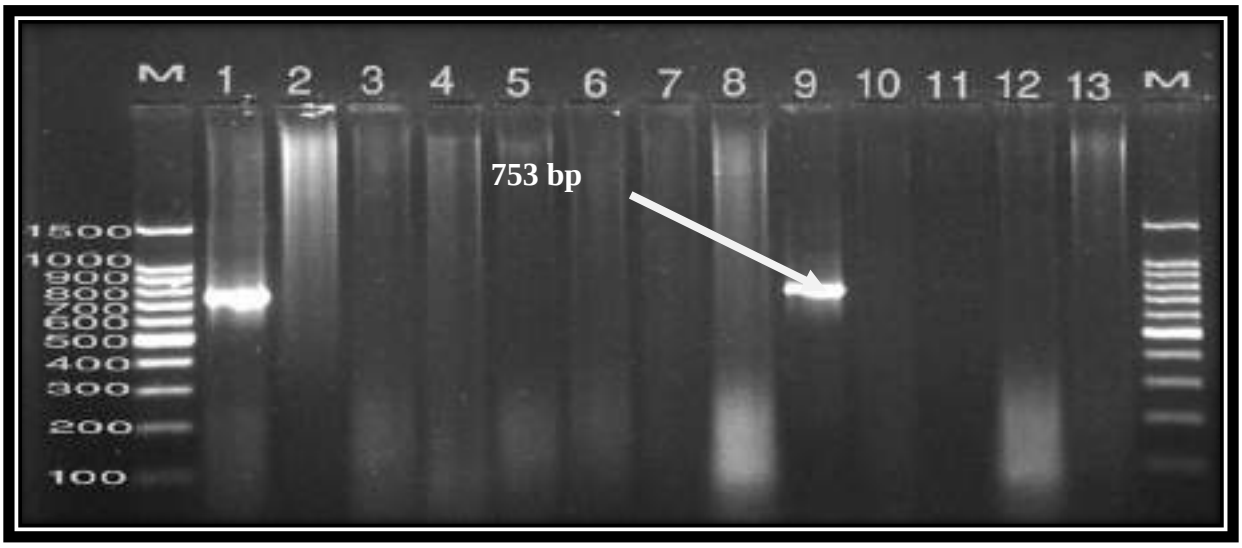


الشكل(9-4B): الترحيل الكهربائي لمورث *bla*$_{TEM}$ المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *K. pneumoniae*

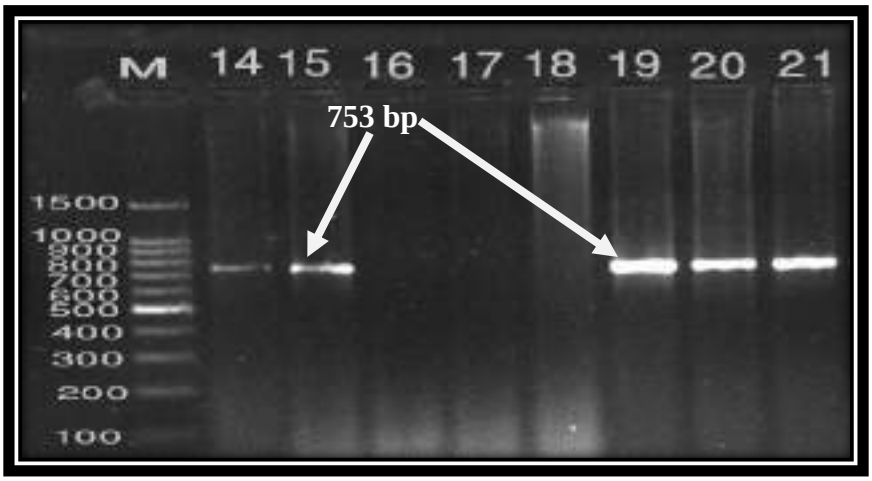
Lanes: (**KP**, ,5, 14,17)=Positive for ***bla*$_{TEM}$** gene.

Lanes: (**KP,** 1,2,4,6,7,8,9,10,11, 12,13,15,16,18,19,20,21)= Negative for ***bla*$_{TEM}$** gene.

M= Molecular weight marker (100-bp DNA ladder).



الشكل(10-4 A): الترحيل الكهربائي لمورث*bla*$_{SHV}$ المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *K. pneumoniae*



الشكل(4B-10): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{SHV} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *K. pneumoniae*

Lanes: (**KP**, 9, 14,15,19,20,21)=Positive for ***bla*$_{SHV}$** gene.

Lanes: (**KP,** 1,2,4,6,7,8 ,10,11, 12,13,14,15,16,17,18,)= Negative for ***bla*$_{SHV}$** gene.

M= Molecular weight marker (100-bp DNA ladder).

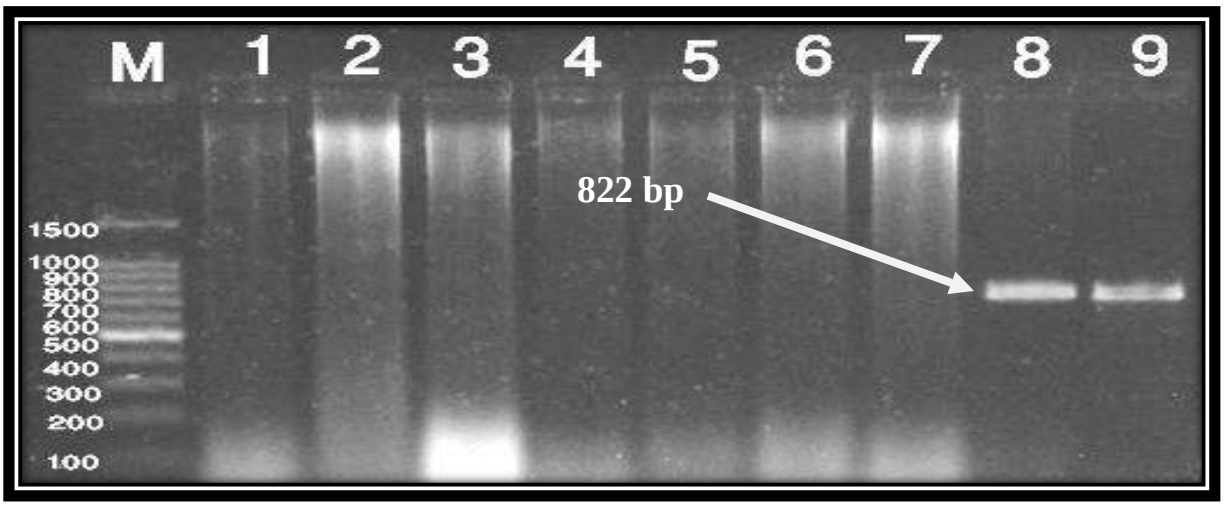
kp=*K. pneumoniae*

أظهرت النتائج ان (44.4%) من عزلات بكتريا الـ *E.coli* قيد الدرس تمتلك المورث bla_{TEM} و bla_{SHV} وبواقع 7/2(28.6%) للعزلات التي مصدرها الإدرار وبنفس النسبة 7/2 (28.6%) بالنسبة للمورث bla_{SHV}.

إما بالنسبة للجروح اظهرت بكتريا الـ *E.coli* خلوها من هذه المورثات، بينت النتائج إن العزلات التي تحتوي على مورثات bla_{TEM}، bla_{SHV} هي 9/4(44.4%) جدول (4-18) من العزلات المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف، اذ احتوت كل عزلة على مورث واحد فقط أما تلك التي لاتمتلك أي منها فقد بلغت 9/6 (66.7%) و كما في الشكلين (4-11) و(4-12).

جدول(4-18): توزيع مورثات إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف والنسب المئوية بين عزلات *E. coli*

مصدر العزلة	العدد	bla_{TEM}	bla_{SHV}	blaTEM+
Urine	7	2(28.6%)	2(28.6%)	0
Wound	2	0(0.0%)	0(0.0%)	0
المجموع	9	2(22.2%)	2(22.2%)	0



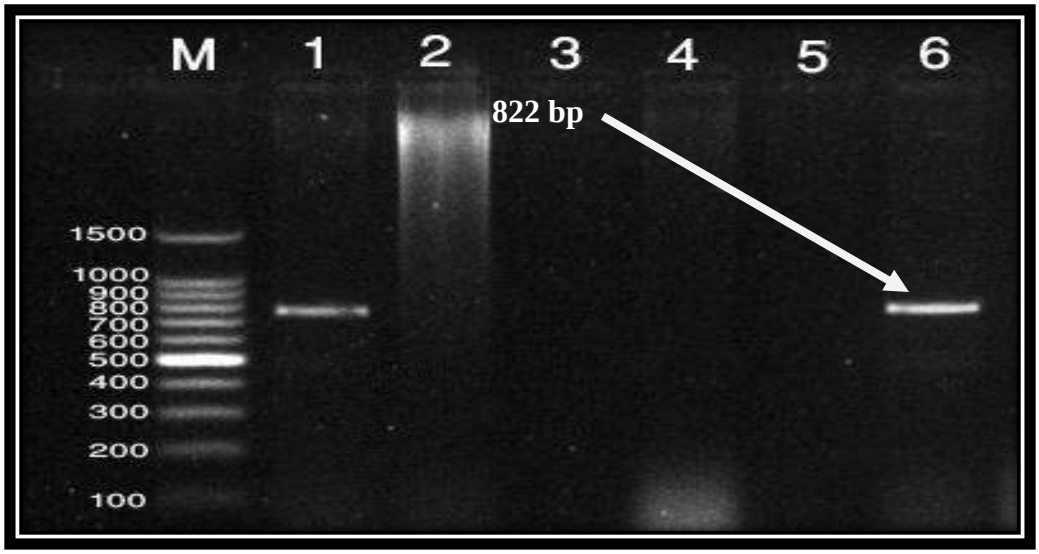
الشكل(4-11): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{TEM} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *E. coli*

Lanes: (**EC**, 8,9)=Positive for ***bla*$_{TEM}$** gene.

Lanes: (**KP,** 1,2,3,4,5,6,7)= Negative for ***bla*$_{TEM}$** gene.

M= Molecular weight marker (100-bp DNA ladder).

E.C=*E.coli*



الشكل (4-12): الترحيل الكهربائي لمورث *bla*$_{SHV}$ المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *E. coli*

Lanes: (**EC**, 1,6)=Positive for ***bla***$_{SHV}$gene.

Lanes: (**KP,** 2,3,4,5,7,8 ,9)= Negative for ***bla***$_{SHV}$ gene.

M= Molecular weight marker (100-bp DNA ladder).

EC=*E.coli*

7.4: إنتاج إنزيمات AmpC بيتا لاكتاميز AmpC β-lactamase production

1.7.4: فحص التحري الاولي عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز من النوع AmpC

اختبرت حساسية 55 عزلة تعود للانواع البكتيرية *P.aeruginosa*، *K.pneumoniae*، ضد الـ Cefoxitin اذ اظهرت 26 (47.3%) منها مقاومة لهذا المضاد 1،25 و بنسبة 32.9%، 4.7%، وعلى التوالي اما الـ*E.coli* فكانت جميعها حساسة لهذا المضاد، لذا فقد اعتمدنا في الدراسة الحالية على مقاومة البكتريا لهذا المضاد كأختبار تحري اولي عن هذه الانزيمات كما هو مبين في الجدول (4-19)

الجدول (4-19): النسب المئوية للعزلات المنتجة لإنزيمات الـ*AmpC* باستخدام اختبار التحري الأولي

العزلة	العدد	عدد(%) للعزلات الموجبة للاختبار
Ps. aeruginosa	25	25(32.9%)
K. pneumoniae	21	1(4.7%)
E. coli	9	0(0.0%)
المجموع	55	26(47.3%)

2.7.4:التحري عن مورثات bla_{AmpC} في عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*

أشارت النتائج إلى أن نسبة انتشار مورثات الـbla_{AmpC} بين العزلات البكتيرية كانت مرتفعه 25/18 (72%) ومن ملاحظة النتائج وجد ان نسبة انتشار هذا المورث بين العزلات التي مصدرها الإدرار 2/2 (100%) بينما كانت في العزلات التي مصدرها الحروق هي 23/16 (69.6%) كما في الجدول (4-20).

جدول(4-20): توزيع مورثات الـ*bla*AmpC بين عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* حسب البادئ الجاهز

مصدر العزلة	العدد	bla_{AmpC}
Urine	2	2(100%)
Burns	23	16(69.6%)
المجموع	25	18(72%)

بينت النتائج كما في الجدول (4-21) ان PAU3 كانت تمتلك انزيمي TEM، SHV اضافة الى انزيم AmpC كما يظهر من الجدول2 ان العزلات PAU3، PAB6 ، PAB13، PAB16 التي مصدرها من الادرار والحروق جميعها كانت منتجة لانزيمات الـTEM و SHV وكذلك كانت منتجة لانزيمات البيتالاكتاميز من نوع AmpC، وباستخدام كلا البادئين، في حين اظهرت العزلات PAU7، PAB1، PAB2، PAB5، PAB12، PAB17 قابليتها على انتاج انزيمات الـTEM و AmpC، أظهرت العزلة PAB4 احتوائها على انزيمي SHV و AmpC وباستخدام البادئ المصمم في حين لم تظهر ذلك حسب البادئ العالمي، بينما أظهرت العزلة PAB5 عكس ذلك اذ اظهرت احتوائها على انزيمي SHV و AmpC حسب البادئ العالمي وعدم احتوائها على ذلك حسب البادئ المصمم، اظهرت العزلتين PAB12، PAB18 احتوائهما على انزيمات انزيمي TEM و SHV وكذلك اظهرت العزلة PAB14 احتوائها على الانزيم SHV فقط.

جدول(4-21): العزلات الحاملة لكلا النوعين من المورثات والتي مصدرها مسحات الحروق والإدرار

رمز العزلة	مصدر العزلة	AmpC+TEM	AmpC+SHV	AmpC*+TEM	AmpC*+SHV
PAU2	الادرار	1	2	2	2
PAB23	الحروق	5	7	5	12
المجموع		6	9	7	14

*** AmpC المصمم**

3.7.4: مقارنة بين بادئ bla_{AmpC} المصمم والبادئ الجاهز

أظهرت النتائج ان بادئ الـbla_{AmpC} المصمم قيد الدراسة الحالية اعطى نتائج هي اعلى نسبة من البادئ الجاهز في تحديد مورث bla_{AmpC} بين العزلات البكتيرية اذ اعطى (88%) 25/22 وهي نسبة مرتفعه مقارنة مع البادئ الجاهز والذي اعطى (72%)25/18 كما في جدول (3-22).

جدول(4-22): النسبة المئوية للمقارنة بين البادئ المصمم والبادئ الجاهز لبكتريا *Ps. aeruginosa*

مصدر العزلة	العدد	bla_{AmpC}	bla_{AmpC*}
Urine	2	2(100%)	2(100%)
Burs	23	16(69.6%)	20(87%)
المجموع	25	18(72%)	22(88%)

***البادئ المصمم**

جدول(4-23): مقارنة بين البادئ الجاهز والبادئ المصمم

رمز العزلة	AmpC	AmpC*	AmpC*+AmpC
Burns3	2	0	0
Urine7	14	18	11
المجموع	16	18	11

***البادئ المصمم**

جدول (4-24): عدد عزلات *Ps. aeruginosa* المنتجة لانزيمات AmpC و ESBL حسب البادئ الجاهز

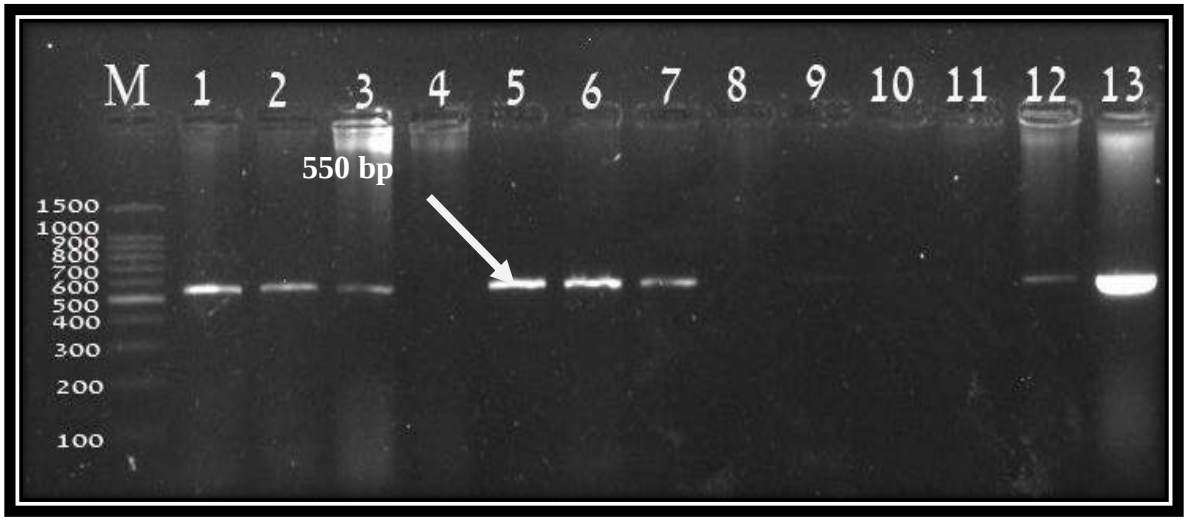
مصدر العزل	عدد العزلات	عدد (%):*ps. aeruginosa*	
		العزلات المنتجة لانزيماتAmpC	العزلات المنتجة لكل من AmpC وESBLs
Urine	2	2(100%)	2(100%)
Burns	23	18(78.3%)	11(47.8%)
المجموع	25	20(80%)	13(52%)

اظهرت النتائج احتواء 20(80%) عزلة على انزيمات الـAmpC اذ اظهرت 2(100%) من العزلات التي مصدرها من الادرار، اما العزلات التي مصدرها الحروق فأظهرت 18(78.3%) حتوائها على هذه الانزيمات . اظهرت 13 (52%) من العزلات احتوائها على انزيمات الـAmpC و ESBLs اذ يعود 2(100%) منها للعزلات التي مصدرها الادرار و 11 (47.8%) للعزلات التي مصدرها من الحروق.

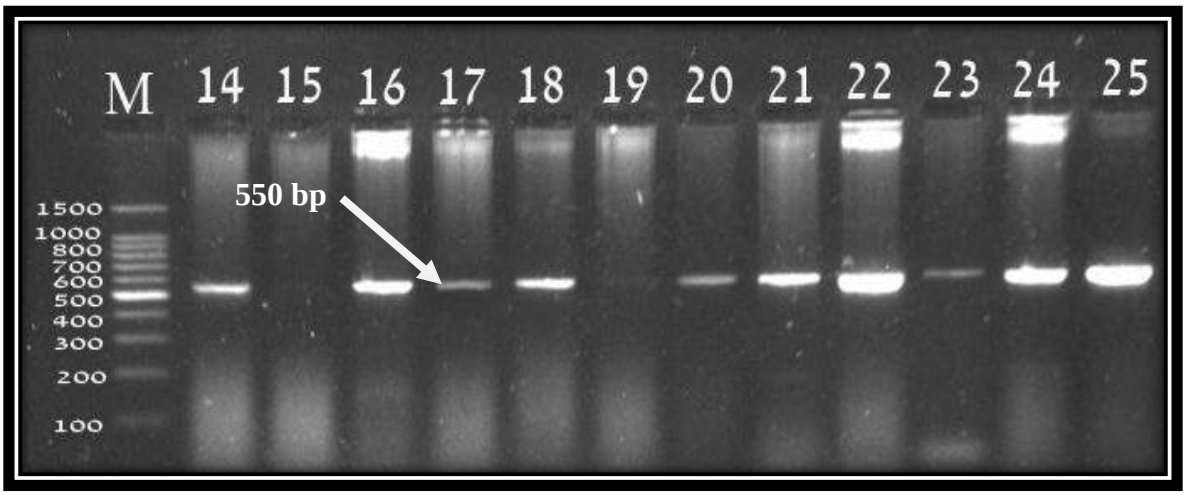
جدول (4-25): عدد عزلات *Ps. aeruginosa* المنتجة لانزيمات AmpC و ESBL حسب البادئ المصمم قيد الدراسة

مصدر العزل	عدد العزلات	حسب البادئ المصمم عدد (%):	
		العزلات المنتجة لانزيمات*AmpC	العزلات المنتجة لكل من *AmpC وESBLs
Urine	2	2(100%)	2(100%)
Burns	23	20(87%)	16(69.7%)
المجموع	25	22(88%)	18(72%)

اظهرت 22(88%) عزلة احتوائها على انزيمات AmpC جدول (4-25) ، اذ تعود 2(100%) منها الى العزلات التي مصدرها من الادرار، وكانت 20 (37%) منها مصدرها عينات الحروق. كما اظهرت 18 عزلة بكتيرية تعود للـ*Ps.aeruginosa* احتوائها على انزيمات الـAmpC و ESBLs 2(100%) منها تعود للعزلات التي مصدرها الادرار و16(69.7%) منها تعود للعزلات التي مصدرها الحروق كما في الشكل (4-14).



الشكل (13-4A): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{AmpC} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*

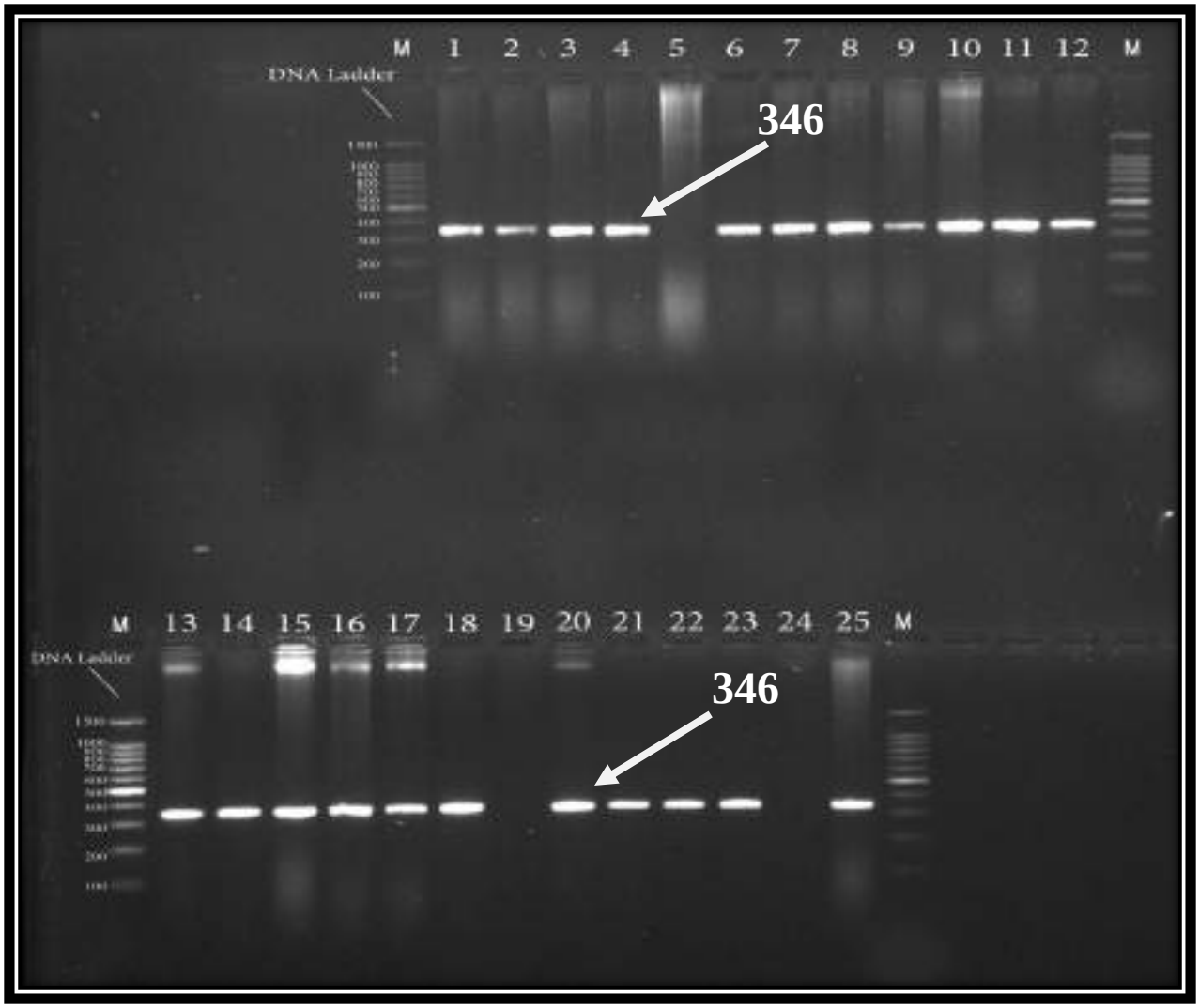


الشكل (13-4B): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{AmpC} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*

Lanes: (**PA**, 1,2,3,5,6,7,12,13,14,16,17,18,20,21,22,23,24,25)=Positive for bla_{AmpC} gene.

Lanes: (**PA,** 4,8,9,10,11,15,19)= Negative for bla_{AmpC} gene.

M= Molecular weight marker (100-bp DNA ladder).



الشكل(4-14): الترحيل الكهربائي لمورث *bla_{AmpC} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*

Lanes: (**PA**, 1,2,3 ,6,7,12,13,14,16,17,18,19,20,21,22,23, 25)=Positive for ***bla***$_{AmpC*}$ **designated** gene.

Lanes: (**PA,** 5,19,24)= Negative for ***bla***$_{AmpC*}$ **designated** gene.

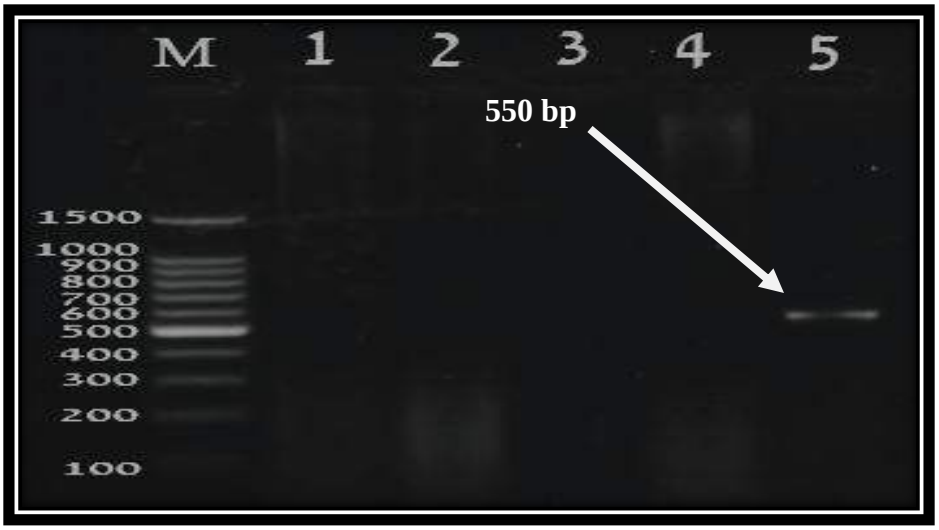
M= Molecular weight marker (100-bp DNA ladder).

PA= Ps. aeruginosa

***البادئ المصمم**

4.7.4: التحري عن مورثات bla_{AmpC} بين عزلات بكتريا *K. pneumoniae* و *E.coli*

اظهرت جميع العزلات العائدة لبكتريا الـ*K.pneumoniae* المختبرة خلوها من هذا المورث، في حين اظهرت عزلة واحدة تعود لبكتريا الـ*E.coli* احتوائها على هذا المورث وبنسبة (11.1%)، اذ اعتمد اختبار الحساسية لمضاد الـCefoxitin كأختبار تحري اولي للكشف عن هذه الانزيمات كما في الشكل (4-15).



الشكل(4-15): الترحيل الكهربائي لمورث bla_{AmpC} المتضاعف باستخدام تقنية (PCR) لعزلات بكتريا *E. coli*

Lanes: (**EC**, 5)=Positive for bla_{AmpC} gene.

Lanes: (**EC,** 1,2,3,4,6,7,8,9)= Negative for bla_{AmpC} gene.

M= Molecular weight marker (100-bp DNA ladder).

E.c= E.coli

٥: المناقشة Disscusion

٥-١: العزل والتشخيص

جمعت وشخصت ثلاث انواع بكتيرية من ثلاث حالات التهابية مختلفة عزلت منها ١٧٢ عزلة بكتيرية من البكتريا السالبة لصبغة غرام والتابعة للعائلة المعوية (*Enterobacteriaceae*) هي *E. coli*، *K .pneumoniae* وللنوع *Ps. aeruginosa* وبنسبة ٣٣,٣%. شخصت جميع العزلات باستخدام الاختبارات الشكلية و الكيموحيوية، وكذلك باستخدام العدة التشخصية API 20E كفحص تاكيدي ، اذ يعد هذا النظام واحد من اهم الفحوصات التشخيصية الاكثر دقة لتشخيص الانواع البكتيرية السريرية كما اشار Collee وجماعته (١٩٩٦) الى ان استعمال هذا النظام في التشخيص اصبح مهماً في مختبرات البكتريلوجي كونه يعد فحصاً دقيقاً وسريعاً وشاملاً لجميع الاختبارات المهمة في التشخيص وتلافياً للخطأ الحاصل في الطرائق الاعتيادية.

بينت النتائج ان الانواع البكتيرية المعزولة في هذه الدراسة هي ممرضات انتهازية خطرة قد تسبب الاصابات في حالات الضعف المناعي او عند وصولها الى المناطق الحساسة في الجسم ومما يزيد من مخاطر هذه الاصابات هي المقاومة العالية للمضادات الحيوية المستخدمة في العلاج ان بكتريا *E.coli* هي الاكثر عزلاً من بقية العصيات السالبة لصبغة غرام وبنسبة ٤٣,٦% تلتها *K.pneumoniae* و *Ps. aeruginosa* وبنسبة ٣٨,٤% و ١٨% على التوالي، مما يشير الى كثرة ترددها وهذا يتفق مع ما اشار ألية Crofton and Doglas, (1988) من حيث كثرة ترددها مع افراد العائلة المعوية الاخرى.

٥-٢: اختبار التحري عن العزلات المقاومة للبيتالاكتام Screening test of β-lactam resistanc

زرعت جميع العزلات قيد الدراسة على وسط مولر هنتون اغار المزود بالـAmpicillin، Amoxicillin (كلاً على حدة) وبتركيز نهائي (١٠٠ و ٥٠ ملغم/مل) على التوالي، اذ تعد المقاومة للبيتالاكتام من المشاكل المهمة على مستوى العالم كما ان انتشار انزيمات البيتالاكتاميز بتغير مستمر مع الزمن وباختلاف المناطق الجغرافية.

للتحري عن البكتريا المقاومة للبيتالاكتام زرعت جميع العزلات قيد الدراسة والبالغ عددها (١٧٢) عزلة بكتيرية على وسط مولر هنتون اغارالمزود بالمضادات المذكورة انفاً اذ استخدم هذاين

النوعين من المضادات الحيوية كونهما الاكثر شيوعا في الاستخدام والعلاج السريري للاخماج البكتيرية، بالمقارنة مع مضادات البيتالاكتام الاخرى، وبذلك استخدمت هذه المضادات في التحري الاولي عن مقاومة البيتالاكتام، اذ ان السلالات المقاومة للسفالوسبورينات الحديثة والـCarbencillin عادتاً تكون مقاومة للـAmoxicillin، و Ampicillin (Bush *et al*., 1995)، وخلال مدة الدراسة نميت ١٤٥(٨٤,٣%) على وسط المقاومة للبيتالاكتام المدعم بالـAmpicillin و Amoxicillin من اصل ١٧٢ عزلة بكتيرية مشخصة، اذ توافقت هذه النسبة مع دراسات Patel وجماعته (٢٠٠٦) و Javiya وجماعته (٢٠٠٨) والتي اوضحت بان اكثر من ٩٠% من انواع العائلة المعوية كانت مقاومة للـ Ampicillinو Amoxicillin. اذ ان الاستخدام الواسع لهذه المضادات في المستشفيات والعيادات الطبية الخاصة، قد يكون سبباً من اسباب المقاومة لهذه المضادات.

ان سبب المقاومة بين العزلات السالبة لصبغة غرام قد يكون هو انتاج انزيمات البيتالاكتاميز والتي يشفر لها عن طريق مورثات توجد على الكروموسومات او البلازميدات، ومن اسباب المقاومة الاخرى هي قلة الفة البروتينات الرابطة للبنسلينات (PBPs) او قلة نفاذ المضاد الى داخل الخلية البكتيرية (Jacoby and Munoz-Price, 2005). اشارت العديد من الدراسات الى وجود جينات *qnr* المرتبطة مع الانتكرونات والتي ترتبط مع مقاومة اصناف مختلفة من المضادات الحيوية ومنها مضادات البيتالاكتام (Paterson, 2006).

اظهرت النتائج ان ٢٥(٨٠,٦%) من عزلات *Ps. aeruginosa* كانت مقاومة لكلا المضادي الـ Ampicillin و Amoxicillin. وفي دراسة اجريت في الهند فان عزلات*Ps. aeruginosa* المعزولة من القصبات الهوائية، اظهرت نسب مقاومة هي ٩٧,٨%، ١٠٠%، للـAmpicillin، Amoxicillin (Veena Kumari *et al*., 2006). وفي دراسة اجراها Gad وجماعته (٢٠٠٨) وجد ان جميع عزلات *Ps. aeruginosa* والمعزولة من القنوات التنفسية واصابات الجلد مقاومة للـAmpicillin، Amoxicillin. اذ ان الاصابات الناجمة عن بكتريا *Ps. aeruginosa* صعبة العلاج وذلك بسبب احتوائها على عوامل مقاومة داخلية للعديد من المضادات الحيوية، وهذا يعود لقلة نفاذية غشائها الخارجي و كذلك قابليتها على اكتساب انماط مقاومة جديدة خلال مدة العلاج.

ان مدى المقاومة الواسع لهذه البكتريا يعتمد على ميكانيكيات مختلفة منها ما يشفر له كروموسوميا او بلازميدياً. كما ان معظم مقاومة البنسلينات هي عن طريق انتاج انزيمات البيتالاكتاميز المحفزة او المستحثة. كما تمتاز هذه البكتريا بقدرتها على تغير الفتها للبروتينات الرابطة للبنسلينات، كما

يمكن ان تستخدم نظام الدفق (Mex-AB-Oprm) والذي يعبر عنه بصورة مستحثة لطرح جزيئات المضاد خارج الخلية البكتيرية (Julio *et al*., 1992).

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة المقاومة بين عزلات بكتريا *K. pneumoniae* قد بلغت ٥٦(٨٤,٨%) لكلا المضادين Ampicillin و Amoxiciilin اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل له كل من Al-Muhannak (٢٠١٠) في مدينة النجف و Flaih (٢٠٠٥) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذين المضادين بين عزلات *K.pneumoniae* قد بلغت ١٠٠% وفي دراسة اخرى اجراها Veena Kumaria وجماعتهِ (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة مقاومة الـAmpicillin هي ١٠٠% في الهند.

لكن جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصلت ألية Hadi (٢٠٠٨) اذ جدت ان نسبة المقاومة بين عزلات بكتريا *K.pneumoniae* هي ٧١ (٩٥,٢)، ٦٠(٨٤,٥%) على التوالي في مدينة النجف الاشرف. ان مقاومة المضادات الحيوية تنتشر بسرعة وخصوصاً عندما تنتقل جينات المقاومة للمضادات الحيوية وبصورة افقية عن طريق البلازميدات او الانتكرونات (Integrons) او التسلسلات المحشورة (Insertion sequences) بين الانواع البكتيرية (Halla and Barlow, 2004) كما جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما توصلت ألية Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة هي ٤٢(٨٩,٤%) للعزلات المقاومة لكلا المضادين.

ان الانزيم SHV-1 هو الاكثر شيوعاً بين بكتريا *K.pneumoniae* وهو مسؤول عن مايزيد على ٢٠% من المقاومة للـAmpicillin (Tzouveleis; Babin and Livermore, 2000 Bonomo, 1999;).

في دراسة سابقة اجراها Al-Charrakh (٢٠٠٥) في مدينة الحلة وجد ان نسبة المقاومة لكلا المضادين قد بلغت ٧٣,٨% بين عزلات الـKlebsiella والمعزولة من مصادر بيئية وسريرية في مدينة الحلة اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصلت ألية الدراسة الحالية.

اشار Aiyegoro وجماعته (٢٠٠٧) بان ٦٦,٧% من عزلات *K.pneumoniae* كانت مقاومة للـAmpicillin و Amoxicillin، كما جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما توصلت ألية Hadi (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة بين عزلات *K.pneumoniae* هي ٧٨,٦%.

اوضحت االنتائج ان بكتريا الـ*E.coli* هي ايضاً مقاومة لمضادات الـAmpicillin و Amoxicillin اذ بلغت نسبة المقاومة ٦٤(٨٥%) بين العزلات المدروسة، اذ ان هذه النسبة هي اقل مما توصل ألية Al-Muhannak (٢٠١٠) والذي وجد ان نسبة المقاومة بين هذه البكتريا هي (٢,٩%)

ولكنها كانت مقاربة مع ماتوصلت ألية Hadi (٢٠٠٨) والتي وجدت ان نسبة المقاومة لهذه المضادات هي ٨٢,٦%.

ان المقاومة المرتفعه لمضادي الـAmpicillin و Amoxicillin لايمكن ان تعزى فقط لانتاج انزيمات البيتالاكتاميز، ربما سبب المقاومة هو ميكانيكيات اخرى كتغير حاجز النفاذية والفعالية الانزيمية والتي تجعل علاج هذا النوع من البكتريا صعبة العلاج (Philippon *et al*., 2002; Jacoby and Munoz-Price, 2005)، كما جاءت نتائج الدراسة الحالية مخالفة مع ما توصلت ألية Al-Hilli (٢٠٠٨) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لكلا المضادين هي ٨٥% اذ ان هذه النسبة هي اعلى مما توصل ألية Ahmed وجماعته (٢٠٠٠) والذي وجد ان نسبة المقاومة بين عزلات بكتريا *E.coli* للـAmpicillin و Amoxicillin المعزولة من الادرار هي ٧٥%، ٧٢% على التوالي.

في دراسة اخرى اجراها الباحث Kang وجماعته (٢٠٠٥) في كوريا وجد ان نسبة المقاومة بين عزلات بكتريا الـ*E.coli* قد بلغت ٩١% وهذه مقاربة مع ما توصلت ألية نتائج الدراسة الحالية ولكلا المضادين، ان نتائج هذه الدراسة هي اقل مما توصل ألية Hosseini-nazini وجماعته (٢٠٠٧) والذي ذكر ان جميع عزلات بكتريا الـ*E. coli* كانت مقاومة لكلا المضادين. ان المقاومة لمضادات البيتالاكتام ترتبط بصورة اساسية مع انزيمات البيتالاكتاميز، اذ تحطم حلقة البيتالاكتام في المضاد وتثبط فعاليته (Bradford, 2001).

كما جاءت هذه النتائج متفقة مع ماتوصلت ألية Hadi (٢٠٠٨) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذين المضادين هي ٨٢,٦%. اذ يعد انتاج انزيمات البيتالاكتاميز من الميكانيكيات الدائمة في البكتريا لمقاومة مضادات البيتالاكتام (Pearson *et al*., 2007). اذ شخصت انزيمات البيتالاكتاميز في البكتريا السالبة لصبغة غرام وقبل اطلاق البنسلين للعلاج الطبي والسريري (Al-Jasser, 2006). اذ ان سبب مقاومة البكتريا لمضادات البيتالاكتام هو انتاجها لانزيمات البيتالاكتاميز ومنها الـTEM، SHV والتي قد تكون كروموسومية او بلازميدية المنشأ. كما ان اكثر من ٩٠% من العزلات المقاومة للـAmpicillin سببها هو انتاج انزيم TEM-1. ان هذا النوع من الانزيمات له القابلية على تحطيم البنسلينات وكذلك سيفالوسبورينات الجيل الاول (Bradford, 2001).

ان نسبة المقاومة المرتفعه لمضادي الـAmpicillin، Amoxicillin لايمكن ان تعزى فقط لانتاج انزيمات البيتالاكتاميز ربما يكون سبب المقاومة هو ميكانيكيات اخرى كتغير حاجز النفاذية والفعالية الانزيمية والتي تجعل علاج هذا النوع من الاصابات او البكتريا صعبة العلاج (Philipon *et al*., 1997; Jacoby and Munoz-Price, 2005).

٥-٣: اختبار الحساسية للمضادات الحيوية بطريقة الانتشار بالاقراص

بينت الدراسة ان هناك مقاومة مرتفعه نسبياً ابدتها العزلات البكتيرية بشكل عام تجاه المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة بصورة عامة وللمضادات التابعه لمجموعة البيتالاكتام بصورة خاصة، اذ بلغت نسبة المقاومة الكلية تجاه هذه المضادات والمتمثلة بالبنسلينات مثل مضادات Carbencilline، Ticarcilline، Pepracilline اذ جاءت نسب المقاومة لها ٨٦,١%، ٨٤,١%، ٨٢,١% على التوالي، اذ ان البكتريا السالبة لصبغة غرام والتابعه للعائلة المعوية وكذلك سلالات النوع *Ps. aeruginosa* غالباً ماتظهر مقاومة مرتفعه نسبياً لمضادات البيتالاكتام الاولى مثل الـAmpicillin، Amoxicillin وسيفالوسبورينات الجيل الاول، اذ ان هذه البكتريا عادة ماتكون قد اكتسبت انزيمات المقاومة لمثل هذه المضادات بحيث اصبحت المقاومة لها ظاهرة شائعة ومتزايدة، اذ ان هذه النتائج تتفق مع العديد من الدراسات التي اشارت الى ذلك (Livermore, 1995; Bush *et al.*, 1995; Bradford, 2001) وللجيل الثالث من السيفالوسبورينات والمتمثلة بالـCeftazidime، Cefotaxime اذ جاءت نسب المقاومة لها ٧٨,٦%، ٧٦,٦% ، ٧٤,٥% على التوالي اذ جائت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل ألية الحسو (٢٠٠٦) اذ كانت نسب المقاومة التي توصل ألية هي ٤٢,٣%، ٢٤,٠%، ٥١,٩% على التوالي.

بلغت نسب المقاومة لمضادات الـCephalexin، Cefixime، Cefipime، Cefoxitin هي ٧١,٧%، ٦٤,١%، ٥٩,٣%، ٥٣,١% على التوالي اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل ألية الحسو (٢٠٠٦) كما جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما توصل ألية نفس الباحث بالنسبة للـCephalexin اذ بلغت نسبة المقاومة الكلية هي ٧٦% اما بالنسبة لمضادات الـCefixime، Cefepime، Cefoxitin فقد جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل ألية الباحث المذكور انفاً اذ كانت نسب المقاومة هي ٥٢,٩%، ٨,٧%، ٣٤,٦%.

تظهر هذه النسب المقاومة العالية التي تمتلكها هذه العزلات تجاه مضادات البيتالاكتام واسعة الطيف ولاسيما سيفالوسبورينات الجيل الثالث التي تمتاز بفاعليتها ضد مدى واسع من البكتريا السالبة لصبغة غرام وهذا يشير بشكل واضح الى مدى انتشار المقاومة لمثل هذه المضادات، اذ ان ذلك قد يفسر بكون الية المقاومة التي تستخدمها هذه البكتريا هي غالباً ماتكون انزيمات البيتالاكتاميز وبانواعها المختلفة والتي تكون فعاله ليس فقط ضد مضاد معين وانما ضد مجموعة من المضادات المرتبطة ببعضها

من الناحية التركيبية وهذا ما اشار ألية الباحثون (Knox, 1995; Matagne *et al*., 1998; Bradford, 2001).

كما اظهرت البكتريا المعزولة قيد الدراسة المقاومة لمضاد الـAztreonam فقد بلغت نسبة المقاومة الكلية لهذا المضاد ٦٧,٩% اذ جاءت هذه النتيجة مخالفة مع ما توصل ألية الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٢٠,٢% كما اظهرت النتائج ان نسبة المقاومة لمضاد الـAmoxi-Clav هي ٨١,٤% وهي مخالفة مع ما توصل ألية نفس الباحث اذ كانت نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٥١% كما اوضحت النتائج ان نسبة المقاومة الكلية لمضادات الـAminoglycosides قد بلغت ٩,٧% وهي نسبة منخفظة نسبياً.

بلغت نسبة المقاومة لمضادات الـQuinolones التي ابدتها العزلات قيد الدراسة مقاومة متوسطة٢٥,٧% تجاه الـNalidixic acid وتتفق هذه النتائج مع ما توصلت ألية العابدي (٢٠٠٠) التي وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد ٥٢,٧% وقد ذكرت العبيدي (٢٠٠٢) ان لهذا المضاد فعالية جيدة نوعاً ما تجاه بكتريا الـ *E. coli* اذ بلغت نسبة المقاومة ٢٠,٨% في الوقت التي اظهر فعالية واطئة تجاه بكتريا *Ps. aeruginosa* التي ابدت له مقاومة عالية جداً ٩٦,٢%. فيما وجد Brown وجماعته (٢٠٠٣) في دراسة اجراها على بكتريا *Proteus mirabilis* في نيجريا ان هذه البكتريا قد قاومت المضاد بنسبة ٣٢,٤%.

ان المقاومة لهذه المضادات تكون محمولة على الكروموسومات وتتخذ شكلين في العرض هما الطفرات التي تغير هدف هذه الانزيمات بشكل او بطريقة تؤثر على ارتباط الكوينولونات، وبالتالي التغير في نفاذية الجدار الخلوي مؤدية الى قلة اخذ المضاد من قبل البكتريا بواسطة انظمة الدفق (Mims *et al*., 2004) في حين بلغت المقاومة لمضادات الـFloroquinolones ومنها الـCiprofloxacin ٣١% وهي نسبة منخفظة نسبياً.

اظهرت مضادات الـCarbapenems ومنها الـImipenem فعالية شبه مطلقة ضد العزلات المدروسة حيث كانت نسبة المقاومة لهُ هي ٠,٧% اما بالنسبة لمضاد الـMeropenem فكانت نسبة المقاومة له هي ١٦,٢% وكلاهما يعودان لمجموعه الـCarbapenem اذ تعتبر هذه المضادات العلاج الامثل للاصابات المتسببة من هذه الانواع البكتيرية، وهذا يتفق مع ما اشارت ألية العديد من البحوث حول فعالية هذه المضادات وقابليتها على اختراق الاغشية البكتيرية الخارجية بالاضافة الى ثباتيتها العالية تجاه معظم انزيمات البيتالاكتاميز (Miriagou *et al*., 2003; Luzzaro *et al*., 2004).

٥-٣-١: حساسية عزلات بكتريا *Ps.aeruginosa* للمضادات الحيوية بطرقة الاقراص

بينت الدراسة ان الحساسية لمضادات البيتالاكتام حسب النوع البكتيري، حيث كانت عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* اكثر الانواع البكتيرية مقاومة للمضادات المدروسة، اذ ان هنالك مقاومة عالية نسبياً ابدتها عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* لمضادات البيتالاكتام والمتمثلة بالـPenicillins، مثل مضادات Ticarcillin، Pepracillin، Carbencillin اذ جاءت نسب المقاومة لها ٩٦%, ٨٨%، ٦٤% على التوالي. وهي نسب مرتفعه نسبياً وخصوصاً بين عزلات *Ps. aeruginosa* والتي مصدرها اصابات الحروق، اذ كانت نسب المقاومة التي ابدتها عزلات هذه البكتريا من عينات الحروق لمعظم المضادات المستعملة في هذه الدراسة تقريباً ضعف نسبها من عينات الادرار، وبما ان جميع العزلات في حالات الحروق كانت لمصابين راقدين في المستشفى لتلقي العلاج فان هذا يؤكد بان بيئة المستشفيات تشكل بؤرة استيطانية لانواع البكتريا الانتهازية المقاومة لاغلب المضادات الحيوية الاكثر شيوعاً في الاستخدام وان هذه المقاومة تزداد طردياً مع الوقت اثر الاستعمال الكبير للمضادات الحيوية المختلفة، وقد جاءت نتائج الدراسة الحالية مقاربة للنتائج التي حصلت عليها الجبوري (٢٠٠٠) والتي اشارت الى ان نسب المقاومة لكل من مضادات الـPepracillin، Ticarcillin، هي ٨٠%، ٨٦,٧% كما اشار Salimi وجماعته (٢٠٠٩) في دراسة اجراها في مركز توحيد في طهران الى ان نسب مقاومة هذه البكتريا للـPepracillin هي ٦٩% ويمكن مقاومة البكتريا لمضادات الـPepracillin، Ticarcilline بالمقاومة الطبيعية (Natural resistance) المعروفة لهذه البكتريا تجاه البنسلينات (Ibezim, 2005).

اما بالنسبة لمضادات الـ Carbencilline فقد اظهرت عزلات هذا النوع مقاومة متوسطة بلغت ٦٤% اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل ألية كل من الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٢٦,٩% وكذلك الرماحي (٢٠٠٦) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد قد بلغت ١٠٠%، اما بالنسبة لمضادات الجيل الثالث Ceftazidime، Ceftriaxone، فقد جاءت نسب المقاومة لهما هي ٩٦%على التوالي ، و١٠٠% للـCefotaxime اذ جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما توصلت ألية بلال (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة امقاومة لمضاديي الـCeftazidime، Ceftriaxone هي ٩٤,٥% لكل منهما فيما لم تتفق النتائج مع الباحثة نفسها بالنسبة لمضاد الـCefotaxime اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٨٦,٤%، في حين لم تتفق النتائج مع الحسو (٢٠٠٦) اذ ذكر ان نسبة المقاومة لمضادي

Ceftriaxone، Cefotaxime هي ٣٤,٦%، ٣٨,٥% على التوالي، وكذلك جاءت النتائج مخالفة مع ماذكرته الرماحي (٢٠٠٦) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذين المضادين هي ٦٨,٢%، ٣٤,٦%، ٨١,٩% على التوالي في حين كانت النتائج مقاربة مع ماتوصل ألية Al-Muhannak (٢٠١٠) بالنسبة لمضاد الـCeftazidime والتي بلغت ٨٩,٨% فيما لم تتفق هذه النتائج مع الباحث نفسه بالنسبة لمضاد الـCeftriaxone اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٥٥,٩% في حين لم تتفق النتائج مع الباحث نفسه بالنسبة لمضاد الـCefotaxime.

لذلك فان المقاومة العالية لهذه المضادات قد تعود الى كثرة استخدامها (لسهولة الوصول الى منطقة الهدف في الغشاء الخارجي للبكتريا وقلة اضرارها الجانبية)، وهذا الاستخدام وبشكل متكرر وبجرع غير مقننة قد ساعد البكتريا على تطوير أليات مقاومة مختلفة للبكتريا تجاه هذه المضادات، وقد وجد Hsueh وجماعته (٢٠٠٥) ان مقاومة البكتريا للكثير من المضادات ومنها مضادات البيتالاكتام تزداد بزيادة استهلاك هذه المضادات، وان احد اسباب هذه المقاومة يعود الى انتاج البكتريا لعدد كبير من انزيمات البيتالاكتاميز المحطمة لهذه المضادات (VanDelden and Iglewski, 1998).

كما جاءت نتائج الدراسة الحالية مخالفة مع ما توصلت ألية باصات (٢٠٠٦)، والتي سجلت نسب مقاومة للـCeftazidime، Cefotaxime اذ كانت ٣٨%، ٥٤% على التوالي، وايضاً مخالفة مع ما حصل عليه Kalods وجماعته (٢٠٠٥)، اذ وجد ان نسبة المقاومة لكلا المضادين هي ٣٦% وعلى التوالي وذلك في دراسة لمرضى العوز المناعي اجراها في تونس، وقد وجد Hsueh وجماعته (٢٠٠٥) زيادة المقاومة تجاه مضادات السيفالوسبورينات مع ازدياد استهلاكها وتعود هذه المقاومة الى افراز انزيمات الـCephalosporinases (Lopez-Yeste *et al*., 1996) وكذلك انزيمات البيتالاكتاميز ذات الطيف الواسع المحطمة لمضادات السيفالوسبورين ذات الطيف الموسع (Jacoby, 1994).

تمتلك بكتريا *Ps. aeruginosa* حساسية قليلة تجاه معظم المضادات الحيوية المستعملة في العلاج الطبي، مما جعل هذه البكتريا تشكل خطراً شديداً على صحة الانسان (Landman *et al*., 2002; Livermore, 2002) اظهرت بيانات انظمة المراقبة العامة للاصابات المكتسبة في المستشفيات زيادة مستمرة في مقاومة هذه البكتريا في وحدات العناية المركزة للجيل الثالث من الـ Cephalosporines، Quinolones، Carbapenems بمقارنة معدلاتها للعام ٢٠٠٢ ومتوسط معدلات المقاومة للسنوات الخمس السابقة، كما اظهرت منظمات مراقبة اخرى هذه المشكلة واحدى هذه المنظمات وجدت ان مدى ظهور بكتريا *Ps. aeruginosa* متعدة العقاقير للمضادات الحيوية ارتفع الى ٣٠% (Flamm *et al*., 2004; Jones and Pfaller, 2002).

اظهرت بكتري *Ps. aeruginosa* مقاومة مرتفعه تجاه مضاد الـAztreonam اذ بلغت ٨٤% اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ماتوصل ألية Al-Muhannak (٢٠١٠) فيما يخص مضاد الـAztreonam اذ بلغت نسبة مقاومتهِ ٥٩,٣%، وكذلك مخالفة مع ما توصل ألية الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد قد بلغت ٢٦,٩% اما بالنسبة لمضادات الـCefexime، Cephalexin، Cefoxitin فقد جاءت نسب المقاومة لها هي ٨٠%، ٨٤%، ١٠٠% على التوالي في حين كانت هذه النتائج مقاربة مع ماتوصل ألية الحسو (٢٠٠٦) بالنسبة لمضادي الـ Cefixime، Cephalexin اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذه المضادات هي ٧٣,١%، ٨٠,٧٥% على التوالي فيما لم تتفق نتائج هذه الدراسة مع الباحثة نفسها فيما يخص مضاد الـCefoxitin، اذ وجدت ان نسبة المقاومة له هي ٦١,٥٥%، كما جاءت نتائج هذه الدراسة مقاربة مع ما توصل ألية Al-Muhannak (٢٠١٠) بالنسبة لمضاد الـCefixime اذ وجد ان نسبة المقاومة له هي ٩٤,٩%، في حين كانت النتائج مطابقة تماماً مع الباحث المذكور انفاً بالنسية للمضاد الحيوي Cefoxitin ، كما جاءت النتائج مخالفة مع ما توصلت ألية Husein (٢٠٠٦) بالنسبة لمضاد الـCephalexin اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد قد بلغت ١٠٠%.

تشير نتائج الدراسة الحالية، ان العزلات التي مصدرها الادرار كانت حساسة وبنسبة ١٠٠% لمضادات الـImipenem، Ciprofloxacin، Amikacin وهذا اتفق تماماً مع ماتوصلت ألية بلال (٢٠١٠)، اذ اخذت هذه العزلات اغلبها من المرضى الخارجين غير الراقدين في المستشفى ربما لم يسبق لهم تعاطي مثل هذه العلاجات بصورة متكررة، بينما كانت جميع العزلات التي عزلت من الحروق اكثر مقاومة للمضادات الحيوية المستعملة في الدراسة، لكون جميع العزلات جمعت من مرضى راقدين في المستشفى وهذا يشير الى استيطان هذه البكتريا لمستشفيات مدينة الديوانية بشكل قد يدعو للقلق ويحتاج للكثير من البحث والدراسة، وكذلك كون انتشار مثل هذه العزلات سيؤدي الى فشل الخيارات العلاجية المتوفرة حالياً وضرورة البحث عن علاجات بديلة.

اشارت النتائج التي حصلنا عليها من دراستنا الحالية ان اكفأ المضادات الحيوية لحد الان هي Imipenem، Ciprofloxacin، Meropenem، Amikacin وهذا يتوافق مع معظم النتائج المعروفة عالمياً، بوصف هذه المضادات علاجاً فعالاً ضد بكتريا *Ps. aeruginosa* (Japoni *et al*., 2009; Hauser and Padman, 2005) مع ان لها بعض الاضرار الجانبية، فمضاد الـAmikacin له تاثير سمي على الكلية (Nephrotoxic)، لذلك يجب مراقبة جرع المضاد باستمرار، اما مضاد Imipenem فهو سام في حالات وجود خلل وضيفي في الكلية، ومضاد الـCiprofloxacin ومضادات الـFlouroquinolones الاخرى وجد انها قد تسبب الغثيان والصداع، واضطرابات المعدة، كما ان

الاستخدام الطويل لها قد يسبب ظرراً للمفاصل لذلك فهي نادراً ماتعطى للاطفال (Brooks *et al*., 1998).

اكدت نتائج الدراسة الحالية وجود ارتفاع بسيط في نسب مقاومة عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* لمضادات الـAminoglycosides والتي كانت الى وقت قريب تعتبر هي العلاج الامثل للاصابات التي تسببها هذه البكتريا اذ بلغت نسبة المقاومة لمضاد الـAmikacin ٢٨% وهي مقاربة مع ما توصلت ألية بلال (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد ٢٧%، كما جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصلت ألية الرماحي (٢٠٠٦) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذين المضادين بين عزلات *Ps. aeruginosa* المعزولة من اخماج الاذن الوسطى الحاد والمزمن هي ٣٨%. اذ يمتاز هذا المضاد بثبوتيته العالية ومقاومته للانزيمات المؤثرة على مجموعة Aminoglycosides acetylase بشكل اكبر من المضادين الاخرين، كما جاءت نتائج هذه الدراسة مخالفة مع ما حصل عليه الباحثان Masaadeh و Jaran (٢٠٠٩) إذ ذكروا ان نسبة المقاومة التي ابدتها عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* لهذا المضاد الحيوي كانت ٧٨%.

كذلك كانت نتائج الدراسة الحالية مخالفة مع ما ذكره الباحث Salimi وجماعته (٢٠٠٩) والذي اشار الى ان نسبة المقاومة للمضاد الحيوي الـ Amikacin هي ٥٨,٩% وهي ضعف النسبة التي تم تسجيلها في الدراسة الحالية وايضاً جاءت النتائج قيد الدرس مقاربة مع ما ذكره الباحث Varayia وجماعته (٢٠٠٧) بالنسبة للمضاد الحيوي الـAmikacin اذ كانت نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٣٠% وقد اشار Shahid و Abida (٢٠٠٥) الى ان نسبة المقاومة للـAmikacin كانت ١٠٠%, وتعود مقاومة بكتريا *Ps. aeruginosa* لمضادات الـAminoglycosides الى افراز انزيمات الـAminoglycosides modifying enzymes (Lopez-Yeste *et al*., 1996).

بالعودة الى نتائج دراستنا الحالية نجد ان من اكفا المضادت الحيوية هو المضاد الحيوي Ciprofloxacin من مجموعة الـFluoroquinolones فقد اظهرت فعالية متوسطة قد بلغت ٤٨% ضد عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* وهذا ما اتفق مع ما توصلت ألية بلال (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد قد بلغت ٥٤% في حين جاءت النتائج مقاربة مع ما توصل ألية Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٤٠% كما جاءت النتائج مخالفة مع ما توصلت له Husein (٢٠٠٦) اذ وجدت ان نسبة الحساسية لهذا المضاد قد بلغت ١٠٠% كما جاءت النتائج مخالفة مع ماتوصلت ألية الرماحي (٢٠٠٦) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ١١% كذلك جاءت النتائج مخالفة مع ما توصل ألية قاسم (٢٠٠٠) والذي ذكر بان نسبة المقاومة لهذا المضاد قد

بلغت ٤% بينما اشارت دراسة اخرى اجريت في انكلترا ان نسبة المقاومة للـCiprofloxacin هي ٣٠% (Pitt *et al*., 2005).

ان نسبة المقاومة التي اظهرتها عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* في هذه الدراسة هي اعلى من نسب المقاومة التي سجلها كل من VanElder (١٩٩٩) و DeMiguel (٢٠٠٢) و Koprona وجماعته (٢٠٠٥) اذ ظهرت نسب المقاومة لديهم لمضاد الـCiprofloxacin ٢٥%، ١٨%، ٧%، ٣٠%، ٦٦% على التوالي، كما ان زيادة نسب المقاومة التي اظهرتها بكتريا *Ps. aeruginosa* قيد الدراسة تجاه المضاد الحيوي Ciprofloxacin الذي ينتمي الى مجموعة الـFluoroquinolone التي عرفت بفعاليتها العالية في مقاومة نمو هذه البكتريا، وقد يعود السبب في هذه المقاومة الى كثرة استعمال المضاد الحيوي في علاج الاصابات المتسببة من هذا النوع من البكتريا في مستشفيات الديوانية، وخصوصاً في وحدة الحروق، الامر الذي ساعد هذه البكتريا على تطوير أليات مقاومة اكثر فاعلية تجاه هذا المضاد.

اوضحت النتائج ان نسبة المقاومة لمضادات الـQuinolones ومنها الـNalidixic acid بين عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* قد بلغت ٧٦% وهي نسبة مرتفعه نسبياً اذ تمتاز هذه المضادات بقابليتها القاتلة للاحياء المجهرية (Bactericidal) من خلال تثبيط بناء الـDNA وتثبيط فعالية الـ DNA gyrase والذي يعمل على فك الارتباط الحلزوني للـDNA ويضمن تباعدهما عن بعضهما اثناء عملية استنساخ الـDNA (Turnridge, 1995).

ان سبب مقاومة هذه البكتريا لهذه المجموعة من المضادات نتيجة طفرة في الانزيم الهدف DNA gyrase او بفعل نظام الضخ الخارجي (Efflux pump) وقد تحمل المورثات التي تشفر لهذه المقاومة على البلازميدات او على الكروموسومات (Pode, 2000; Martinela and Baquero 2002) وبالعودة الى نتائج هذه الدراسة نجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد مرتفعه نسبياً، اذ جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل ألية Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٩٦,٦% وهي نسبة مرتفعه جداً.

اشارت نتائج الدراسة الحالية الى ان نسبة المقاومة لمضاد الـ Augumentin هي ٩٦% والذي يعتبر من مضادات البيتاللاكتام التعاضدية (Amoxicillin-Clavulanic acid)، اذ جاءت هذه النتائج متوافقة مع ما توصلت ألية بلال (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٩٤,٥%، كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل ألية قاسم (٢٠٠٠) اذ وجد ان جميع عزلات *Ps.*

aeruginosa كانت مقاومة لهذا المضاد في حين اختلفت النتائج عن ما توصل ألية Al-Muhannak (٢٠١٠) والذي وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٧٥%.

اذ ان مقاومة هذا المضاد يمكن تفسيرها بانتاج انزيمات البيتالاكتاميز وكذلك السيفالوسبورينيز ومما يبدو ان هذه الانزيمات المنتجة من قبل هذه البكتريا هي من النوع الذي لايمكن تثبيطه بحامض الـClavulanic acid وبالتالي كانت نسبة المقاومة لهذا المضاد مرتفعه، لوحظ كذلك ان اضافة الـ Clavulanic acid المثبط لانزيم البيتالاكتاميز الى مجموعة الـ Cephalosporin يساعد في التغلب على مقاومة البكتريا لمضادات هذه المجموعه وذلك بتثبيط انزيم البيتالاكتاميز، وكذلك الحال عند اضافته الى مضاد الـAmoxicillin والذي يزيد من فعاليته المثبطة تجاه البيتالاكتاميز (Paul *et al*., 1989) اذ لاتختلف الية مقاومة هذا المضاد عن سابقاته من مضادات البيتالاكتام، اذ تتم من خلال تغير الموقع الهدف، وقد تحث نتيجة خفض نفاذية المضاد الحيوي عبر غشاء الخلية البكتيرية (Ryan and Ray, 2004).

ابدت ٩٦% من العزلات مقاومة لهذا المضاد، واسباب ذلك ممكن ان تعود لانزيمات الـ AmpC والتي لاتتاثر بالفعل المثبط للـClavulanic acid او قد يكون السبب هو امتلاك العزلالت المذكورة على انزيمات البيتالاكتاميز المعدنية، او بسبب أليات اخرى غير متخصصة مثل اختزال نفاذية الغشاء الخارجي او جميع هذه الاسباب مجتمعة (Livermore, 2002)، اظهرت بكتريا *Ps. aeruginosa* في هذه الدراسة تبايناً ملحوظاً في نسب مقاومتها لمضادات البيتالاكتام، وقد يرجع السبب الى تنوع أليات المقاومة التي تمتلكها هذه البكتريا، مثل انتاج انزيمات البيتلاكتاميز المثبطة لمضادت البيتالاكتام ، او من خلال تغير الفة البروتينات الرابطة للبنسلين (PBPs)، (Livermore and Brown, 2005).

بينت نتائج الدراسة الحالية ان المضاد الحيوي الـImipenem وهو من مجموعة الـCarbapenem اذ يعتبر العلاج الامثل للاصابات التي تسببها هذه البكتريا اذ كانت جميع العزلات قيد الدراسة حساسة وبنسبة ١٠٠% لهذا المضاد، بينما سجلت النتائج ارتفاعاً ملحوضاً في مقاومتها لمضاد الـMeropenem اذ بلغت ٦٨% وقد جاءت هذه النتائج مطابقة تماماً مع ما ذكرته بلال (٢٠١٠) المذكورة انفاً في حين كانت النتائج مقاربة مع ما توصلت ألية نفس الباحثة بالنسبة للـMeropenem اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٧٠%، كما جاءت نتائج هذه الدراسة مخالفة مع ماتوصل ألية الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة المقاومة لمضادي الـImipenem والـ Meropenem هي ٣,٨٥%، ٧,٧% على التوالي، كما جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل ألية Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان جميع العزلات كانت حساسة وبنسبة ١٠٠% لمضاد الـImipenem. وفي دراسة مماثلة وجد ان

النتائج التي حصل عليها Javiya وجماعته (٢٠٠٨) كانت نسبة المقاومة فيها هي ٧٨% لمضاد الـImipenem و ٦٩% لمضاد الـMeropenem، بينما اشار Varaiya وجماعته (٢٠٠٧) في دراسته الى ان نسبة المقاومة كانت ١٣% لمضاد الـImipenem.

ان هذه النتائج تتفق مع ماذكره الباحثون (Cappelletty and Ryback, 1996; Gradelski *et al*., 2001) من مقاومة سلالات بكتريا *Ps. aeruginosa* لمضادات البيتالاكتام واسعه الطيف بما فيها الجيل الثالث وكذلك مضادات الـMonobactam، Cephamycins، Carbapenems والتي تكون فعالة ضد العديد من البكتريا السالبة لصبغة غرام.

٥-٣-٢: حساسية عزلات بكتريا الـ*E.coli* للمضادات الحيوية بطريقة الانتشار بالاقراص

اشارت النتائج الى ان نسبة عزل بكتريا الـ*E.coli* قد بلغت ٧٥(١٤,٥%) من العزلات البكتيرية قيد الدرس اذ شملت كل من الجروح والحروق واخماج المجاري البولية، اذ اختبرت حساسية ٦٤ عزلة بكتيرية مقاومة للبيتالاكتام ضد ١٧ مضاداً حيوياً ومن اصناف مختلفة اذ اظهرت العزلات قيد الدرس مقاومة مرتفعه نسبياً تجاه البنسلينات ومنها الـTicarcilline اذ بلغت نسبة المقاومة له ٨٧,٥% وهذه جاءت مقاربة مع ما توصل أليه Al-Hilali(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٨٦% اما مضادات الـCarbencilline، Pipracilline كانت نسب المقاومة لها هي ٨٢,٨%، ٧٨,١% على التوالي اذ جاءت هذه النتائج بالنسبة للـCarbencillin مخالفة مع ما توصلت ألية Hadi (٢٠٠٨) والتي وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد قد بلغت ٩٣,٣% وAl-Hilali(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٩٥% وكذلك مخالفة مع ما توصلت ألية Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٩٠%، اما الحسو (٢٠٠٦) فقد وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٢٨,٦% . بالنسبة لمضاد الـPipracillin فقد جاءت هذه النتيجة مخالفة مع ما توصلت ألية Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٨٥%، كما كانت مخالفة مع ما توصل أليه كل من Al-Hilali(٢٠١٠) وAl-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذا المضاد قد بلغت ٨٦,٤%،٨٠,٨% وعلى التوالي. ان مضادات الجيل الثالث متمثلة بالسيفالوسبورينات منها الـCefotaxime، Ceftazidime، Ceftriaxone اذ اظهرت نسب مقاومة هي ٧٥%، ٧٣,٤%، ٦٨,٨% على التوالي وهي نسب مرتفعه الى حد ما اذ كانت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه Al-Hilali(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذه المضادات هي ٨٨,٢%، ٨٢,٧%، ٥٩,١% على التوالي، وفي دراسة اخرى اجراها Al-Muhannak (٢٠١٠) في النجف وجد ان نسبة المقاومة لمضاد الـCefotaxime قد بلغت ٧٨,٨%وهي مقاربة مع ما توصلت اليه الدراسة الحاليه اما بالنسبة لمضادي

الـCeftazidime، Ceftriaxone فقد وجد ان نسبة المقاومة لهما هي ٦٣,٥%، ٥٥,٨% وهي مخالفة لنتائج الدراسة الحاليه. وفي دراسة اجراها الحسو (٢٠٠٦) وجد ان نسبة المقاومة لهذه المضادات هي ٥٧%، ٤٦,٥%،٢٥% على التوالي وهي مخالفة لنتائجنا الحاليه. وفي دراسة اخرى اجرتها Hadi (٢٠٠٨) وجدت ان نسبة المقاومة لهذه المضادات هي ٤١,٧%، ٣٦,٧%، ٥٣,٣% على التوالي وهي ايضاً مخالفة للنتائج الحاليه .

اما بالنسبة لمضاد الـAztreonam فقد كانت نسبة المقاومة لهُ ٦٢,٥% وهذه مقاربة مع ما توصل اليه Al-Hilali(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٥٩,١% ومخالفة مع ما توصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) وكذلك Al-Muhannak (٢٠١٠) و الحسو (٢٠٠٦) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٧٥%، ٥٧,٧%، ١٤,٢٥% على التوالي.

اظهرت النتائج ان نسبة مقاومة مضاد الـAugumentin هي ٧١,٩% وهذه مخالفة مع ما توصل اليه كل من الحسو (٢٠٠٦)، Al-Muhannak (٢٠١٠)، Al-Hilali(٢٠١٠) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٣٩,٢٥%، ٨٦,٤% على التوالي ولكنها جاءت مقاربة مع ما توصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد قد بلغت ٧٥% كما اظهرت النتائج ان نسبة مقاومة مضادي الـImipenem، Meropenem هي ٠,٠%، ٤,٧% على التوالي اذ اتفقت هذه النتائج تماماً مع ما ماتوصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) بالنسبة للـImipenem كما جاءت هذه النتائج متفقه مع ما توصل اليه Al-Hilali(٢٠١٠) وكذلك مع ماتوصلت اليه Hadi (٢٠٠٨) اذ وجدت ان جميع العزلات كانت حساسة لهذا المضاد، وكذلك مطابقة مع ما توصل اليه Al-Hilali(٢٠١٠)، بالنسبة للـImipenem ولكنها مخالفة مع ماتوصل اليه نفس الباحث بالنسبة للـMeropenem اذ وجد ان جميع العزلات كانت حساسة لهذا المضاد وكذلك جاءت النتائج متفقة مع ماتوصل اليه الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان جميع العزلات كانت حساسة للـImipenem ولكنها اختلفت مع ماتوصل اليه نفس الباحث اذ وجد ان جميع العزلات كانت حساسة ايضاً للـMeropenem وهذا مخالف لنتائج الدراسة الحاليه.

اكدت النتائج وجود انخفاض ملحوظ في مقاومة عزلات بكتريا الـ*E.coli* لمضادات Aminoglycosides ومنها الـAmikacin اذ اظهرت مقاومة منخفضة نسبياً اذ بلغت ٤,٧% اذ جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما توصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) كما وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد ٥١% ومخالفة مع ما توصل اليه Al-Hilali(٢٠١٠) اذ وجد ان جميع العزلات كانت حساسة لهذا المضاد وبنسبة ١٠٠%، كما اظهر الـCiprofloxacin وهو من مضادات الـFlouroquinolones فعاليه متوسطة ضد عزلات بكتريا *E.coli* اذ كانت نسبة المقاومة تجاه هذا المضاد هي ٥٣,١% اذ

جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٥٠% ومخالفة مع ما توصل اليه كل من Al-Muhannak (٢٠١٠)، Hadi (٢٠١٠) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٣٦,٥%، ٦٠,٥% على التوالي اما Al-Hilali(٢٠١٠) فقد وجد ان جميع العزلات كانت حساسة لهذا المضاد وبنسبة ١٠٠%.

بالعودة الى نتائج الدراسة الحاليه فقد اظهرت عزلات بكتريا *E.coli* نسبة مقاومة للـCephalexin، Cefepime، Cefixime قد بلغت ٦٨,٨%، ٦٥,٦%، ٦٤,١% على التوالي وهذه جاءت مقاربة مع ما توصل اليه الحسو (٢٠٠٦) بالنسبة للـ Cephalexin اذ وجد ان نسبة المقاومة له هي ٧١,٥% ولكنها مخالفة مع ماتوصل اليه نفس الباحث بالنسبة للـCefepime، Cefixime اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذين المضادين هي ٥٧,٧%، ٦٣,٥% على التوالي وهي مخالفة ايضاً مع ما توصلت اليه الدراسة الحاليه بالنسبة للـCefepime، ومتفقة مع ما توصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) بالنسبة للـCefixime، اذ جاءت هذه النتائج مخالفة ايضاً مع ما توصل اليه Al-Hilali(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٧٧,٣% ومخالفة لما توصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت المقاومة لهذا المضاد هي ٧٥%. اما بالنسبة لمضاد الـCefoxitin فقد جاءت نسبة المقاومة له ٤٢,٢% وهي مخالفة مع ماتوصل اليه Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لها المضاد هي ٩٠,٩%، ومخالفة ايضاً مع ما توصلت اليه Hadi (٢٠٠٨) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٧١,٢% وكذلك مخالفة مع ماتوصل اليه الحسو (٢٠٠٥) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ١٧,٩%.

٥-٣-٣: حساسية عزلات بكتريا *K.pneumoniae* للمضادات الحيوية بطريقة الاقراص

اختبرت حساسية عزلات بكتريا *K. pneumoniae* ضد ١٧ مضاداً حيوياً التي تعد الاكثر شيوعاً في العلاج لتحديد نمط المقاومة للمضادات الحيوية بالاعتماد على طريقة انتشار القرص لكيربي باور وجماعته (١٩٦٦) اذ شملت اصناف مختلفة من المضادات الحيوية. اظهرت هذه العزلات البكتيرية نسب مقاومة مرتفعه لمضاد الـCarbencilline اذ بلغت ١٠٠% اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٢٤%، ومخالفة ايضا لما توصلت اليه Hadi (٢٠٠٨) التي وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد بلغت ٩٠%، ولكنها جاءت مطابقة تماماً مع ما توصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ١٠٠%، بينما جاءت نسب المقاومة لمضادي الـPipracilline، Ticarcilline هي ٨٣,٩%، ٧٥% على التوالي، كما جاءت هذه النتائج متفقة تماماً مع ماتوصل اليه Al-Shamarty(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة للـPipracilline هي ٨٣,٧% وكذلك اتفقت مع ماتوصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة

المقاومة لهذا المضاد هي ٨١%، ومخالفة مع ماتوصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٩٣,٤%.اما بالنسبة لسيفالوسبورينات الجيل الثالث ومنها الـCeftazidime، Ceftriaxone، Cefotaxime فقد جاءت نسب المقاومة لها هي ٧٥,٦% ، ٧١,٤%، ٦٩,٦% على التوالي اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ماتوصل اليه Al-Shamarty(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٩٠,٦% للـCeftriaxone و ١٠٠% لمضادي الـCeftazidime و Cefotaxime على التوالي كما جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما توصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذه المضادات هي ٦٤,٣%، ٧٣,٨%، ٧٣,٨% على التوالي، كما جاءت هذه النتائج مخالفة مع ماتوصلت اليه Hadi (٢٠٠٨) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذه المضادات هي ٣٦,٤%، ٥٠%، ٤٠,٩% على التوالي، ولكنها مقاربة مع ما توصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذه المضادات هي ٧٢,١%، ٦٥,٦%، ٧٣,٨% على التوالي كما جاءت النتائج مخالفة مع ماتوصل اليه الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة المقاومة لمضادي الـCeftazidime، Ceftriaxone هي ٦٠%، ٢٨% ولكنها مقاربة للـCefotaxime اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٧٢%، اما بالنسبة لمضادات الـMonobactam فقد اظهرت بكتريا *K.pneumoniae* نسبة مقاومة مرتفعه لهذه المضادات ومنها الـAztreonam فقد بلغت ٦٤,٢%، اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ماتوصل اليه الحسو (٢٠٠٦)، Al-Shamarty(٢٠١٠) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٩٠,٦%، ١٢% على التوالي، ولكنها جاءت مطابقة تماماً مع ماتوصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٦٤,٣% وكذلك مقاربة مع ماتوصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٦٧,٢% وهذه النتائج جاءت مقاربة ايظا مع ما توصل اليه Philippe وجماعته (١٩٩٥) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٦٣,٦% ومخالفة لنتائج المعهد الامريكي (American proviciency institute) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٧٥,٤% كما اشارت النتائج الى ان نسبة المقاومة لمضادات الـCarbapenems ومنها الـImipenem، Meropenem قد بلغت ١٠٠% للـImipenem اذ جاءت جميع العزلات حساسة لهذا المضاد، بينما سجلت النتائج ارتفاعاً طفيفاً في نسبة المقاومة للـMeropenem اذ بلغت ٤,٧% وجاءت الدراسة متوافقة مع ما اشار اليه الباحثين Carmen وجماعته (٢٠٠١)، Iroha وجماعته (٢٠٠٩) اذ وجدوا ان جميع العزلات كانت حساسة للـImipenem والـMeropenem ولكنها اختلفت مع ما اشار اليه الباحثين بالنسبة للـMeropenem، كما جاءت النتائج مقاربة مع ما ماتوصل اليه Al-Hilali(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة للـMeropenem هي ٢,٤%، اما بالنسبة للـImipenem فقد جاءت النتائج متفقة تماماً مع ماتوصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان جميع العزلات كانت

حساسة لهذا المضاد وبنسبة ١٠٠% واتفقت ايظاً مع الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان جميع العزلات كانت حساسة لهذا المضاد ولكنها جاءت مخالفة مع ما جاء به نفس الباحث بالنسبة للـMeropenem اذ ذكر ان جميع العزلات كانت حساسة لهذا المضاد.

بالعودة الى نتائج الدراسة الحاليه نجد ان العلاج الامثل لعلاج الاصابات التي تسببها بكتريا *K. pneumoniae* هو الـImipenem اذ جاءت جميع العزلات قيد الدرس حساسة لهذا المضاد يليه الـMeropenem ، كما اشارت النتائج الى ان نسبة المقاومة لمضاد الـAugumentin هي ٧٥,٧%، اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ماتوصل اليه Al-Shamarty(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٨٨,٣% ومخالفة ايظاً مع ما توصل اليه Neelam وجماعته (٢٠٠٨) الذي وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٨٧,٥% ، في جاءت هذه النتائج مطابقة مع ماتوصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٧٨,٧% ، كما جاءت هذه النتائج مطابقة ايظا مع ما توصل اليه الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٥٢%.

اظهرت النتائج ان نسبة المقاومة لمضادات الـCefexime، Cefepime، Cephalexin هي ٧٣,٢%، ٦٠,٧%، ٦٩,٦% على التوالي اذ جاءت هذه النتائج مقاربة مع ماتوصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لمضادي الـCefixime، Cefepime هي ٧٥,٤%، ٦٣,٩% على التوالي، كما جاءت هذه النتائج مقاربة مع ماتوصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٦٤,٣%، كما جاءتى هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه Al-Shamarty(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة المقاومة لمضادي الـCefexime، Cefepime هي ٩٥,٣%، ٨٨,٣% على التوالي، كما جاءت هذه النتائج متفقة مع ماتوصل اليه الحسو (٢٠٠٦) بالنسبة للـCefexime اذ وجد ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٦٠% اما بالنسبة للـCefepime،Cephalexin فقد جاءت النتائج مخالفة مع ما توصل اليه الباحث نفسه اذ وجد ان نسبة المقاومة للمضادين المذكورين انفاً هي ٨٠%، ٨% على التوالي، اما بالنسبة لمضاد الـCefoxitin فقد كانت نسبة المقاومة له هي ٤٤,٦% وهي مخالفة مع ما توصل اليه كل من Al-Shamarty(٢٠١٠)، وAl-Muhannak (٢٠١٠)، Al-Hilli(٢٠١٠)، الحسو (٢٠٠٦) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ١٠٠%، ٧٨,٧%، ٢٦,٢%، ٣٦% على التوالي.

اوضحت النتائج وجود انخفاض ملحوظ في مقاومة العزلات لمضادات الـAminoglycosides ومنها الـAmikacin اذ بلغت ١٠,٧%.

ان اسباب المقاومة لمضادات البيتالاكتام مختلفة وخصوصاً بين عزلات *K.pneumoniae* اذ تعود لأليات مختلفة والتي سجلت من قبل العديد من الدراسات ومنها دراسة Philipe وجماعته (١٩٩٥) والذي اشار الى ان مدى مقاومة بكتريا *Klebsiella* لمضادات البيتالاكتام يتراوح بين ٦٣,٣% الى ٧٠% وهذا قد يعود الى تعرض البكتريا الى الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية Lucent وجماعته (١٩٩٩) اوضح بان بكتريا الـ*Klebsillae* يمكن ان تقاوم مضادات الـPenicillins والـCephalosporins من خلال تغير نفاذية الغشاء البلازمي وبالتالي تمنع دخول المضاد الحيوي الى داخل الخلية البكتيرية، اما David وجماعته (٢٠٠٣) اشار الى ان بكتريا *Klebsillae* SPP تنتج انواع مختلفة من الانزيمات واسعة الطيف والتي تثبط مضادات البيتالاكتام وبالتالي تسمح للبكتريا بالعيش تحت تاثير مضادات البيتالاكتام كما سجل من قبل Iroha وجماعته (٢٠٠٩) اذ اشار الباحث ان ٦٩%،٧٤%،٧٩% من بكتريا الـ*K.pneumoniae* كانت مقاومة لمضادات الـCeftazidime، Cefotaxime، Ceftriaxone على التوالي.

اوضحت النتائج وجود انخفاض ملحوظ في مقاومة عزلات *K.pneumoniae* لمضادات الـAminoglycosides ومنها الـAmikacin اذ بلغت ١٠,٧%، اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ماتوصل اليه Al-Shamarty(٢٠١٠)، Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٤٦,٥%، ١١,٩% على التوالي. اما بالنسبة لمضادات الـQuinolones ومنها الـNalidixic acid اذ بلغت نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٨٤,٢% وهذا مخالف مع ما توصل اليه كل من Al-Hilli (٢٠١٠)، Al-Muhannak (٢٠١٠)، Hadi (٢٠٠٨)، اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ١١,٩%، ٧٣,٨%، ٥٩,١% على التوالي. اما بالنسبة لمضادات الـFluoroquinolones ومنها الـCiprofloxacin فقد بلغت نسبة المقاومة له ٧,٥% وهي مخالفة مع ما توصل اليه كل من Hadi (٢٠٠٨)، Al-Muhannak (٢٠١٠)، Al-Hilli(٢٠١٠) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة لهذا المضاد هي ٥٩,١%، ٨٠,٣%، ٢٨,٦%، ٣٧,٢%.

اعتبرت العزلات البكتيرية السريرية من ذوات المقاومة المتعددة، في حال اظهرت مقاومة لثلاث او اكثر من المضادات الحيوية التي تعود للاصناف الرئيسية Penicillins، Cephalosporins، Aminoglycosides وغيرها.

٥-٤: اختبار قرص النايتروسيفين للتحري عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز

Detection of β-lactamases with Cefinase disc

ان التحري عن انزيمات البيتالاكتاميز بين الانواع البكتيرية من الامور المهمة والضرورية اذ توجد عدة طرق لهذا الغرض منها مايعتمد على التفاعلات اللونية، ومنها طريقة النايتروسيفين، اذ اعتمدت في هذه الدراسة كونها اسرع واكثر اقناعاً، وتقسم الطرق التي يتم فيها التحري عن انزيمات البيتالاكتاميز الى الطرق التي يتسبب فيها تحلل مضاد البيتالاكتام الى تغيراً في اللون، وتلك التي يعتمد فيها التغير على تفاعل اخر مرتبط به، يستخدم في المجموعة الاولى مركب الـNitrocefin الذي يتغير لونه من الاصفر الى الاحمر عند التحلل وتكون هذه الطريقة عاليه الحساسية الاانها مكلفة (O'Callaghan *et al*., 1972).

اذ لاتوجد دراسات سابقة تناولت استخدام هذا النوع من الاختبارات في التحري عن انزيمات البيتالاكتاميز اذ اقتصرت اكثر البحوث على الطريقة الايودية او الحامضية، وذلك لكلفته العاليه جدا وكذلك عدم توفره، اذ جاء استخدام هذا الاختبار من باب الحداثة كونه ذو حساسية عاليه حتى للكميات القليلة من الانزيمات، اذ تعد التفاعلات اللونية هي الافضل لسرعتها وملائمتها (Liver more, 1995). اذ يتولد نتيجة تفاعل الانزيم مع مضاد البيتالاكتام تغييرات لونية في الكاشف وهذا يعتمد على طريقة الارتباط الكيمياوي ويأتي في مقدمة هذه الفحوصات فحص النايتروسفين (Cefinase test) (O'callaghan, 1979).

طورت بعض الاختبارات السريرية للتحري عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز اذ ان هذه الاختبارات تعطي معلومات سريعة ودقيقة عن مدى تطور المقاومة للمضادات الحيوية. اذ ان تفسير نتائج هذه الاختبارات يجب ان يؤخذ بنظر الاعتبار، حساسية هذا الاختبار لانزيمات البيتالاكتاميز المختلفة، وكذلك نوع هذه الانزيمات المنتجة من قبل الانواع المختلفة، وحساسية مع مادة الاساس (Substrate) لهذه الانزيمات.

اذ ان من اكثر الطرق شيوعاً في التحري عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز هي الطريقة الايودية (Iodometric method) وكذلك الطريقة الحامضية (Acidometric method)، بالاضافة الى

الطرق الكروموجينية (Chromogenic method) المختلفة، اذ تعتمد الطريقة الايودية والحامضية على البنسلين كمادة اساس تعمل عليها وبذلك فان هاتين الطريقتين يمكن ان تسنخدمان في التحري عن انزيمات البنسلينيز، في حين يستخدم النايتروسيفين في التحري عن كافة انزيمات البيتالاتاميز المعروفة (Thornsbbery *et al*., 1977). ومنها انزيمات الـPenicinases المنتجة من قبل المكورات العنقودية (Skinner *et al*.,1977; Montogmery *et al*., 1979).

اما الطرق اللونية الاخرى هي (PADAC) والتي وجد انها فعاله في تحديد العديد او معظم انزيمات البيتالاكتاميز، ماعدا بعض انواع الـPencillinases التي تنتج من قبل بكتريا الـStaphilococci وبعض انزيمات البيتالاكتاميز التي تنتج من قبل البكتريا الاهوائية (Jorgensen *et al*., 1982).

اذ تعتبر طريقة النايتروسيفين اكثر دقة من الطريقة الايودية والتي من مساؤها هو احتمال اعطاء نتيجة كاذبة في حالة استخدام مضاد منذ فترة طويلة ويمكن تجاوزه بتحضيره آنيا وعدم خزنه لفترة طويله تتجاوز الاسبوعين, هذا فضلاً عن اخفاق الطريقة في التحري عن وجود انزيمات كروموسومية محفزه منتجة بكميات قليلة (Sykes and Mathew,1976) لذا يتم اللجوء في بعض الاحيان الى تكسير الغلاف الخلوي في بعض البكتريا السالبة لصبغة غرام بجهاز التكسير بالامواج فوق الصوتية لعمل تماس مباشر بين مادة الاساس والانزيمات المتحررة (Perret, 1954).

إن عدم اعطاء العزلة النتيجة الموجبة هو احتواؤها على حاجز نفاذية تستطيع من خلاله مقاومة مختلف المضادات وان انتشار هذا النوع من المقاومة يجعلها غير منفذة لاغلب المضادات والمطهرات والاصباغ المعروفة كما هو الحال في سلالات *Ps. aeruginosa* (Vasil,1986) .

ان وجود بعض العزلات التي اعطت نتيجة سالبة لفحص البيتالاكتميز وتم مقاومتها لمضاد واحد او اكثر يدل على وجود أليات اخرى مقاومة غير انتاج البيتالاكتميز مثل تغيير بروتينات الغشاء الخارجي كخطوة لتغيير موقع الهدف (Poirel *et al*., 2000) او امتلاك حاجز نفاذية (Rice and Bonomo, 2000)، باعتبار ان انتاج البيتالاكتاميز ليست الاليه الوحيدة في مقاومة مضادات البيتالاكتام.

اظهرت النتائج قابلية عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز وبنسبة ١٠٠%، اما بكتريا *K.pneumoniae*، *E.coli* فكانت نسب انتاجها لهذه الانزيمات هي ٥٧,١%، ٣٥,٩% على التوالي اما بالنسبة للنسبة الكلية للانتاج فقد بلغت ٥٦,٦%.

هناك الكثير من الفحوصات التي طورت للكشف عن هذه الانزيمات، وهذه الفحوصات توفر معلومات سريعة ودقيقة عن مدى تطور المقاومة، ان تفسير نتائج اختبار انتاج انزيمات البيتالاكتاميز يجب ان يؤخذ بنظرالاعتبار، ومنها حساسية الاختبار تجاه الانواع المختلفة من انزيمات البيتالاكتاميز، وكذلك نوع انزيمات البيتالاكتاميز المنتجة من قبل المجاميع المختلفة للكائن الحي وكذلك خصوصية امع مادة الاساس لهذه الانزيمات.

يعد Abraham وChain في عام (١٩٤٠) اول من لاحظا وجود فعاليه انزيمية في مستخلص بكتريا الـ*E.coli* والتي تثبط الـPenicillin (Abraham *et al*., 1940) ومن ذلك الحين عزل عدد كبير من الانزيمات المشابهه من عدد كبير من الانواع البكتيرية مع وجود اختلافات الى حد ما في خصوصيتها تجاه المادة الاساس. اذ ان بعضها تحلل الـPenicillins على وجه الخصوص Penicillin (Ampicillin (G، Carbencillin، اذ وصفت بـPenicillinases، والبعض الاخر يقتصر عملها على السيفالوسبورينات كصنف من المضادات الحيوية كالـ(Cephradine، Cephalexin، Cephalothin) وصفت بـِCephalosporinases، وعلى الرغم من ذلك توجد هناك انزيمات تحلل كل من البنسلينات والسيفالوسبورينات، (McCarthy, 1980) هناك مدى واسع من مضادات الـPenicillins، Cephalosporins المقاومة لانزيمات البيتالاكتاميز والتي طورتها شركات عالمية، ومنها البنسلينات شبه المصنعه، Methicillin، Oxacillin، Naficillin وغيرها والتي قاومت الـPencillinase المنتج من بكتريا Staphylococci (Richmond, 1979)، وهناك مدى واسع من مضادات الـCephalosporins والتي طورت والتي لها مستويات مختلفة من المقاومة لانزيمات البيتالاكتاميز، وهي تتضمن سيفالوسبورينات الجيل الثاني (Cefoxitin، Cefamanadole، Cefuroxime) وسيفالوسبورينات الجيل الثالث Cefotaxime، Ceftazidime، Ceftriaxone،) Cefoperazone) وغيرها (Bush *et al*., 1982).

٥-٥: التحري عن انتاج انزيمات البيتالاكتاميز

٥-٥-١: اختبار التحري الاولي Initial screening test

اظهرت نتائج الدراسة الحاليه، ان افضل دليل على احتماليه انتاج الانزيمات واسعة الطيف هو الحساسية لسيفالوسبورينات الجيل الثالث وكذاالك الـAztronam اذ بلغت نسبة المقاومة لمضاد الـCeftazidime هي ٧٨,٦% بينما اظهر كل من الـCeftriaxone، Cefotaxime نسب مقاومة هي ٧٦,٦%، ٧٤,٤% على التوالي اما الـAztreonam فقد اظهر نسبة مقاومة هي ٦٨,٣%.

اوضحت النتائج ان ١٤٠(٩٦,٦%) من العزلات المدروسة اظهرت احتماليه انتاج الانزيمات الواسعة الطيف في اختبار التحري الاولي اذ اخضعت جميع العزلات الى الاختبار التاكيدي (اختبار تأزر القرص المزدوج). ان المقاومة للسيفالوسبورينات الواسعة الطيف مثل الـCefotaxime، Ceftazidime، Ceftriaxone وكذلك الـAztreonam ولكنها ذات فعاليه ضد الـCephamycins، Imipenem (Bauernfeind *et al*., 1996)، اذ ان الاغلبية من الانزيمات واسعة الطيف تشتق من استبدال حامض اميني واحد لثلاث من الانزيمات واسعة الطيف غير الابوية،TEM-1، TEM-2، SHV-1. اذ ان الـTEMوالـSHV هي من الانزيمات الواسعة الطيف والحساسة لمثبطات البيتالاكتاميز مثل الـClavulanic acid،Sulbactam، Tazobactam اذ ان تركيبة المثبط مع مضادات البيتالاكتام تعتبر من الخيارات العلاجية البديلة (Jacoby, 2005).

بالرغم من ان العزلات المنتجة للانزيمات واسعة الطيف هي مقاومة للسيفالوسبورينات الحديثة واحياناً الـAztreonam، فان العديد من السلالات العائدة لها والمنتجة لهذه الانزيمات تكون حساسة او متوسطة الحساسية لبعض او لكل هذه المضادات في خارج الجسم، ولكنها تظهر مقاومة واضحة عند الاشخاص المخمجين (Paterson and Bonomo, 2005).

كما ان من الصعب تشخيص الاحياء المجهرية المنتجة لهذه الانزيمات (Tenover *et al*., 1999)، لان وجود الانزيمات الواسعة الطيف (ESBLs) في الخلية البكتيرية لاتظهر دائماً النمط المظهري للمقاومة (Meyer *et al*., 1993; Schiappa *et al*., 1996) فعلى سبيل المثال، في دراسة لاكثر من ٦٠% من العزلات المنتجة للانزيمات الواسعة الطيف، ٢٩-٢٧% من العزلات كانت حساسة للـCefotaxime (Jarlier *et al*., 1988; Philippon *et al*., 1989) واكثر من ٤٢,٨% من العزلات كانت حساسة للـCeftazidime بطريقة انتشار القرص (Philippon *et al*., 1989).

ان اختبار التحري الاولي واختبار التأكيد المظهري تشير الى احتماليه وجود الانزيمات واسعة الطيف (Livermore and Brown, 2005) اختبرت العزلات السالبة لصبغة غرام للتحري عن الانزيمات واسعة الطيف في هذه الدراسة وطبقاً مع ما ذكره المعهد القياسي للمختبرات السريرية (CLSI, 2010)، اذ اعتمدت في اختبار التحري الاولي سيفالوسبورينات الجيل الثالث مع الـAztreonam.

اشارات نتائج الدراسة الحاليه الى ان افضل دليل على احتماليه انتاج الانزيمات واسعة الطيف هو الـCeftazidime، اذ اظهر هذا المضاد اعلى نسبة ٧٨,٦% في تحديد العزلات البكتيرية المنتجة لهذه الانزيمات في اختبار الحساسية. ومن ناحية اخرى اظهر الـAztreonam اقل نسبة ٦٨,٣% بين

العزلات قيد الدراسة وعلى اية حال فمن بين ١٤٥ عزلة بكتيرية اظهرت ١٤٠(٩٦%) عزلة احتماليه انتاجها للانزيمات الواسعة الطيف.

اتفقت نتائج الدراسة الحاليه مع دراسات سابقة اجريت في نيوزلاند والتي اشارت الى ان جميع العزلات المختبرة لبكتريا الـ*E.coli*، *K. pneumoniae* (N=87) كانت موجبة لهذا الاختبار (Blackmore, 2006)، وفي دراسة اخرى في الهند وجد ان جميع عزلات بكتريا *K. pneumoniae* كانت محتملة الانتاج للانزيمات واسعة الطيف باستخدام الـCeftriaxone، Cefotaxime (Chiangiong, 2006)، وفي المانيا سجل Svard (٢٠٠٧) ان ٨٥%،٩٤% من بكتريا الـ*E.coli*، *k.pneumoniae* هي محتملة الانتاج للانزيمات الواسعة الطيف. ان تعرض البكتريا المستمر لمضادات البيتالاكتام ادى الى احداث تغيرات ديناميكية وطفرات على المورثات المسؤولة عن انتاج هذه الانزيمات (Pongpech *et al*., 2008).

كما جاءت نتائج الدراسة الحاليه مخالفة لدراسات سابقة اذ اعطت اقل نسبة من الانتاج للانزيمات الواسعة الطيف. ففي الحلة، فقط ٦(١٥,٧%) من عزلات *Klibsillae* spp كانت محتملة الانتاج للانزيمات واسعة الطيف (Al-Charrakh، ٢٠٠٥)

في تايلند والهند كانت نسبة الانتاج لهذه الانزيمات هي ٣٨,٣%،٥٥% على التوالي، وفي هذه الدراسة جميع العزلات التي كانت محتملة الانتاج لهذه الانزيمات كانت مقاومة لمضادات البيتالاكتام. وعلى اية حال فان المورثات التي تشفر للانزيمات واسعة الطيف تقع عادة على البلازميدات التي تشفر لمقاومة مضادات اخرى كالـTrimethoprim، Aminoglycosides، Sulphonomides، Tetracyclines، Fluroquinolones، Chloramphenicol (Potz *et al*, 2006; Paterson, 2006).

ان المقاومة لمضادات البيتالاكتام الناتجة عن الانزيمات الواسعة الطيف من الصعب تحديدها بالاعتماد على نتائج فحص الحساسية الدوائية (Steward *et al*., 2001)، حالياً اوصى المختبر العالمي القياسي للمختبرات السريرية (CLSI, 2010) ١ من ٥ دلائل يمكن ان تستخدم للتحري عن الانزيمات واسعة الطيف بين عزلات بكتريا *K.pneumoniae*، *K. oxytoca*، *E. coli*، *P. mirabilis*.

اظهرت النتائج قابلية ١٤٠ عزلة بكتيرية مشخصة من بين ١٤٥ عزلة قابليتها على انتاج الانزيمات الواسعة لطيف بطريقة اختبار التحري الاولي تعود لبكتريا *Ps. aeruginosa*، *K.pneumoniae*، *E.coli* في مستشفيات مدينة الديوانية، ان الاختبارات المظهرية للتحري عن الانزيمات الواسعة الطيف

لاتجرى في العديد من الدول النامية ومنها العراق، وهذا يعود الى قلة الوعي وكذلك قلة الدعم والتسهيلات للتحري عن هذه الانزيمات وتشخيصها.

اشارت نتائج الدراسة الحاليه الى ان نسبة المقاومة لسيفالوسبورينات الجيل الثالث والـAztreonam بين بكتريا *Ps. aeruginosa* كانت مرتفعه اذ تراوحت بين ٩٦% للـCeftazidime و١٠٠% للـCeftriaxone، Cefotaxime بينما اظهر الـAztreonam نسبة مقاومة هي ٤٨%.

اظهرت عزلات بكتريا *K.pneumoniae* نسبة مقاومة لسيفالوسبورينات الجيل الثالث هي ٧٥%، ٦٨,٨%، ٧٣,٤% للـCeftazidime، Cefotaxime، Ceftriaxone على التوالي، اما الـAztreonam فأظهرت نسبة مقاومة له قد بلغت ٦٢,٥%.

ان نسبة المقاومة يمكن ان تعتبر كدليل على انتاج الانزيمات واسعة بين هذه العزلات. اشارت نتائج ثلاث تحريات وفي ثلاث مركز من وحدات الانعاش المركزية والتي انجزت في تركيا لثلاث سنوات مختلفة اوضحت ان نسبة مقاومة بكتريا الـ*E.coli* للـCefotaxime، Ceftazidime كانت ٣٠,٤%، ٢٨,٦% على التوالي. (Causeven *et al*., 1999)، ٢٠,٣%،٢٦,١% (Aksaray *et al*., 2000) وفي دراسة اجريت في Korea اظهرت نسب المقاومة هي ١٤%، ١٠% للـCefotaxime، Ceftazidime بين عزلات بكتريا الـ*E. coli* على التوالي (Lee *et al*., 2006)،ومن بين ١٨٩ عزلة للـ*E.coli* جمعت من مستشفيات في سنغافورة اظهرت ٢٧% من العزلات مقاومة للسيفالوسبورينات واسعة الطيف (Tan *et al*., 2009)

اظهرت النتائج ايضاً نسبة ملحوظة في مقاومة سيفالوسبورينات الجيل الثالث وكذلك الـAztreonam اذ ان سبب المقاومة الموسعة هو اكتساب الانزيمات الواسعة الطيف من قبل هذه العزلات، ومن المحتمل خلال فترة العلاج اذ اشارت نتائج ثلاث تحريات اجريت في تركيا في ثلاث من وحدات الانعاش المركزية المختلفة اوضحت ان نسبة المقاومة بين عزلات *Klebsillae* spp للـCeftazidime، Cefotaxime كانت ٩٦,٧%، ٨٥,٥% على التوالي (Gauseven *et al*., 1999) ٥٨,٧٣% (Aksaray *et al*., 2002)، ٥٧,٦٥% (Lebliebic *et al*., 2002)، Data وجماعته (٢٠٠٤) وجد ان نسبة المقاومة للـCeftriaxone، Ceftazidime، Cefotaxime كانت ٨٣,١%، ٨١,٥%، ٧٦,٤% بين عزلات *Klebsiella* spp المعزولة من المرضى في عدة مستشفيات من الهند.

سجل Tan وجماعته (٢٠٠٤) ان مستوى الحساسية للـCeftriaxone كان ٣٨,٨% بين عزلات *Klebsillae* spp والتي جمعت من مستشفيات سنغافورة.

ان سبب المقاومة لسيفالوسبورينات الجيل الثالث هي الانزيمات الواسعة الطيف (ESBLs) والتي هي من مشتقات الـTEM-1،TEM-2، SHV-12 ضيقة الطيف (Bradford, 2001) اذ من المحتمل، ان الضغط الانتخابي الناتج من الاستخدام المفرط لهذه المضادات في علاج الاخماج المتسببة عن بكتريا الـ*E.coli*، *Klebsillae* spp وكذلك استخدام العلاج دون الرجوع الى الطبيب المختص مما ادى الى ظهور مغايرات جديدة من انزيمات البيتالاكتاميز اذ اشار مركز السيطرة على الامراض (CDC) ان اكثر من ٧٠% من البكتريا المسببة للاصابات المكتسبة في المستشفيات هي مقاومة على الاقل لواحد من المضادات الشائعة الاستخدام في علاجها.

٥-٥-٢: فحص الاقراص المزدوجة التأزري Double disk synergy test

اظهرت النتائج عدم فاعلية هذا الاختبار في التحري عن قابلية عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* قيد الدرس على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف، اذ جاءت النتائج سالبة لجميع العزلات قيد الدرس وبنسبة ١٠٠% وهذا ما يدل على صعوبة وعدم كفاءة هذا الاختبار في التحري عن انتاج الانزيمات واسعة الطيف بين عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*، وهناك عدة اسباب تدفع الى التقليل من كفاءة هذا الاختبار، ومنها النتائج السالبة الخاطئة كون البكتريا تحتوي على انزيمات البيتالاكتاميز من النوع AmpC المحفزة نتيجة لوجود الـCefotaxime، Ceftazidime، وكذلك عدم تاثر هذا الانزيم بالـ Clavulanic acid (Weldhagen, 2004)، او بسبب انتاج انزيمات البيتالاكتاميز المعدنية العائدة للصنف B والتي لاتتأثر بالفعل التثبيطي للكلافيولانيت (Jacoby and Bush, 2009)، ومن الدراسات المحلية والتي جاءت متفقة مع نتائج الدراسة الحاليه هي دراسة بلال (٢٠١٠) اذ وجدت ان جميع العزلات العائدة للـ*Ps. aeruginosa* كانت سالبة لهذا الاختبار وهذا ما تفق تماماً مع نتائج الدراسة الحاليه، في حين لم تتفق هذه النتائج مع ما ذكره Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة العزلات المنتجة للانزيمات الواسعة الطيف بين عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* هي ٢(٣,٤%).

طبقاً للتعليمات المزودة من قبل المعهد القياسي للمختبرات السريرية (Clinical and Laboratory Standards Institute)، اذ ان التحري عن الانزيمات واسعة الطيف يتبع بالاختبار التاكيدي (Confirmatory test)، اذ طورت عدة طرق لهذا الغرض عادة مايستخدم فيها احد مثبطات البيتالاكتاميز، ومنها الـClavulanic acid مع احد سيفالوسبورينات الجيل الثالث اذ يعتمد اساس هذه الطرق على كون حامض الكلافيولانيت يثبط انزيمات الـ(ESBLs) وبالتالي يقلل من مستوى المقاومة لمضاد السيفالوسبورين المستخدم (Livermore, 1995; Blahova *et al*., 1997; Moland *et al*., 1998; Bradford, 2001)، ومن هذه الطرق هي طريقة تازر القرص المزدوج (Double disk

synergy method) الموضوعة من قبل (Jarlier *et al*., 1988) والتي تعتمد على وضع احد سيفالوسبورينات الجيل الثالث مثل الـCeftazidime، Cefotaxime حول قرص الـAmoxicillin-Clavulanic acid، اذ تعتبر الزيادة الناتجة عن التأزر مع حامض الـClavulanic acid دليلاً على تواجد انزيمات الواسعة الطيف (ESBLs)، (Coudron *et al*., 1997; AL-Jasser, 2006).

تعد هذه الطريقة الاكثر شيوعاً واعتماداً (Bedenic *et al*., 2001) كما وانها تعتبر الطريقة الحساسة والمتخصصة للعائلة المعوية (Livermore *et al*., 2001; Floriyn *et al*., 2002) لكنها لاتعتبر الطريقة المثاليه لتحديد تواجد الانزيمات الواسعة الطيف في العديد من الحالات، على سبيل المثال، اذا كان القرص ليس في موضعه الاصلي تماماً، عدم قدرة الـ Clavulanic acidعلى تثبيط الانزيمات الواسعة الطيف، فقدان فعاليه الـ Clavulanic acidنتيجة التخزين، وكذلك عدم القدرة على تحديد قابلية انتاج الانزيمات الواسعة الطيف في العزلات البكتيرية التي تنتج السيفالوسبورينات البلازميدية والكروموسومية (Hemalatha *et al*., 2006; Fam and El-Damarawy, 2008)

اذ كانت جميع عزلات *Ps. aeruginosa* قيد الدرس مقاومة للـCefoxitin، اذ ان العزلات المقاومة لهذا المضاد قد تكون منتجة لانزيمات البيتالاكتاميز من النوع AmpC والتي قد تغطي الانزيمات الواسعة الطيف (ESBLs) اذا ان النتيجة الكاذبة قد تحدث نتيجة لوجود انزيمات الـAmpC والتي تكون ذات فعاليه اعلى من الانزيمات الواسعة الطيف كما ان هذه الانزيمات هي المسؤولة عن فشل العلاج (Yan *et al*., 2002) لذلك يمكن القول ان هذه العزلات تمتلك الانزيمات الواسعة الطيف، ولكنها لايمكن ان تشخص عن طريق السيفالوسبورينات بوجود الـClavulanic acid نتيجة لوجود انزيمات الـAmpC والتي تعمل على تغطية الانزيمات الواسعة الطيف في الفحص التأكيدي، ومن ناحية اخرى ان العزلات المنتجة للانزيمات الواسعة الطيف، لايمكن ان تشخص دائماً لوجود انزيمات البيتالاكتاميز المعدنية ايظا (Mavroid *et al*., 2000; Docquier *et al*., 2001; Paterson *et al*., 2001) وكذلك الـOxacillinase الواسعة الطيف (OXA-10) (Girlich *et al*., 2002) وكذلك فاعلية الـGES-2 على حامض الـClavulanic acid (Poirel *et al*., 2001)، وقد تكون نتيجة لميكانيكيات اخرى مثل اليه انظمة الدفق، وعدم النفاذية (Weldhagen *et al*., 2003).

ذكر Navon-Venezia وجماعته (٢٠٠٥)، Drieux وجماعته (2008)، Kalmer (٢٠٠٨) بان الانزيمات الواسعة الطيف من الصعب تحديدها في حالة تواجد انزيمات الـAmpC. لذلك فان الاخماج الناتجة عن الانواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام والمنتجة للانزيمات الواسعة الطيف (ESBLs) وانزيمات الـAmpC تكون معقدة وصعبة العلاج (Farber *et al*., 2008) اذ ان هذه

الاختبارات اصبحت من الامور المهمة في المختبرات السريرية بسبب كونها تعطي نتائج سريعة ودقيقة في تحديد العزلات المنتجة للانزيمات الواسعة الطيف (Moland and Thomson, 1994; NCCLS, 2003b).

اكدت نتائج الدراسة الحاليه قابلية عزلات *K.pneumoniae*، *E.coli* على انتاج الانزيمات الواسعة الطيف اذ وجد ان ٣٧,٥%، ٤٦,٩% على التوالي من العزلات البكتيرية ذات قابلية على انتاج هذه الانزيمات، كما اكدت نتائج هذه الدراسة قابلية بعض العزلات المقاومة للبيتالاكتام على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف اذ وجد ان ٣٥,٢% من العزلات قيد الدرس هي منتجة لهذه الانزيمات اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه كل من Al-Muhannak (٢٠١٠)، سامر (٢٠١٠)، Hadi (٢٠٠٨)، Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدوا ان النسبة الكلية للعزلات المنتجة للانزيمات واسعة الطيف هي ٥,٢%، ١٣,٦٣%، ١٨,٣%، ٤٣,٩% في مدينة النجف. وفي ادراسة اخرى اجراها السعدي (٢٠٠٩) في مدينة الحلة وجد ان٤٦,٧% من العزلات كانت منتجة لهذه الانزيمات، كما جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان ٧٥% من العزلات منتجة لهذه الانزيمات في مدينة الموصل، وفي دراسات اخرى وجد Tofteland وجماعته (٢٠٠٧) ان ٣% من العزلات المختبرة كانت منتجة لهذه الانزيمات كما جاءت النتائج هذه النتائج مخالفة مع ماجاء به Pongpech وجماعته (٢٠٠٨)، Eschudero وجماعته (٢٠٠٩)، Menon وجماعته (٢٠٠٤) اذ وجدوا ان نسبة المقاومة بين العزلات المنتجة لهذه الانزيمات هي ٧٢%، ٢,٩%، ٤,٨% على التوالي.

كما اكدت النتائج قابلية عزلات بكتريا *k. pneumoniae* على انتاج الانزيمات واسعة الطيف (ESBLs) اذ وجد ان ٣٧,٥% من العزلات قيد الدرس كانت منتجة لهذه الانزيمات كما في، اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ماتوصل اليه Al-Shamarty (٢٠١٠)، Al-Hilli (٢٠١٠)، Hadi (٢٠٠٨)، Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجدوا ان نسبة انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف بين عزلات بكتريا *K. pneumoniae* هي ٦٠,٤%، ٤٨%، ٢٢,٧%،٤,٩% وكذلك الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة انتاج انزيمات البيتالاكتاميز هي ٩٠,٩%.

اشار Neelam وجماعته (٢٠٠٨) الى ان اعلى نسبة انتاج للانزيمات واسعة الطيف بين عزلات *K.pneumoniae* هي ٥١,٢%، اما الـ*E.coli*، *Ps. aeruginosa* اظهرت نسب هي ٤٠,٢%، ٢٧,٩% على التوالي.

كما جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه كل من Iroha وجماعته (٢٠٠٩)، Dropa وجماعته (٢٠٠٩) اذ وجدوا ان نسبة انتاج هذه الانزيمات هي ٥٨,٨%، ٧٥% على التوالي، في حين

كانت النتائج متفقة مع ما توصل اليه Carmen وجماعته (٢٠٠٠) اذ وجد ان ٣٦,٣% من عزلات *k.pneumoniae* كانت منتجة لهذه الانزيمات وكذلك جاءت النتائج متفقة مع ما توصلت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) بالنسبة للـ*K. pneumoniae* اذ وجدت ان نسبة انتاج هذه الانزيمات هي ٣٥,٣%.

ان انتشار بكتريا الـ*K. pneumoniae* المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف يختلف بصورة كبيرة على مستوى العالم وعلى المستوى الجغرافي ايضاً ويتغير مع الزمن (Livermore, 1995)، كما انها في حالة تزايد مستمر، اذ تشكل حوالي ١٧% من كل اخماج المجاري البولية المكتسبة في المستشفيات (Iroha *et al*., 2009)، كما ان وجود سلالات *K. pneumoniae* المنتجة للانزيمات واسعة الطيف في الولايات المتحدة الامريكية سجل اكثر من ٥% من جميع العزلات السريرية، بينما في فرنسا وانكلترا سجل ١٤%، ١٥% على التوالي (Iroha *et al*., 2009).

اوضحت النتائج ان نسبة انتاج الانزيمات واسعة الطيف بين عزلات بكتريا الـ*E.coli* قد بلغت ٤٦,٩% اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه كل من Al-Hilali (٢٠١٠)، Al-Muhannak (٢٠١٠)،Hadi (٢٠٠٨)، الحسو (٢٠٠٦) اذ وجدوا ان نسبة انتاج الانزيمات واسعة الطيف بين عزلات بكتريا الـ*E.coli* هي ١٦,١%، ٢٨,٥٧% على التوالي. بينما جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما تولت اليه Al-Hilli (٢٠١٠) اذ وجدت ان ٤٥% من عزلات بكتريا الـ*E. coli* هي منتجة لهذه الانزيمات.

٥-٦: المحتوى البلازميدي Plasmid profile

استخلص الـDNA البلازميدي باستخدام طريقة Salting out method الموصوفة من قبل Newman (١٩٩٥)، ورحل الحامض النووي. اذ ان الوزن الجزيئي للبلازميد لم يحدد في هذه الدراسة، وذلك لعدم توفر دليل خاص (Ladder) بتدرج بلازميدي مناسب.

ان الترحيل الكهربائي للـDNA تضمن عزل البلازميدات الكبيرة والصغيرة الحجم (Sambrook, 2001)، اظهرت العزلات المختبرة حزم بلازميدية مختلفة في الشكل والحجم والموقع، بعد ترحيلها كهربائياً شكل (٤-٢)، (٤-٣)، (٤-٤) اذ جاءت نتائج الدراسة الحاليه متفقة مع ما توصلت اليه بلال (٢٠١٠) والتي وجدت ان معظم عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* قد احتوت على نسق بلازميدي متشابه.

اتفقت نتائج الدراسة الحاليه مع Podschun وجماعته (١٩٨٦)، كما جاءت هذه الدراسة متفقة مع ماتوصل اليه Bune وجماعته (١٩٨٨) و Kitzis وجماعته (١٩٨٨) والتي اكدت ان بلازميدات

الـ *E.coli*، *K.pneumoniae* المعزولة من المرضى منتشرة بصورة واسعة ومتشعبة. كما وجد Al-Charrakh (٢٠٠٥)، وعلي (٢٠٠٦) ان عزلات بكتريا الـ*E.coli*، *K.pneumoniae* والتي عزلت من عينات بيئية واخرى سريرية والتي اظهرت احتوائها على بلازميدات مختلفة. اذ تشفر هذه البلازميدات لمورثات المقاومة الميكروبية ومنها مقاومة المضادات وكذلك العناصر الثقيلة والتي تدعى بالبلازميدات المقترنة والتي تشفر لمورثات الـTEM، SHV للبيتالاكتاميز (Bauerfeined *et al*., 1990; Kim *et al*., 1998; Alvarez *et al*., 2004).

بالاضافة الى ذلك، وفي دراسات اخرى وجد ان سلالات *K.pneumoniae* تحتوي على عدد كبير من البلازميدات (البلازميدات المقترنة) والتي تشفر لانزيمات البيتالاكتاميز وكذلك للمقاومة المتعددة العقاقير، لذلك فان للانزيمات الواسعة الطيف اهمية كبيرة وخصوصا تلك التي تتوسطها البلازميدات. كما جاءت هذه النتائج متفقة مع ماتوصل اليه Siu وجماعته (1999) والذي اوضح ان انتشار هذه البلازميدات بين عزلات بكتريا *K.pneumoniae* و*E.coli*، كما تحتوي بكتريا *K.pneumoniae* على العديد من البلازميدات والتي تختلف في العدد وكذلك الوزن الجزيئي، والتي تحتوي على انواع مختلفة من المورثات متضمنة تلك التي تشفر للانزيمات واسعة الطيف (ESBLs)، AmpC، وانزيمات الـTEM المقاومة للمثبط وكذلك انزيمات البيتالاكتاميز المعدنية اذ ان هذه الانزيمات تشفر لمقاومة انواع مختلفة من المضادات الحيوية متضمنة سيفالوسبورينات الجيل الثالث والرابع، Cephamycins، Monbactams، β-lactam inhibitors، Carbapenems (Essack *et al*., 2004).

ان عدد المورثات المسؤولة عن المقاومة للمضادات الحيوية محمولة على البلازميدات لسلالات بكتريا *K.pneumoniae* المتعددة المقاومة والتي تحتوي عادة على اكثر من مورث واحد واحياناً على خمسة كما ذكر Poirel وجماعته (٢٠٠٤)، ان التواجد المشترك للانزيمات الواسعة الطيف (ESBLs) مع انزيمات الـAmpC وكذلك الانزيمات المعدنية (Met allo-β-lactamases) اصبح اكثر شيوعاً بين عزلات *K.pneumoniae* متعددة المقاومة (yan *et al*., 2001). كما ان الانزيمات واسعة الطيف هي الاكثر شيوعاً بين عزلات *K.pneumoniae* والتي يشفر لها عادةً بلازميدات كبيرة ذات حجم يترواح بين ٨٠-١٦٠Kb (Hanson *et al*., 2005).

وجد Moland وجماعته (2006) بلازميدات تحتوي على المورثات المسؤولة عن المقاومة المتعددة، والتي يشفر احدها للانزيمات الـAmpC البلازميدية (DHA-1) وكذلك للعنصر المحشور IS26 بالاضافة الى الانزيمات الواسعة الطيف.

اشار Essack وجماعته (٢٠٠٤) الى احتواء عزلات *K.pneumoniae* على بلازميدين بوزن جزيئي حوالي 200Kb،95Kb والتي تشفر لانزيمات الـbla_{TEM}-1،bla_{SHV}-12،bla_{CTXM}-M3،bla_{DHA-1} اذ تمتاز عزلات بكترياالـ*K.pneumoniae* لقابليتها على نقل جينات المقاومة الى بكتريا الـ*E.coli* خلال مدة العلاج (Woodford, 2008).

٥-٧: التحري الجزيئي عن انزيمات البيتالاكتاميز Molecular detection of β-lactamases

نظراً لقلة المعلومات المتوفرة عن مدى تواجد وتكرار انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBL) والـAmpC في بعض العزلات السريرية التي تستوطن مستشفيات العراق بصورة عامة سوى بعض الدراسات المحلية في مدينة النجف والحلة اما في مستشفيات مدينة الديوانية وبصورة خاصة اذ لاتوجد دراسة متخصصة ومعمقة تجاه هذه الانزيمات وعلى مستوى جزيئي، لذلك ارتأت الدراسة الحاليه التحري عن قابلية هذه العزلات على انتاج هذه الانزيمات وذلك باستخدام تقنية التفاعل الجزيئي المتبلمر PCR، ومن خلال استعمال قطع من الـDNA ذات عدد محدود من النيوكليوتايد (Oligonucleotide) والتي تعمل كبادئات متخصصة لمورثات البيتالاكتاميز، والتي شملت مورثات كل من bla_{TEM}، bla_{SHV}، bla_{AmpC} كما صمم بادىء متخصص لجين الـbla_{AmpC}. اذ تم اعتماد مستخلص الـDNA الكلي للبكتريا قيد الدراسة الذي حصلنا عليه بطريقة التمليح Salting out كقالب Template تجري عليه عملية البلمرة.

اشارت النتائج ان ٥٦% من بكتريا *Ps. aeruginosa* قيد الدراسة تمتلك المورثbla_{SHV} وبواقع ٢/٢(١٠٠%) من العزلات التي حصلنا عليها من الادرار و ٢٣/١٢(٥٢,٢%) من العزلات التي حصلنا عليها من الحروق، وبهذا تؤكد زيادة نسبة تكرار المورث bla_{SHV} مقارنة بالمورث bla_{TEM} في العزلات السريرية قيد الدراسة. وقد يعود السبب نتيجة لتواجدها مع الانواع البكتيرية السالبة لصبغة غرام الاخرى، والتي تحتوي على انزيمات الـTEM، SHV ذات الطيف الواسع مثل *E.coli*، *K.pneumoniae* اذ جاءت هذه النتائج مخالفة لما توصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة تواجد انزيمات الـSHV بين عزلات *Ps. aeruginosa* هو ٣٨,٩%، اما بلال (٢٠١٠) فقد وجدت ان نسبة تواجد هذا الانزيم هي (٣٠%) كما جاءت نتائج الدراسة الحاليه مخالفة لدراسة اجريت في الصين اجراها Jiang وجماعته (٢٠٠٦) والتي اشارت الى ان نسبة تكرار المورث bla_{SHV} بين ٧٥ عزلة سريرية كانت ٠,٠% كما اشار Weldhagen وجماعته (٢٠٠٣) الى اكتشاف نوعين من مورثات الـbla_{SHV} في عزلات *Ps. aeruginosa* احدها اكتشف في فرنسا اذ يطلق عليه SHV-2، والثاني SHV-12 اكتشف

في تايلاند وان اول نوع من هذه الانزيمات هو الـSHV-1 الذي اكتشف سنة ١٩٧٢ وسمي انذاك بـPit 2 (Pitton, 1972).وقد سمي SHV عندما اكتشف في امع مانيا بداية الثمانينات (Kliebe *et al.*, 1985) اضافة الى ذلك فان هذا الانزيم شائع جداً في بكتريا الـ *K.pneumoniae* ويشبه في تركيبه الانزيم TEM وبنسبة تشابة ٦٨% من حيث الاحماض الامينية التي يمتلكها كلا الانزيمين (Tzouvelekis and Bonomo, 1999)، بينت نتائج الدراسة الحاليه احتواء ٧ عزلات وبنسبة (٢٨%) من بين ٢٥ عزلة اعطت نتائج تضخيم في جهاز الـPCR للمورث bla_{TEM} كما موضح في الشكل (7-4 A,B) اذ كان اول اكتشاف لهذا الانزيم سنة ١٩٦٥ في عزلة بكتريا الـ*E.coli*، اذ عزلت من مريضة يونانية اسمها Temonera كما اشتق منه اسم هذا الانزيم (Datta and Konntomichalou, 1965) ومؤخراً شكل واحد من اكثر انزيمات البيتالاكتاميز تواجداً في العائلة المعوية *Enterobacteriaceae* (Jacoby and Bush, 2009)، على الرغم من سيادتها في بكتريا *K.pneumoniae*، *E.coli* الا انها تتواجد ايضاًفي الانواع الاخرى من البكتريا السالبة لصبغة غرام (Bradford, 2001). ان الانزيم TEM-1 يشفر له المورث bla_{TEM} المحمول على الترانزبوزون Tn2، (Datta and Kontomicholon, 1965)، اما الانزيم TEM-3 فقد سجل سنة ١٩٨٧ كأول نوع مختلف من انزيمات الـTEM بيتالاكتاميز يمتلك زيادة في الفعاليه ضد مضادات السيفالوسبورين واسعة الطيف (Bradford, 2001) اذ جاءت نتائج هذه الدراسة مخالفة مع ما توصلت اليه بلال (٢٠١٠) اذ وجدت ان نسبة تواجد هذا الانزيم هي ١٥%، في حين جاءت النتائج مقاربة مع ماتوصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة تواجد هذا المورث هي ٢٢,٢% بين عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*.

اظهرت النتائج ان ٢٥/٤ (١٦%) من العزلات كانت تمتلك نوعين من المورثات اذ تمتلك كلاً من الـTEM، SHV بينما اظهرت ١١(٤٠%) من العزلات احتوائها على مورث واحد في حين لم تحتوي ٨ منها على اي مورث، اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصلت له بلال (٢٠١٠) والتي وجدت ان ٠,٩% تحتوي على نوعين من المورثات و ٤٨,٧% تحتوي على مورث واحد في حين كانت ٢٩,٧% من العزلات لم تحتوي اي منها وقد اكد العالم Docquier وجماعته (٢٠٠١) في دراسة اشار فيها على قدرة بكتريا *Ps. aeruginosa* لانتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف ESBLs، فقد اظهرت قابليتها على انتاج هذه الانزيمات وبنسبة ٣١,٣%، وهذا التباين في عدد الانزيمات التي تحملها العزلات قيد الدراسة قد ينسجم مع انماط المقاومة للمضادات الحيوية.

اوضحت النتائج ان ١٤,٣% (٢١/٣) من عزلات *k.pneumoniae* تحتوي على المورث bla_{TEM} اذ جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما توصل اليه Al-Shamarty(٢٠١٠) اذ وجد ان ١٣,٦% من عزلات

K.pneumoniae منتجة لهذه الانزيمات. في حين جاءت هذه النتائج متفقة تماماً مع ماتوصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة هذا المورث هي ١٤,٣%، كما جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما توصلت اليه Hadi (٢٠٠٨) اذ وجدت ان نسبة تواجد هذا المورث بين عزلات *K.pneumoniae* هي ١٥,٤% اذ ان انزيم الـTEM هو احد الانزيمات الواسعة الطيف والذي وجد في اجناس العائلة المعوية *Enterobacteriaceae* ، *E.coli*، *K.pneumoniae*، *p. mirabilis*. وغير المعوية مثل *Ps. aeruginosa* (Shahid *et al*., 2004) اذ يوجد حالياً اكثر من ١٧٠ مغاير للمورث bla_{TEM} والتي تقاوم المثبطات مثل الـClavulanic acid، (Jacoby and Bush, 2009) والتي تحدث نتيجة لاستبدال الحوامض الامينية في المواقع ١٦٤،١٠٤، ٢٣٨، ٢٤٠ (Bradford, 2001)، اشارت التقارير من اماكن جغرافية متنوعة، الى ان الاستخدام المحلي للمضادات الحيوية قد يلعب دور مهم وفعال في حث الطفرات التلقائية في المورث bla_{TEM}،(Vourli *et al*., 2004; Wachino *et al*., 2004)، اشارت النتائج الى ان ٥٥/١٢ (٢١,٨%) من العزلات قيد الدراسة اظهرت احتوائها على المورث bla_{TEM} ٧(٢٨%) منها تعود للـ *Ps. aeruginosa*، ٣(١٤,٣%) تعود للـ*K.pneumoniae*، ٢(٦,٧%) تعود للـ*E.coli* اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة تواجد هذا المورث بين عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa*،*K.pneumoniae*، *E.coi* هي (٦,٥%).

في دراسات محلية اجريت سابقاً، اشار Hadi (٢٠٠٨) بان ٤١,٢% من عزلات بكتريا الـ*E.coli*، *K.pneumoniae* والتي عزلت من المرضى المصابين بخمج المجاري البولية قد احتوت على المورث bla_{TEM}، وفي الحلة ذكر السعدي (٢٠٠٩) بان ٥٧,١% من عزلات *E.coli*، *K.pneumoniae* قد احتوت على مورثات الـbla_{TEM} اذ اظهرت نتائج الدراسة الحاليه اعلى نسبة من هذه الدراسات وفي نفس المجال ففي ايران اجريت دراسة من قبل Shahcheraghi وجماعته (٢٠٠٩) اذ وجد ان نسبة تكرار انزيمات الـTEM بين العزلات السالبة لصبغة غرام المنتجة للانزيمات واسعة الطيف اذ كانت ٩% بينما كانت نتائج هذه الدراسة اقل من دراسات اخرى اجريت في مناطق مختلفة من العالم ففي المانيا وجد Svärd (٢٠٠٧) ان ٧٠% من بكتريا الـ*Klebsillae* spp ، *E.coli* تحتوي على المورثbla_{TEM} وفي تايلاند وجد Ponpech وجماعته ان نسبة انتاج الـbla_{TEM} هي ٧٨% بين هذه البكتريا، وفي الهند Goyal وجماعته (٢٠٠٩) وجدوا ان ٥٤,٩% من عزلات بكتريا *E.coli*،*K.pneumoniae* كانت منتجة لهذه الانزيمات من بين العزلات المختبرة.

اما انزيمات البيتالاكتاميز من النوع SHV تتواجد بين انواع واجناس العائلة المعوية (*Enterobacteriaceae*) (Huang *et al*., 2004) اذ تحتوي على مغايرات بسبب استبدال الـSerine بدلاً من الـGlycine عند الموقع ٢٣٨ والـLysine بدلاً من الـGlutamate عند الموقع

٢٤٠ (Poole, 2004) اذ يوجد هناك اكثر من ١٢٥ مغاير انزيمي للـSHV وصف على مستوى العالم (Jacoby and Bush, 2009). ان انزيمات الـSHV هي النوع السائد للانزيمات واسعة الطيف في اوربا والولايات المتحدة الامريكية اذ تعد المغايرات SHV-2،SHV-5،SHV-12 هي الاكثر شيوعاً.

شخصت جينات الـbla_{SHV} في ٧(٣٣,٣%) بجهاز الـPCR وباستخدام بوادئ متخصصة ٥(٣١,٣%) منها مصدرها عزلات من الادرار ٢(٤٠%) مصدرها من الحروق اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه Al-Muhannak (٢٠١٠) اذ وجد ان جميع العزلات العائدة للـ*K.pneumoniae* هي خاليه من هذا المورث، في حين جاءت هذه النتائج مقاربة مع ما توصل اليه Al-Shamarty(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة تكرار هذا المورث بين عزلات *K.pneumoniae* هي ٣٤,٦%، كما جاءت هذه النتائج مخالفة مع ماتوصلت اليه Hadi (٢٠٠٨) اذ وجدت ان نسبة تكرار هذا المورث هي ٥٣,٨%. اذ ان اغلب سلالات الـ*K.pneumoniae* تحتوي على انزيمات البيتالاكتاميز كروموسومية او بلازميدية المنشأ ذات فعاليه تجاه البنسلينات (Bush and Mederious, 1995) اذ يوجد اكثر من ٥٠ مغاير انزيمي للـSHV المهمة والمنتشرة عالمياً والتي تشخص على اساس استبدال الحوامض الامينية ،(Jacoby and Munoz, 2005)، ان انزيمات الـSHV-2، SHV-5 هي بلازميدية المنشأ والتي سجلت على الاقل في خمسة دول (Jacoby and Mederious, 1991).

ان النمط المصلي المفرد للـ*K.pneumoniae* والتي تحتوي على انزيم الـSHV-4 انتقلت بين العديد من المستشفيات في فرنسا (Arlet *et al*., 1994). ان انتشار انتاج انزيم الـSHV-4 بين عزلات بكتريا *K.pneumoniae* المنتجة للانزيمات الواسعة الطيف ازداد من ١٦,٧% في عام ١٩٩٠ الى ٥٦% في عام ١٩٩٤ (Chanal *et al*., 1996). وفي دراسة اجراها Tasli و Bahar (2005) وجد بان ٤٢(٤٦%) عزلة *K.pnemoniae* عزلت من حالات سريرية في تركيا اعطت نتائج موجبة لاختبار الـSHV-PCR اذ ان الغالبية العظمى من انزيمات الـ SHV توجد بين عزلات بكتريا الـ *K. pneumoniae*.

اظهرت النتائج احتواء ٢١/١٠(٥٢,٤%) من العزلات قيد الدراسة اظهرت احتوائها على المورث TEMو SHV في حين اظهرت ٢١/٧(٣٨,١%) منها احتوائها على مورث واحد، في حين اظهرت ٢١/٢(٥٧%) عدم احتوائها على اي انزيم.

اظهرت النتائج ان (٤٤,٤%) من بكتريا الـ *E.coli* قيد الدرس احتوائها على المورث bla_{TEM} وبواقع ٧/٢(٢٨,٦%) للعزلات التي مصدرها من الادرار اما بالنسبة للعزلات التي مصدرها من الجروح فاظهرت خلوها من هذا المورث.

اذ جاءت نتائج الدراسة الحاليه مخالفة مع ما توصل اليه Al-Hilali(٢٠١٠) اذ وجد ان نسبة تكرار هذا المورث هي ١٨,٨% وكذلك مخالفة مع ما توصلت اليه Hadi (٢٠٠٨) اذ وجدت ان نسبة تكرار هذا المورث هي ١٤(٦٦,٦%) في مدينة النجف, وفي دراسة اجريت في البرتغال وجد ان تكرار هذا المورث هي ١٠(٨٥%) (Mendonea *et al*., 2007). ذكر Bradford (٢٠٠١) بان اكثر من ٩٠% من بكتريا الـE.coli المقاومة للـAmpicillin هي نتيجة انتاج الانزيم TEM-1 اذ يمتلك هذا الانزيم القابلية على تحليل البنسلينات (Penicillins) وكذلك السيفالوسبورينات الاولى كالـCephalothin و Cephaloridine.

كما اظهرت النتائج احتواء ٩/٢(٢٨,٦%) من العزلات قيد الدرس على المورث bla_{SHV} اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه الهلالي(٢٠١٠) اذوجد ان جميع العزلات محتوية على هذا المورث وبنسبة ١٠٠% وكذلك مخالفة مع ما توصلت اليه Hadi (٢٠٠٨) اذ وجدت ان نسبة تكرار هذا المورث هي ١٤,٣%كما ان هذه النتائج جاءت مخالفة مع ما سجله Pongpech وجماعته (2008) اذ وجد ان ٨% من ٣٧ عزلة كانت منتجة للانزيمات واسعة الطيف (ESBL) بين عزلات بكتريا *K.pneumoniae* في تايلاند وفي اسبانيا وجد Machado وجماعته (٢٠٠٥) احتواء ١٧% من عزلات بكتريا الـ*E.coli* على هذا المورث اما في تركيا فقد سجل كل من Tasl، Bahar (٢٠٠٥) ان نسبة تكرار هذا المورث بين عزلات بكتريا الـE.coli المعزولة من الحالات السريرية هو ١٥,١% اظهر احتواء اربع عزلات فقط من العزلات المنتجة للانزيمات الواسعة الطيف اذ احتوت كل عزلة على مورث واحد من مورثات الـSHV،TEM وبنسبة ٩/٤ (٤٤,٤%) في حين كانت ٩/٦ (٦٦,٧%) من العزلات غير حاوية على هذا المورث.

8-5: نتائج التحري عن انزيمات البيتالاكتاميز من النوع الـAmpC

تعد انزيمات الـAmpC من المجاميع المهمة العائدة لانزيمات البيتالاكتاميز وذلك نظراً لطيفها الواسع اعتمد في الدراسة الحاليه على مقاومة البكتريا لهذا المضاد وكاختبار تحري اولي عن هذه الانزيمات، حيث اظهرت ٢٦ عزلة من اصل ٥٥ عزلة مقاومة لهذا المضاد الـCefoxitin وبنسبة ٤٧,٣%. وكان لعزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* اكبر نسبة مقاومة بين الانواع البكتيرية المختبرة اذ اظهرت نسبة مقاومة بلغت ١٠٠% ولجميع العزلات، تلتها في ذلك عزلات بكتريا *K.pneumoniae* اذ اظهرت نسبة مقاومة هي ٤,٧% في حين كانت جميع عزلات بكتريا الـ*E.coli* حساسة لهذا المضاد، اذ جاءت هذه النتائج مخالفة مع ما توصل اليه الحسو (٢٠٠٦) اذ وجد ان نسبة المقاومة لكل من بكتريا الـ*Ps. aeruginosa*، *K.pneumoniae*، *E.coli* وبنسبة ٦١,٩%، ٣٦%، ١٧% وعلى التوالي.

ذكر Courdon وجماعته (٢٠٠٠) ان المقاومة لمضاد الـCefoxitin يمكن اعتباره كدليل على تواجد انزيمات الـAmpC نظراً لكون معظم انزيمات الـESBLs غير قادرة على تحليل مضادات الـCephamycins وعادة ماتكون السلالات الحاوية على هذه الانزيمات حساسة لهذا المضاد، كما ذكر الباحثان Livermore وBrown (٢٠٠١) ان العزلات المنتجة لانزيمات الـAmpC عادة ماتكون مقاومة لمضادات الـCephamycins وخاصة مضاد الـCefoxitin كما تتميز بمقاومتها للـ Clavulanic acid وعدم تأثرها به، كما ذكر الحسو (٢٠٠٦).

5-9: نتائج التحري عن مورثات الـbla_{AmpC} بين عزلات بكتريا الـ*Ps. aeruginosa*

التحري عن امورثات الـAmpC بين عزلات بكتريا الـ*Ps. aeruginosa* اذ اظهرت النتائج الى ان نسبة انتشار مورثات الـAmpC بين العزلات قيد الدرس كانت مرتفعه (٧٢%) ٢٥/١٨ ومن ملاحظة النتائج وجد ان نسبة انتشار هذا المورث بين العزلات التي مصدرها من الادرار هي ١٠٠%(٢/٢) بينما كانت في العزلات التي مصدرها الحروق هي ٦٩,٦% ٢٣/٦ كما في. اذ جاءت الدراسة الحاليه مخالفة مع ما توصلت اليه بلال (٢٠١٠) ان نسبة انتاج مورثات الـbla_{AmpC} هي ١٠,٩% بطريقة تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل كما موضح في الشكل (A,B 4-١٣) وفي دراسة مماثلة اجريت في Kolkatta في الهند كانت نسبة عزلات *Ps. aeruginosa* التي تحمل الـAmpC هي ١٧,٣% اذ ان تواجد اصناف مختلفة من الانزيمات الواسعة الطيف وانزيمات الـAmpC اضافة الى أليات المقاومة المختلفة في عزلات *Ps. aeruginosa* تعد مؤشراً خطراً على انتشار العزلانت ذات المقاومة المتعددة للعقاقير MDR في بعض مستشفيات مدينة الديوانية الامر الذي يشكل تحدياً كبيراًللعلاج بالمضادات الحيوية مماقد يؤدي الى فشل في العلاجات المتوفرة لهذه الامراض.

اظهرت النتائج ان العزلات التي احتوت على انزيمات الـTEM+AmpC هي ٦ بينما العزلات التي احتوت على انزيمات الـSHV+AmpC هي ٩ وحسب البادئ الجاهز اما حسب البادئ المصمم فان العزلات التي احتوت على الـAmpC+TEM هي ٧ والعزلات التي احتوت على انزيم الـAmpC+SHV هي ١٤ عزلة.

اظهرت جميع العزلات العائدة لبكتريا الـ*K.pneumoniae* خلوها من هذا المورث، اما بكتريا الـ *E.coli* فقد اظهرت عزلة واحدة احتوائها على هذا المورث وبنسبة (١١,١%) كما في الشكل (٤-١٥).

٥-١٠: مقارنة بين بادئ bla_{AmpC} الجاهز والمصمم

اظهرت النتائج ان بادئ bla_{AmpC} المصمم اعطى نتائج هي اعلى نسبة من البادئ الجاهز في تحديد تكرار مورث الـbla_{AmpC} بين العزلات قيد الدراسة اذ اعطى (٨٨%)٢٥/٢٢ وهي نسبة مرتفعه مقارنة مع البادئ الجاهز اذ اظهرت العزلات التي مصدرها من الادرار احتوائها على هذا المورث وبنسبة ١٠٠% لكلا البادئين، في حين احتوت العزلات التي مصدرها من الحروق نسبة احتواء هي ١٦(٦٩,٦%) حسب البادئ الجاهز و٢٠(٨٧%) حسب البادئ المصمم.

الاستنتاجات Conclusions:

١. اظهرت عزلات بكتريا *Ps. aeruginosa* ، *K.pneumoniae*، *E.coli* مقاومة للمضادات العائدة للبيتالاكتام وغير العائدة لهذه المجموعة اذ اظهرت صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية (MDR)، وكذلك المقاومة لمضادات البيتالاكتام واسعة الطيف مثل سيفالوسبورينات الجيل الثالث وكذلك مضادات الـAztreonam والـCefoxitin، في حين اظهرت حساسية جيدة ضد مضادات الـImipenem، Meropenem، Ciprofloxacin، Amikacin رغم وجود بعض العزلات المقاومة لهذه المضادات.

٢. اظهرت نتائج التحري عن انزيمات البيتالاكتاميز بشكل عام امتلاك الاغلبية منها على هذه الانزيمات، اذ اظهرت نتائج التحري باستخدام قرص النايتروسيفين اعلى نسبة انتاج بين عزلات *Ps. aeruginosa* تلتها كل من *K.pneumoniae* و *E.coli* على الرغم من كونها اكثر فاعلية بالنسبة للبكتريا الموجبة لصبغة غرام، كما اظهرت النتائج عدم قابلية طريقة تأزر القرص المزدوج (DDST) على التحري عن هذه الانزيمات الواسعة الطيف في عزلات *Ps. aeruginosa* في حين اعطت نتائج جيدة بالنسبة لبكتريا الـ*K.pneumoniae*، *E.coli*.

٣. ان التحري المظهري لايكون كافياً للتحري عن هذه الانزيمات اذ ان الكثير من الانواع البكتيرية التي تظهر عدم احتوائها على هذه الانزيمات بالطرق المظهرية الاانها تعطي نتائج موجبة عند استخدام الطرق الجزيئية. اظهرت تقنية الـ(PCR) احتواء العزلات المدروسة على مورثات الانزيمات الواسعة الطيف ESBLs بالاضافة لمورثات الـAmpC.

٤. اظهر البادئ المصمم نتائج اعلى من البادئ الجاهز وبنسبة (88%) لمورث الـbla_{AmpC} بين عزلات *Ps. aeruginosa*.

التوصيات Recommendations:

١. ضرورة اجراء اختبار التحري عن انزيمات البيتالاكتاميز وبكافة انواعها للبكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام وباستخدام الطرق المظهرية والجزيئية باستخدام استخدام تقنية الـPCR في تشخيص مورثات البيتالاكتاميز في الانواع البكتيرية للتحري عن هذه الانزيمات دون الاقتصارعلى احداها.

٢. اجراء دراسات مسحية تتناول تواجد هذه الانزيمات في البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة غرام وتحديد مدى انتشارها بين الانواع البكتيرية

٣. . ضرورة انشاء مراكز بحثية متخصصة بهذه الانزيمات لمراقبة تطور الانواع الجرثومية المقاومة للمضادات بصورة عامة وللبيتالاكتام بصورة خاصة ومراقبة مدى انتشارها بين هذه الانواع البكترية.

٤. استخدام مضادات الـImipenem، Meropenem، Ciprofloxacin، Amikacin كافضل خيار علاجي للاصابات الناتجة عن بكتريا الـ*Ps.aeruginosa*، *K.pneumoniae*، *E.coli*.

٥. .ضرورة اجراء دراسات اكثر عمقاً تتناول خصائص هذه الانزيمات الحركية وغيرها وكذلك طرق انتقالها بين الانواع البكتيرية وتحديد تابعات احماضها الامينية والتتابعات النيوكليوتيدية وذلك للحصول على ادق المعلومات عن نوعية هذه الانزيمات السائدة في محافظة الديوانية بصورة خاصة وفي العراق بصورة عامة.

٦. استخدام تقنية تصميم البوادئ (Primer design) واعتمادها في الابحاث كونها ذات نتائج موثوقة اذ ان اغلب السلالات المحلية تظهر تبايناً عن السلالات العالمية عند اعتماد البوادئ الجاهزة وقد لاتعطي نتائج.

المصادر العربية

- **باصات، ديمة نزار فرج**. (2006). تأثير المستخلصات المائية والكحولية لنباتي سم الفراخ والقريص على بعض عوامل الضراوة والدنا البلازميدي لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة محلياً. رسالة ماجستير. كلية العلوم –جامعة بغداد.
- **بلال، الهام جواد كاظم**. (٢٠١٠). التحري عن بعض انزيمات البيتالاكتاميز في العزلات السريرية لبكتريا الزوائف الزنجارية في مدين النجف. رسالة ماجستير، كلية الطب، جامعة الكوفة.
- **الجبوري، رسمية عمر سلطان**. (٢٠٠٠). التحري عن إنزيمات البيتا لاكتاميز لعدد من الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام المعزولة سريرياً وتأثير بعض المركبات الكيمياوية المحضرة على هذه الجراثيم. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.
- **الجبوري، محيميد مدالله** (١٩٩٠). علم البكتريا الطبية. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل.
- **الحسو، محمود زكي سليمان سلطان**. (٢٠٠٦). استخلاص وتنقية انزيمات البيتالاكتاميزمن بعض العصيات السالبة لصبغة كرام المعزولة من اصابات الجهاز التنفسي السفلي ودراسة بعض خصائصها. اطروحة دكتوراه، كلية العلوم جامعة الموصل.
- **الرماحي، سيوف خومان علوان**. (٢٠٠٦). دراسة مايكروبية ومناعية على بعض المسببات المرافقة لخمج الاذن الوسطى في محافظة القادسية. اطروحة دكتوراه. كلية التربية-جامعة القادسية.
- **العبيدي، سوسن شوكت عبد عبد الله**. (٢٠٠٢). دراسة الالتصاق والتلازن الدموي وعوامل الضراوة الاخرى لبعض افراد العائلة المعوية والزائفة الزنجارية المسببة لالتهاب السبيل البولي. رسالة ماجستير. كلية العلوم-جامعة لمستنصرية.
- **فيربرذر، ر. و.** (١٩٨٣). علم الجراثيم. الطبعة العاشرة، ترجمة هشام احمد الطالب وآخرون، طبع بمطابع جامعة الموصل.

- **قاسم، خالد وليد**. (٢٠٠٦). تأثير بعض العوامل الكيميائية والفيزيائية في حساسية بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة محلياً لمضادات الحياة. رسالة ماجستير. كلية العلوم، جامعة بغداد.

المصادر الاجنبية:

- **Abraham, E.P. and Chain, E**. (1940). An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. Nature ,146:837 , cited by Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistant threat . Clin. Microbiol. Rev.,14: 933-951.
- **Adam, A. P.; Barry, A. L.; and Benner, E. J.** (1970). A simple rapid test to differentiate penicillin-susceptible from penicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Infect. Dis., 122: 544-546.
- **Aiyegoro, O. A.; Igbinosa, O. O.; Ogunmwonyi, I. N.; Odjadjare, E. E.; Igbinosa, O. E. and Okoh, A. I.** (2007). Incidence of urinary tract infection among children and adolescents in lle-lfe, Nigeria. African J. Microbiol Research, pp. 013-019.
- **Aksaray, S.; Dokuzoguz, B.; Guvener, E.; Yucesoy, M.; Yulug, N.; Kogagoz, S.; Unal, S.; Cetin, S.; Calangu, S.; Gunaydin, M. Leblebicioglu, H.; Esen, S.; Bayar, B.; Willke, A.; Findik, D.; Tuncer, I.; Baysal, B.; Gunseren, F. and Mamikoglu, L.** (2000). Surveillance of antimicrobial among Gram-negative isolates from intensive care units in eight hospitals in Turkey. J. Antimicrob. Chemother. 45: 695-699.
- **Albert, B. and Sussman, M.** (1998). Microbiology, and microbial infections, ninth edition, Oxford University Press, Inc., New York.
- **Al-Charrakh, A. H.** (2005). Bacteriological and genetic study on extended-spectrum β-lactamases and bacteriocins of *Klebsiella* isolated from Hilla city. Ph.D. Thesis. College of Science. Baghdad University.
- **Alekshun, M. N. and Levy, S. B.** (1997). Mini review: regulation of chromosomaly mediated multiple antibiotics resistance. Antimicrob. Agents chemother. 41:2067-2075.
- **Al-Hilali, S. A. M. H.** (2010). Occurrence and Molecular Characterization of Enteropathogenic Esherichia coli (EPEC) Serotypes Isolated from Children with Diarrhea in Najaf. M.sc. Thesis. College of medicine. Kufa university.

- **Al-Hilli, Z. B. A.** (2010). Dissemination of β- lactamases in Escherichia coli and Klebsiella spp. Isolated from Merjan Teaching Hospital in Hilla City. M.Sc. Thesis. College of Science. Kufa University.
- **Al-Jasser, A. M.** (2006). Extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs): a global problem. Kuwait Med. J. 38: 171-185.
- **Al-Muhannak, F. H. N.** (2010). Spread of some Extended-Spectrum Beta-Lactamases in Clinical Isolates of Gram-Negative Bacilli in Najaf. M.sc. Thesis. College of medicine. Kufa university.
- **Al-Shamarati, M. J. M.** (2010). Molecular Evaluation of β-lactam Resistance Genes in Klibsiella spp. Isolated from Clinical Cases in Al-Najaf Province. M.Sc. thesis. College of Science. Kufa university.
- **Alvarez, M.; Tran, J. H.; Chow, N. and Jacoby, G. A.** (2004). Epidemiology of conjugative plasmid-mediated AmpC β-lactamases in the United States. Antimicrob. Agents. Chemother., 48:533–537.
- **Ambler, R. P.** (1979).Amino acid sequences of β-lactamases. In: Hamilton-Miller, J. M. T. and Smith, J. T. (eds). "Beta-Lactamases". Academic Press Inc., London , U.K. ,pp: 99-125.
- **Ambler, R.P.** (1980). The structure of β-lactamases .Philos.Trans.R.Soc. Lond., 289: 321-331.
- **Arlet**, **G.; Brami, G.; Decre, D.; Flippo, A.; Gaillot, O.; Lagrange, P. H. and Phillipon, A.** (1995). Molecular characterization by PCR-restriction fragment length polymorphism of TEM β-lactamases. FEMS Microbiol. Lett. 134: 203–208.
- **Arlet, G.; Rouveau, M.; Casin, I.; Bouvet, P. J. M.; Lagrange, P. H., and Philippon, A.** (1994). Molecular epidemiology of *Klebsiella pneumoniae* strains that produce SHV-4 β-lactamase and which were isolated in 14 French hospitals. J. Clin. Microbiol. 32**:** 2553–2558.
- **Ash, R. J.; Mauck, B. and Morgan, M.** (2002). Antibiotics resistance of gram-negative bacteria in rivers ,United States. Emerg.Infect.Dis. 8 : 713-716.
- **Atlas, R.M.** (1995). Principle of Microbiology. Mosby Year book, U.S.A.
- **Ayton, M**. (1985). Wound care: wounds that won't heal. Nurs Times; 81 (46): suppl 16-19.
- **Baquero, F.; Bouanchaud, D.; Martinez- Perez, M. C.; and Fernandez, C.** (1978). Microcin plasmids: a group of extrachromosomal elements coding for low-molecular-weight antibiotics in *Escherichia coli*. J. Bacteriol. 135: 342-347.

- **Barlow, M. and Hall, B.** (2002). Predicting evolutionary potential: in vitro evolution accurately reproduces natural evolution of the TEM β-lactamase. Genetics, 160: 823-832.
- **Baron, E. J.; Peterson, L. R. and Finegold, S. M.** (1994). "Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology" .9th.ed.,Mosby-Year Book ,Inc.,U.S.A.
- **Bauer, A. W.; Kirby, W. A. M.; Sherris, J. S. and Turk, M.** (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol.,45: 493-496.
- **Bauernfeind, A.; Casellas, J. M.; Goldberg, M.; Holley, M.; Jungwirth, R.; Mangold, P.; Rohnisch, T.; Schweighart, S. and Wilhelm, R.** (1992). A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella typhimurium*. Infect., 20: 158-163.
- **Bauernfeind, A.; Grimm, H. and Schweighart, S.** (1990). A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of Escherichia coli. Infection, 18: 294–298.
- **Bauernfeind, A.; Stemplinger, I.; Jungwirth, R.; Ernst, S. and Casellas, J. M.** (1996). Sequences of β-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other β-lactamases . Antimicrob. Agents Chemother., 40: 509-513.
- **Bedenic, B.; Randegger, C. C.; Boras, A. and Hachler, H.** (2001a). Comparison of five different methods for detection of SHV-extended-spectrum β-lactamases. J. Chemother., 13(1): 24- 33.
- **Bedenic, B.; Randegger, C. C.; Stobberingh, E.; and Hachler, H.** (2001b). Molecular epidemiology of extended-spectrum β-lactamases from *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in Zagreb, Croatia. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 20**:** 505–508.
- **Bennett P.M. and Chopra, I.** (1993). Molecular basis of β-lactamase induction in bacteria .Antimicrob. Agents Chemother., 37:153-158.
- **Bennett, P. M. and Hawkey, P. M.** (1991). "The future contribution of transposition to antimicrobial resistance." J. Hosp. Infect: 211-221.
- **Benson, H. J.** (1998). Microbiological Applications, Laboratory Manual in General Microbiology, 7th edition, McGraw-Hill Companies.
- **Benson, H. J.** (2002). Microbiological Applications (Laboratory Manual in General Microbiology). Eighth edition published by McGraw-Hill, New York.

- **Blahova, J.; Kralikova, K.; Krcmery, V. and Torsova, V.** (1997). Transfer of antibiotic resistance and production of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) in nosocomial *Klebsiella pneumoniae* strains from two hospitals in Czech Republic. Zentralbl Bakteriol. 286(4):449-55.
- **Blazquez, J.; Morosini, M. I.; Negri, M. C. and Baquero, F.** (2000).Selection of naturally occurring extended-spectrum TEM β-lactamase variants by fluctuating β-lactam pressure. Antimicrob.Agents Chemother., 44: 2182-2184.
- **Bonnet, R.; Champs, C.D.; Sirot, D.; Chanal, C.; Labia. R.; and Sirot, J.** (1999). Diversity of TEM mutants in *Proteus mirabilis*. Antimicrob. Agents Chemother., 43: 2671-2677.
- **Bonnet, R.; Recule, C.; Baraduc, R.; Chanal, C.; Sirot, D.; De Champs, C. and Sirot, J.** (2003). Effect of D240G substitution in a novel ESBL CTX-M-27. J. Antimicrob Chemother 52: 29-35.
- **Bonomo, R. A. and Rice, L. R.** (1999). Inhibitor resistant class A beta-lactamases. Front. Biosci. 4: 34-41.
- **Bou, G.; Oliver, A. and Martinez-Beltran, J.** (2000). OXA-24, a novel class D β-lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strains . Antimicrob. Agents Chemother., 44: 1556-156.
- **Bradford**, P. A. (2001). Extended-spectrum β- lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin. Microbiol. Rev. 14: 933-951.
- **Bret, L.; Chanal, C.; Sirot, D.; Labia, R. and Sirot, J.** (1996). Characterization of an inhibitor-resistant IRT-2 derived from TEM-2 β-lactamase produced by *Proteus mirabilis* strains . J. Antimicrob. Chemother., 38: 183-191.
- **Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A.** (2001). "Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology". 22nd ed., Lange Medical Books/ McGraw-Hill Inc., U.S.A.
- **Brooks**, **G. F.; Butel, J. S. and Morse, S.A.** (1998). Antimicrobial chemotherapy, In: Medical microbiology. (21ed). Typo Press. Lebanon.
- **Brown, B. J.; Asinobi, A. O.; Fatunde, O.H.; Osinusi, K.; Fasina, N.A.** (2003). Antimicrobial sensitivity pattern of organisms causing urinary tract infections in children with sick anaemia in Ibadan, Nigeria. West Afr. J. Med., 22(2):110-113.
- **Bure, A.; Legrand, P.; Arlet, G. V.; Paul, G.; and Philippon, A.** (1988). Dissemination in five Franch hospitalas of Klebsiella pneumoniae serotype K25

harboring a new transferable enzymetic resistance to third generation cephalosporins and aztreonam. Eur. J. Clin. Mirobiol. Infet. Dis. 7: 780-782.

- **Bush, K.** (1997). The evolution of β-lactamase . Ciba Foundation Sympos-ium 207 :152-166.
- **Bush, K.** (2001). New β-lactamases in gram-negative bacteria: diversity and impact on the selection of antimicrobial therapy. Clin. Infect. Dis. **32:** 1085-1089.
- **Bush, K., and Sykes, R. B.** (1982). Interaction of new β-lactams with β-lactamases and β-lactamases-producing gram-negative rods, p.47-63. In H.C. Neu (ed.), New β-lactam antibiotics: review from chemistry to clinical efficacy of new cephalosporins. College of Physicians of Philadelphia, Philadelphia.
- **Bush, K.; Jacoby, G. and Medeiros A.** (1995). A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob. Agents Chemother., 39: 1211-1233.
- **Cao, V. T. B.; Arlet, G.; Ericsson, B. M.; Tammelin, A.; Courvalin, P. and Lambert, T.** (2000). Emergence of Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* owing to combination of plasmid-mediated CMY-4 and permeability alteration. J. Antimicrob. Chemother., 46: 895-900.
- **Cappelletty, D. M. and Rybak, M. J.** (1996).Comparison of methodologies for synergism testing of drug combinations against resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* . Antimicrob. Agents Chemother., 40: 677 -683.
- **Carmen**, **P. O.; Rogério, N.; Caio, M. and the Resistent Group.** (2001). Multicenter evaluation of resistance patterns of *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp and *Shigella* spp isolated from clinical specimens in Brazil. Brazil. J. infect. Dis. 5(1):8-12.
- **Cavallo, J. D.; Fabre, R.; Leblanc, F.; Nicolas-Chanoine, M. H.; Tabaut, A. and GERPB.** (2000). Antibiotic susceptibility and mechanisms of β-lactam resistance in 1310 strains of *Pseudomonas aeruginosa*: a French multicentre study (1996). J. Antimicrob Chemother. 46, 133–6.
- **Chain, E.; Florey, H. W.; Gardner, A. D.; Heatley, N. G.; Jennings, M. A.; Orr-Ewing; J. *et al.*** (1940). Penicillin as a chemotherapeutic agent. Lancet, 2: 226–228.
- **Chanal, C.; Sirot, D.; Romaszko, P.J.; Bret, L. and Sirot, J.** (1996). Survey of prevelance of extended-spectrum β-lactamases among Enterobacteriaceae. J. Antimicrob. Chemother. 38: 127-132.

- **Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).** (2010). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 20th informational supplement. M 100-S20., Wayne, Pannsylvannia; 30 (1).
- **Clinical and Laboratory Standards Institute** (**CLSI**). (2007). Methods for antimicrobial susceptibility testing of anaerobic bacteria. Approved standard M11-A7. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.
- **Collee, J. G.; Marmion, B. P; Fraser, A. G. and Simmons, A.** (1996). Mackie and McCarthy–Practical Medical Microbiology. 4th ed., Longman Singapore Publishers (Pte) Lt. Singapore pp 361 – 381.
- **Colodner, R. and Raz, R.** (2005). Extended-spectrum β-lactamases: the end of cephalosporins. IMAJ,7: 336-338.
- **Cookson, B.; Momson, D.; Marples, R.;** (2001). Antibiotic resistance nosocomial gram-negative infection. Med. Microbial. 49(6):439-422.
- **Coudron, P. E.; Moland, E. S. and Thomson, K. S.** (2000). "occurrence and detection of AmpC Beta - lactamases among *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* isolates at a veterans medical center." J Clin Microbiol 38: 1791-1796.
- **Coudron, P. E.; Moland, E. S.; and Sanders, C.** (1997). Occurence and detection of extended - spectrum β-lactamases in members of the family *Enterobacteriacea* at a Veterans Medical Center: Seek and you may find. J. Clin. Microbiol. 35: 2593-2597.
- **Coudron, P.; Neuman, M.; Crofton, J. and Douglas, A.** (1988). "Respiratory Diseases" .3rd ed., P.G. publishing pte.Ltd., Singapore.
- **Coudron, P.E., Moland, E.S., and Sanders, C.C.** (1997). Occurence and detection of extended-spectrum ß-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* at a Veterans Medical Center: seek.
- **Crespo, M. P.; Woodford, N.; Sinchir, A.; Kaufmann, M. E.; Turton, J.; Glover, J.; Velsz, J. D.; Castaneda, C. R.; Recalde, M. and Livermore, D. M**. (2004). Outbreak of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-8, a novel metallo- β-lactamases, in a tertiary care center in Gali, Colombia. J. Clin. Microbiol., 42: 5094-5101.
- **Crofton, J. and Douglas, A.** (1988). Respiratory Diseases. 3rd ed., P.G. publishing pte.Ltd., Singapore.

- **Cruickshank, R.; Duguid, J. P.; Marmion, B. P. and Swain H. A.** (1975). Medical Microbiology. 12th ed. Churchill Livingstone, London.
- **Cuntuonkm, D. J.; Broad head, W. E. and Gack, K.** (2002). Risk factor for nosocomial infection: comparing adult critical care populations-Am. 1, Respir. Grit, car. Med. 153:158-62.
- **Danel, F.; Hall, L. M.; Duke, B.; Gur, D. and Livermore, D. M.** (1999). OXA-17, a further extended-spectrum variant of OXA-10 β-lactamase, isolated from *Pseudomonas aeruginosa* . Antimicrob. Agents Chemother., 43: 1362-1366.
- **Datta, N. and Kontomichalou, P.** (1965). Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae. Nature 41: 208-239.
- **Datta, P.; Thakur, A.; Mishra, B.; and Gupta, V.** (2004). Prevalence of clinical strains resistant to various β-lactams in a tertiary care hospital in India. Jpn. J. Infect. Dis. 57: 146-149.
- **David**, **L.; Paterson, I.; Kristine, M.; Hujer, A. M.; Hujer, B, Yeiser, Michael D. Bonomo, Louis B. Rice, Robert A. Bonomo, and the International *Klebsiella* Study Group.** (2007). Extended-Spectrum β-Lactamases in *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Isolates from Seven Countries Antimicrobial agents and Chemotherapy. p. 3554–3560.
- **Deboy II, J. M.; Wachsmuth, I. K. and Davis, B. R.** (1980). Hemolytic activity in enterotoxigenic and non enterotoxigenic strain of *Esherichia coli*. J. Clin. Microb. 12(2) : 193-198.
- **Delost, M. D**. (1997). Introduction To Diagnostic Microbiology, Mosby ,USA; 120-141.
- **DeMiguel Martinez, I.; Del Rosario, Q. C.; Bolanos, Rivero, M. and Ramos M. A.** (2005). Aetiology and therapeutic considerations in chronic otitis media. Analysis of a 5 years period. Acta. Otorrinolaringol. Esp. 56 (10): 459 – 462.
- **Docquier, J. D.; Luzzaro, F.; Amicosante, G.; Toniolo, A. and Rossolini, G.M.** (2001). Multidrug - resistant *Pseudomonas aeruginosa* producing PER-1 extended-spectrum serine-β-lactamase and VIM-2 Metallo-β-lactamase. Emerg. Infect. Dis., **7**(5): 1-4.
- **Drieux, L.; Brossier, F.; Sougakoff, W. and Jarlier, V.** (2008). Phenotypic detection of extended-spectrum β-lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. Clin Microbiol Infect., 14: 90- 103.
- **Dropa, M.; Balsalobre, L.C.; Lincopan, N.; Mamizuka, E. M.; Murakami, T.; Cassettari, V. C.; Franco, F.; Guida, S. M.; Balabakis, A. J.; Passadore,**

L. F.; Santos, S. R.; Matte, G. R.; and Matte, M. H. (2009). Extended-spectrum-β-lactamases among *Enterobacteriaceae* isolated in a public hospital in Brazil. Rev. Inst. Med. Trop. S. Paulo. 51: 203-209.

- **Dzidic, S.; Suskovic, J. and Kos, B.** (2008). Antibiotic resistance mechanisms in bacteria. biochemical and genetic aspects. 46: 11-21.
- **Edmunds, M.W.** (2000). Introduction to Clinical Pharmacology.3rd ed. Mosbey, Inc.
- **Erisson, H. M. and Sherris, J. C.** (1971). Antibiotic sensitivity testing report of an international collaborative study. Acta. Pathologica et Microbiologica Scand., Section B Supp1. 217: 1- 90.
- **Escudero E.; Vinuē, L.; Teshager, T.; Torres, C. and Moreno, M.A.** (2009).Resistance mechanism and farm-level distribution of fecal Escherichia coli isolates Resistant to extended-spectrum cephalosporins in pigs in Spain. Res Vet Sci., 88 (1): 83-87.
- **Essack**, **S. Y., Hall, L. M. C. and Livermore D. M.** (2004). *Klebsiella pneumoniae* isolate from South Africa with multiple TEM, SHV and AmpC beta-lactamases. Int. J. Antimicrob. Agents. 23, 398–400.
- **Essack, S.Y. (**2000a). Laboratory detection of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs)-the need for a reliable, reproducible method. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 37(4): 293-295.
- **Fam, N. S. and El-Damarawy, M. M.** (2008). CTX-M-15 Extended-spectrum beta-lactamases detected from intensive care unit of an egyptian medical research institute. Res. J. Medicine and Med. Sci. 3(1): 84-91.
- **Fang, D.; Xi-wei, X.; Wen-qi, S.; Ping, L.; Sang-jie, Y.; Yong-hong, Y.; Xu-zhuang, S.**(2008). Characterization of multi drug resistant and metallo beta lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa isolates from pediatric clinic in china. Chin. Med. J. 121(17): 1611-1616.
- **Färber, J.; Moder, K.A.; Layer, F.; Tammer, I.; König, W.; König, B.** (2008). Extended-spectrum Beta-lactamase detection with different panels for automated susceptibility testing and with a chromogenic medium. J. Clin. Microbiol., **46** (11): 3721-3727.
- **Ferguson, D.** (2007). A study of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* and the investigation of antibiotic resistancent mechanisms in the multi drug resistant strain PA13 Ph.D. Thesis School of Biotechnology and National Institute for Cellular Biotechnology, Dublin City University.

- **Finegold, S. M. and Martin, W. J.** (1982). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 6th ed. The C. V. Mosby Company, USA.
- **Finland, M. J. (**2001). Hospital-acquired infection. The problem of MRSA and infection with *Klebsiella pneumoniae*. Am. J. 264:207-211.
- **Flaih, R. A.** (2005). The clinical important of bacterial beta-lactamase. MSc. thesis. College of Science. Babylon University.
- **Flamm, R. K.; Weaver, R. K.; Thornsberry, C; *etal*.** (2004), Factors associated with relative rates of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates tested in clinical laboratories in the United States from 1999 to 2002. Antimicrob. Agents. Chemother. 48: 2431-2436.
- **Florijn, A.; Nijssen, S.; Smitz, F.; Verhoef, J.; Fluit, A.** (2002). Comparison of E-tests and double disk diffusion tests for the detection of extended spectrum beta-lactamases (ESBLs). Europ. J. Clin. Microb. Infect. Dis., 21: 241-243.
- **Fluit, A. C. and Schmitz, F. J.** (1999). "Class 1 Integrons, gene cassettes, mobility, and epidemiology. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 18: 761-770.
- **Forbes, B. A., Sahm, D. F., and Weissfeild, A. S.** (2007). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby, USA. pp: 323.
- **Forssten, S.** (2009).Genetic Basis and diaphragm gnostics of extended-spectrum β-lactamaSES among *Enterobacteriaceae* in finland turun yliopisto University of Turku.
- **Fuda, C.; Hesek, D.; Lee, M.; Heilmayer, W.; Novak, R.; Vkulenko, S. B.; and Mobashery, S.** (2006). Mechanistic basis for the action of new cephalosporin antibiotics effective against methicillin-and vancomycin-resistant Staphyloccocus aureus. J. Biol. Chem. 281: 10035-10041.
- **Gad, F. G.; El-Domany, A. R. and Ashour, M. H.** (2008). Antimicrobial susceptibility profile of *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Egypt, J Urol., 180 (1): 176-181.
- **Garau, G.; Garcia-Saez, I. and Bebrone, C. et al.** (2004). Update of the standard numbering scheme for class B β-lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 48: 2347-2349.
- **Gay. P.; Goq, L.; Steinmetz, M.; Berkelman, T.; and Kado, I.** (1985). Positive selection procedure for entrapment of insertion sequence elements in gram-negative bacteria. J. Bacteriol. 164 (2): 918- 921.

- **Gazouli, M.; Sidorenko, S. V.; Tzelepi,E.; Kozlova, N. S.; Gladin, D. P. and Tzouvelekis, L. S.** (1998a). A plasmid-mediated β-lactamase conf-erring resistance to cefotaxime in *Salmonella typhimurium* clone found in St. Petersburg, Russia. J. Antimicrob. Chemother., 41:119-121.
- **Gazouli, M.; Tzelepi, E.; Sidorenko, S. V. and Tzouvelekis, L. S.** (1998b). Sequence of the gene encoding a plasmid-mediated cefotaxime-hydrolyzing class A β-lactamase (CTX-M-4): involvement of serine 237 in cephalosporin hydrolysis. Antimicrob. Agents Chemother.,42: 1259-1262.
- **Gazouli, M.; Tzouvelekis, L. S.; Prinarakis, E.; Miriagou, V. and Tzelepi, E.** (1996). Transferable cefoxitin resistance in enterobacteria from Greek hospitals and characterization of plasmid-mediated group 1 β-lactamase (LAT-2) . Antimicrob. Agents Chemother., 40: 1736-1740.
- **Gazouli, M.; Tzouvelekis, L. S.; Vatopoulos, A. C. and Tzelepi, E.** (1998c). Transferable class C β-lactamases in *Escherichia coli* strains isolated in Greek hospitals and characterization of two enzyme variants (LAT-3 and LAT-4) closely related to *Citrobacter freundii* AmpC β-lactamase. J. Antimicrob.Chemother., 42:419-425.
- **Ghuysen, J. M.** (1979). Interaction between β-lactam antibiotics and the enzymes of the wall peptidoglycan crosslinking system. In: Hamilton-Miller, J. M. T. and Smith, J. T. (eds). "Beta-Lactamases". Academic Press Inc., London , U.K. ,pp.: 181-204.
- **Ghuysen, J. M.** (1991). Serine β-lactamases and penicillin-binding proteins . Annu.Rev.Microbiol., 45:37-67, cited by Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistant threat . Clin. Microbiol. Rev., 14: 933-951.
- **Girlich, D.; Naas, T.; Leelaporn, A.; Poirel, L.; Fennewald, M. and Nordmann, P.** (2002). Nosocomial spread of the integron-located *veb-1*-like cassette encoding an extended-spectrum ß-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* in Thailand. Clin. Infect. Dis. 34**:** 175-182.
- **Goo, K. S. and Sim, T. S.** (2010). Designing new β-lactams:implications from their targets , resistence factors and synthesizing enzymes . Curr. Comput. Aided Drug Des.7(1):53-80.
- **Goyal, A.; Prasad K. N.; Prasad, A.; Gupta, S.; Ghoshal, U. and Ayyagari, A.** (٢٠٠٩)Extended-spectrum beta-lactamases in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae and associated risk factors. Indian J. Med. Res., 129 (6): 695-700.

- **Gradelski, E.; Valera, L.; Bonner, D. and Fung-Tomc, J.** (2001). Synergistic activities of gatifloxacin in combination with other antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa* and related species . Antimicrob. Agent Chemother., 45: 3220-3222.
- **Greenwood, D.; Finch, R.; Davey, P. and Wilcox, M.** (2007). Antimicrobial chemotherapy. Oxford University Press, New York.
- **Greer, N. D.** (2006). Tigecycline (tygacil): the firstin the glycylcyclineclass of antibiotics.proc, Bayl univ med cent. 19 (2): p: 155-61.
- **Hadi, Z.J.** (2008). Detection of Extended-Spectrum Beta-lactamases of *Escherichia coli* and *Klebsiella spp.*isolated from patients with significant Bacteriuria in Najaf. M.Sc. Thesis. College of S. Kufa University.
- **Hall**, **R. M. and Collis, C. M.** (1995). Mobile gene cassettes and Integrons: capture and spread of genes by site-specific recombination. Mol. Microbiol. 15: 593-600.
- **Hall, R. M.; and Stokes, H. W.** (1993). Integrons: novel DNA elements which capture genes by site specific recombination. Genetica. 90: 115-132.
- **Haneke, E.** (1997). Infections indermatological surgery. In Diagnosis and treatment of skin infections by Harahap, M. (ed.). P:416-430.
- **Hanson, N. D.** (2003). AmpC β-lactamases : What do we need to know for the future . J. Antimicrob.Chemother.,52:2-4.
- **Hanson, N. D. and Sanders, C. C.** (1999). Regulation of inducible AmpC β-lactamase expression among *Enterobacteriaceae* . Curr. Pharma. Des., 5 :881-894.
- **Hauser, A. and Padman, S.** (2005). Severe *Pseudomonas aeruginosa* infections: talking the counudrum of drug resistance. Postgrad. Med. 117 (1): 41 –48.
- **Hemalatha, V.; Padma, M.; Sekar, U.; Venodth, T. M.; and Arunkumar, A. S.** (2007). Detection of Amp C beta-lactamases production in Escherichia coli and Klebsiella by an inhibitor based method . Ind. J. Med. Res. 126: 220-223.
- **Ho, S. E.; Subramaniam, G.; Palasubramiam, S. and Navaratnam, P.** (2002). Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Malaysia producing IMP-7 β-lactamase. Antimicrob. Agent Chemother., 46: 3286-3287.

- **Hodgson, B. B and Kizior, R. J.** (2003). Saunders nursing drug hand book Elsevier Science (U.S.A).
- **Holt, J. G.** (1979). The Shorter Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed., The Williams and Wilkins Company, Baltimore, U.S.A.
- **Holt, J. G.; Krieg, N. R.; Sneath, P. H. A.; Staley, J. T. and Williams, S. T.** (1994). Group 5 facultatively anaerobic Gram-negative rods. Baltimore;. P.181.
- **Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, H. A.; Stanley, J. T. and Williams, S.T.** (1994). Bergeys manual of determinative bacteriology. 9th ed., Baltimore; Wiliams and Wilkins, USA.
- **Hosseini-Mazinani, S. M.; Eftekhar, F.; Milani, M. and Ghandili, S.** (2007). Characterization of β-lactamases from urinary isolates of *Escherichia coli* in Tehran. Iran. Biomed. J. 11 (2): 95-99.
- **Hsueh, P. P.; Chen, W. H. and Luh, K. T.** (2005). Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram – Negative bacteria causing nosocomial infections from 1991 – 2003 at a University Hospital in Taiwan. Int. J. Antimicro. Agents.; Nov. 6.
- **Huang, ZM.; Mao, PH.; Chen, Y.; Wu, L. and Wu, J.** (2004). Study on molecular epidemiology of SHV type beta-lactamaseencoding genes of multiple-drug - resistant *Acinetobacter baumannii*. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi., 25: 425-427.
- **Hughes, V. M.; Hendeson W. G. and Datta, N.** (1981). Discrimination between multiply-resistant Klebsiella strains during a hospital outbreak : use of klebocin typing and a screening test for plasmids. J. Hosp. Infect., 2 (1) : 45-54.
- **Hujer, K. M.; Hujer, A. M.; Hulten, E. A.; Bajaksouziesan, S.; Adams, J. *et al* .** (2006). Analysis of antibiotic resistance genes in multidrug- resistant *Acinetobacter sp.* Isolates from military and civilian patients treated at the walter reed army medical center. Antimicrob. Agents. Chemoth., 50 (12): 4114-4123.
- **Huletsky, A.; Knox, J. R. and Levesque, R. C.** (1993). Role of Ser-238 and Lys-240 in the hydrolysis of 3rd-generation cephalosporins by SHV-type β-lactamases probed by site-directed mutagenesis and 3-dimensional modeling . J. Biol. Chem., 268: 3690-3697.
- **Humeniuk, C.; G. Alert, V.; Gautier, P.; Grimont, R. L. and Phillipon, A.** (2002). β lactamase of *Kluveria ascorbata*, Probable Progenitors of Some Plasmid-Encoded CTX-M Types. Antimicrob. Agents Chemother 46: 3045-3049.

- **Husein, E. A.** (2006). Bacteriological and Epidemiological Study of Surgical Wards in Tikrit Teaching Hospital. M. sc. Thesis. College of Medicine. Tikirit University.
- **Hussain, M.; Carlino, A.; Madonna, M. J. and Lampen, J. O.** (1985). Cloning and sequencing of the metallothioprotein β-lactamase II gene of *Bacillus cereus* 569/H in *Escherichia coli* . J. Bacteriol., 164: 223-229.
- **Ibezim, E. C.** (2005). Microbial resistance to antibiotcs. Afric. J. Biotechnol. 4 (13): 1606-1611.
- **Iroha**, **I. R.; Ezeifeka, G. O.; Amadei, E. S. and Umerzurike, C. R.** (2009). Occurance of extended spectrum beta lactamase producing resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in clinical isolates and associated risk factors. Res. J. Biol. Sci.; 4(5) :588-592.
- **Ishii, Y.; Ohno, A.; Taguchi, H.; Imajo, S.; Ishiguro, M. and Matsuzawa, H.** (1995). Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A β-lactamase isolated from *Escherichia coli* . Antimicrob. Agents Chemother., 39: 2269-2275.
- **Jacobs, M.R .; Aronoff, S. C.; Johenning, S.; Shlase, D. M. and Yamabe, S.** (1986). Comparative activities of the β-lactamase inhibitors YTR 830, clavulinate, and sulbactam combined with ampicillin and broad-spectrum penicillins against defined β-lactamase-producing aerobic gram-negative bacilli. Antimicrob. Agent Chemother., 29: 980-985.
- **Jacoby, G.** (2006). β-lactamases nomenclature. Antimicrob. Agents Chemother. 50: 1123-1129.
- **Jacoby, G. A. and Medeiros, A. A.** (1991). More extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob. Agent Chemother., 35: 1697-1704.
- **Jacoby, G. A. and Munoz-Price, L. S.** (2005). The new beta-lactamases**.** N Engl. J. Med., 352(4): 380-91.
- **Jacoby, G. A.** (1994). genetics of extended – spectrum β- lactamas Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Supplement **1**: 2-11.
- **Jacoby, G. and Bush, K.** (2005). Amino acid sequences for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitor resistant β lactamases. (www. Lahey. Org/ studies/ webt. htm).
- **Jacoby, J. A. and Bush, K.** (2009)."Amino acid sequences for extended-spectrum and inhibitor resistant ß- TEM, SHV and OXA lactamases.", from http://www.lahey.org/Studies/.

- **Japoni**, **A.; Farshad, S. and Alborzi, A.** (2009). *Pseudomonas aeruginosa*: burn infection, treatment and antibacterial resistance. Iranian Red Crescent. Med. J. IRCMJ, 11 (3): 244-253.
- **Jarlier, V.; Nicolas, M. H.; Fournier, G. and Philippon, A.** (1988). Extended spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. Rev. Infect. Dis. 10: 867-878.
- **Javiya, V.; Nicolas, M. H.; Fournier, G. and Philippon, A.** (1988). Antibiotic susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* at atertiary car hospital in Gujarat, India, Indian. J. Pharmacol., 40(5): 230-234.
- **Jawetz, E.; Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A.** (1998). Jawetz Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. 21st ed., Appleton and Lange, California, U.S.A.
- **Jiang, X.; Zhang, Z.; Li, M.; Zhou, D.; Ruan, F. and Lu, Y.** (2006). detection of extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of *pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agent Chemother. 50. P: 2990-2995.
- **John, C. C.; Smith, T. L.; Pearson, M. L. and Jarvis, W. R.** (1999). Vancomycin resistance in *Staphylococcus aureus*. *NEJM.* 341: 207-208.
- **Jones, R. N.; Pfaller, M. A.** (2002). Ciprofloxacin as broad – spectrum empiric therapy –are fluroquinolones still viable monotherapeutic agents compared with beta-lactams: data from the Mystic program (US). Diagn. Microbial. infect. 42: 213 – 215.
- **Jorgensen, J. H., Crawford, S. A. and Alexander, G. A.** (1982). Pyridine-2-azo-p-dimethylaniline chromophore, a new chromogenic cephalosporin for rapid beta-lactamase testing. Antimicrob. Agents Chemother. 22:162-164.
- **Julio, R. A.; Thilo, K.; Hiroshi, N. and Patrick, P.** (1999). Involvement of an active efflux system in the natural resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to aminoglycosides. Antimicrob agents chemother., 43(11): 2624-2628.
- **Kaczmarek, F. M., Dib-Hajj, F., Shang, W. and Gootz, T. D.** (2006). Highlevel carbapenem resistance in a *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate is due to the combination of *bla*Act-1 β-lactamase production, porin OmpK35/36 insertional inactivation, and downregulation of the phosphate transport porin PhoE. Antimicrob. Agents Chemother., 50(10): 3396–3406.
- **Kaczmarek, F. M.; Dib-Hajj, F.; Shang, W. and Gootz, T. D.** (2006). Highlevel carbapenem resistance in a Klebsiella pneumoniae clinical isolate is

due to the combination of blaACT-1 β-lactamase production, porin OmpK35/36 insertional inactivation, and downregulation of the phosphate transport porin PhoE. Antimicrob. Agents Chemother., 50 (10): 3396–3406.

- **Kahlmeter, G.** (2008). Breakpoints for intravenously used cephalosporins in *Enterobacteriaceae* -EUCAST and CLSI breakpoints. Clin Microbiol Infect., 14: 169-174.
- **Kalai, S.; Achour, W.;Abdeladhim, A.; Bejaoui, M. and Benttassen, A.** (2005). *Pseudomonas aeruginosa* isolated in immunocompromised patients: antimicrobial resistance, serotyping and molecular typing. Med. Mal. Infect. 35 (11): 530 – 535.
- **Karah, N.** (2008) Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance in Norwegian and Swedish clinical isolates of *Escherchia coli* and *Klebsiella* spp.
- **Kiffer, C.; Hsiung, A.; Oplustil, C.; Sampaio, J.; Sakagami, E.; Turner, p. and Mendes, C.** (2005). Antimicrobial susceptibility of Gram – negative bacteria in Brazilian hospitals: the MYSTIC program Brazil 2003. Braz. J. Infect. Dis. 9 (3): 216 – 224.
- **Kim, J.; Kwon, Y.; Pai, H.; Kim, J. W. and Cho, D. T.** (1998). Survey of *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases: prevalence of SHV-12 and SHV-2a in Korea. J. Clin. Microbiol., 36:1446–1449.
- **Kitzis, M. D.; Billot-Klein, D.; Goldstein, F. W.; Williamson, R.; Tran, V. N. G.; Carlet, J.; J. Acar, F. and Gutmann, L. (**1988). Dissemination of the novel plasmid-mediated β-lactamase CTX-1, which confers resistance to broad-spectrum cephalosporins, and its inhibition by β-lactamase inhibitors. Antimicrob. Agents Chemother., 32**:**9–14.
- **Kliebe, C.; Nies, B. A.; Meyer, J. F.; Tolxdorff-Neutzling, R. M. and Wiedemann, B.** (1985). Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins . Antimicrob. Agent Chemother., 28: 302-307.
- **Klimek, J. J.** (1985). Treatment of wound infections cutis., 15:21-24.
- **Knox, J. R.** (1995). Extended-spectrum and inhibitor-resistant TEM-type β-lactamases: Mutations, specificity, and three-dimensional structure . Antimicrob. Agent Chemother., 39: 2593-2601.
- **Koneman, E. W.; Allen, S. D. and Janda, W. M.** (1992). Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 4ed. J. B. Lippincott. Philadelphia, USA.

- **Koneman**, **E. W.; Allen, S. D.; Janda, W. M.; Schreckenberger, P. C. and Winn, W. C.** (1994). The enterobacteriaceae In: Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Philadelphia: JB. Lippincott; P.63.
- **Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Janda, W. M.; Schreckenberger, P. C. and Winn, W . C.** (1997). "Color Atlas and Textbook of Diagnostic Micro-biology" . 5th ed., Lippincott-Raven publisher, Philadelphia, U.S.A.
- **Lambert, O.; Michea-Hamzehpour, M.; Kohler, T.; Chau, F.; Fanrisson, F.; Dautrey, S. and Pechere, J.** (2001). Differential selection of multidrug efflux mutants by trovafloxacin and ciprofloxacin in an experimental model of Pseudomonas aeruginosa acutrtimice pneumoniae in rats. Antimicrobial Agents Chemother, 44:571-576.
- **Lamotte-Brasseur, J.; Knox, J. and Kelly, J. A.** (1994). The structure and catalytic mechanisms of active-site serine β-lactamases .Biotechnol. Genet. Eng. Rev., 12:189-230.
- **Lancini, G. and Parenti, F.** (1982). Antibiotics: an integrated view. New York: springer-verlag. 8 (39): 42-117.
- **Landman, D. and Quale, J.** (2002) . *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: pathogens of the millennium . Serious Hospital Infections, 14: 1-7.
- **Laurence, D. R. and Bennett, P. N.** (1990)." Clinical Pharmacology" .6th ed., Churchill Livingstone, England.
- **Lautenbach, E.; Strom, B. L.; Bilker, W. B.; Patel, J. B.; Edelstein, P.H.; and Fishman, N. O.** (2001). Epidemiological investigation of fluoroquinolone resistance in infections due to extended –spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae. Clin. Infec. Dis. 33:1288-1294.
- **Leblebicioglu, H.; Gunaydin, M.; Esen, S.; Tuncer, I.; Findik, D.; Oral, O.; Saltonslu, N.; Yaman, A.; Tasova, Y. and study group.** (2002). Surveillance of of antimicrobial among Gram-negative isolates from intensive care units in Turkey: analysis of data from the 5 years. J. Antimicrob. Chemother. 14: 140-146.
- **Lee, K.; Lim, C. H.; Cho, J. H.; Lee,W. G.; Uh,Y.; Kim, H. J.; Yong, D.; Chong, Y. and the KONSAR group.** (2006). High prevalence of ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and increase of imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* spp. in Korea: a KONSAR program in 2004. Yonsei Med. J. 47: 634-645.

- **Lee, K.; Lim, Y. S.; Yong, D.; Yum, D. H.; and Chong, Y.** (2003). Evaluation of the Hodge test and imipenem EDTA double disc synergy test for differentiating metallo β-lactamase producing isolates of *Pseudomonas* spp. and *Acinetobacter* spp. J. Clin. Microbiol., 41: 4623-4629.

- **Lemozy, J.; Sirot, D.; Chanal, C.; Hue, C.; Labia, R.; Dabernat, H. and Sirot, J.** (1995). First characterization of inhibitor-resistant TEM(IRT) β-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* strains . Antimicrob. Agent Chemother., 33: 2580-2582.
- **Lennette, E. H.; Balows, A.; Hausler, W. J. and Shadomy, H. J.** (1985). Manual of Clinical Microbiology. 4th ed., American Society for Microbiology, Washington, D. C.
- **Liu, C. P., Wang, N. Y., Lee, C. M., Weng, L. C., Tseng, H. K., Liu, C. W., Chiang, C. S. and Huang, F.Y.** (2004). Nosocomial and community acquired Enterobacter cloacae bloodstream infection: risk factors for and prevalence of SHV-12 in multi resistant isolates in a medical centre. J. Hosp. infect. 58, 63-77.

- **Livermore, D. M.** (1992a). Interplay of impermeability and chromosomal β-lactamase activity in imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* . Antimicrob. Agent Chemother., 36: 2046-2048.
- **Livermore, D. M.** (1995). β-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin. Microbiol. Rev., 8**:** 557–584.
- **Livermore, D. M.** (2001). Of *Pseudomonas,* porins, pumps and carbapenems. J. Antimicrob. Chemother. 47**:** 247–250.

- **Livermore, D. M.** (2002). Multiple Mechanisms of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Clin. Infect. Dis. 34 (5): 634-640.

- **Livermore, D. M. and Brown, D. F. J.** (2001). Detection of ß-lactamase-mediated resistance. J. Antimicrob. Chemother., 48: S59–64.

- **Livermore, D. M. and Brown. D. F. J.** (2005). "Detection of β-lactamase-mediated resistance." Retrieved 31.

- **Livermore, D. M. and Williams, J. D.** (1996). β- Lactams: mode of action bacterial resistance Antibiotics in Laboratory and mechanisms of References Medicine. Lorian. New York, Williams and Wilkins, Baltimore. 85: 502-78.

- **Livermore, D. M. and Woodford, N.** (2006). The β-lactamase threat in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter. Trends. Microbiol., 14: 413-420.

- **Livermore, D. M.; Canton, R.; Gniadkowski, M.; Nordmann, P.; Coque, G. M. M.; Kern-Zdanowicz, I.; Luzzaro, F.; Poirel, L.; Woodford, R. N.; Arlet, G. and Ayala, J. T.** (2007). "CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe." J. Antimicrob Chemother 59: 165-74.

- **Livermore, D. M. and Paterson, D. L.** (2006). Pocket guide to Extended-Spectrum β-Lactamases in Resistance. Current Medicine Group Ltd.; London.

- **Livermore, D. M. and Woodford, N.** (2006). "The beta-lactamase threat in Enterobacteriaceae, Pseudomonas and Acinetobacter." Trends. Microbiol. 14: 413-420.

- **Livermore, D. M.; Yuan, M.** (1996). Antibiotic resistance and production of Extended-spectrum β-lactamases amongst *Klebsiella* spp. From intensive care units in Europe. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 38**:** 409-424.
- **Llanes, R.; Gonzalez, M.; Martinez, I.; Sosa, J.; Guzman, D.; Gutierrez, O.; Liop, A. and Sanchez,L.** (2003). Evaluation of four methods for detecting the β-lactamase activity in *Neisseria gonorrhoeae* isolated in Cuba . Mem.Inst.Oswaldo.Cruz., Riode Janeiro, 98: 1089-1091.
- **Lopez-Yeste, M.; Xercavins, M.; Lite, J.; Cuchi, E. and Garan, J.** (1996). Fluoroquinolone and aminoglycosides resistance in chromosomal cephalosporenase – over producing in gram negative bacilli strains with inducible beta–Lactamase. Enferm. Infect. Microbiol. Clin. 14 (4): 211 – 214.

- **Lucet, J. C.; Decre, D.; Fichelle, A.; Joly-Guillou, M. L.; Pernet, M. and Deblangy, C.** (1999). Control of a prolonged outbreak of extended spectrum β–lactamase producing Enterobacteriaceae in a university hospital. Clin. Infect. Dis.; 29(6):1411-8.
- **Lupoli, T. J.; Tsukamoto, H.; Dond, E. H.; Wang, T. S.; Walker, S. and Khane, D.** (2011).Transpeptidase-mediated incorporation of d-amino acid into bacterial peptidoglycan . J. Am. Chem. Soc.

- **Luzzaro, F.; Docquier, J. D.; Colinon, C.; Endimiani, A.; Lombardi, G.; Amicosante, G.; Rossolini, G. M. and Toniolo, A.** (2004). Emergence in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* clinical isolates of the VIM-4 metallo-β-lactamase encoded by a conjugative plasmid . Antimicrob. Agent Chemother., 48: 648-650.
- **MacFaddin, J. F.** (2000). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA.

- **Machado, E.; Canto´n, R.; Baquero, F.; Gala´n, J.; Rolla´n, A.; Peixe, L.; and Coque, T. M.** (2005). Integron content of extended-spectrum-β- lactamase-producing Escherichia coli strains over 12 years in a single hospital in Madrid, Spain. Antimicrob. Agents Chemother., 49(5): 1823–1829.
- **Madigan, M. T. and Martinko, J. M.** (2006). Biology of the Microorganims. Pearson Prentice Hall, Upper Saddle River.
- **Malion, C. R. and Manuselis, G.** (1995). Textbook of Diagnostic Microbiology. W.B. Sanders company.
- **Mandell, C. R. and Manuselis, G.** (1995). Principles and practice of infection diseases. 4th ed. Churchill living stone London.
- **Mandell, G. L.; and Petri, W. A.** (1996). Antimicrobial agents (cont.) Penicillin, cephalosprins, and other β-lactam antibiotics. In: Godman and Gilmans the pharmacological basis of therapeutics 9th edition, eds. J. G. Hardman, Lee E. Limbird, McGraw Hill, New York, 1073-1101.
- **Maniatis, T.; Fritsch, E. F.; and Sambrook, J.** (1982). Molecular Cloning: A laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.
- **Marin and Gudiol, F.** (2003). Antibiotics beta-lactamase. Enferm. Infec Microbial Clin. 21:42-55.
- **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.
- **Martinez-Martinez, L. and Jacoby, G.A.** (1998). Quinolone resistance from a transferable plasmid. Lancet, 351: 797-9.
- **Martinez-Martinez, L.; Hernandez-Alles, S.; Albert, S.; Tomas, J.; Benedi, V. and Jacoby, G.** (1996). In vivo selection of porin-deficient mutants of *Klebsiella pneumoniae* with increased resistance to cefoxitin and expanded spectrum cephalosporins. Antimicrob. Agents Chemother., 40: 342-348.
- **Masaadeh, H. A. and Jaran, A. S.** (2009) Incident of *Pseudomonas aeruginosa* in post-operative wound infection. American. J. Infect. 5. (1):1-6.
- **Massidda, O.; Rossolini, G. M. and Satta, G.** (1991).The *Aeromonas hydrophila cphA* gene :Molecular heterogeneity among class B metallo-β-lactamases . J. Bacteriol., 173: 4611-4617.

- **Masuda, N.; Sakagawa, E.; Ohya, S.; Gotoh, N.; Tsujimato, H. and Nishino, T.** (2000). Contribution of MexX-MexY-OprM efflux system to intrinsic resistance in *Pseudomonas aeroginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. 46: 2242–2246.

- **Matagne, A.; Lamott-Brasseur, J. and Frere, J.** (1998). Catalytic properties of class A β-lactamases: Efficiency and diversity. Biochem. J.,330: 581-598.
- **Mathor, P.; Kapil, A. and Das, B.** (2005). Nosocomial bacterimia in intensive care unit patients of a tertiary care centre. Ind. J. Med. Res. 122: 305-308.
- **Matsumoto, Y. and Inoue, M.** (1999). Characterization of SFO-1, a plasmid-mediated inducible class A β-lactamase from *Enterobacter cloacae*. Antimicrob. Agent Chemother., 43: 307-313.
- **Matthew, M.; Harris, A.M.; Marchall, M.J. and Ross, G.W.** (1975). The use of analytical isoelectric focusing for detection and identification of β-lactamases .J.Gen. Microbiol., 88:169-178.
- **Mavroidi, A.; Tsakris, A.; Tzelepi, E.; Pournaras, S.; Loukova, V. and Tzouvelekis, L.S.** (2000). Carbapenem-hydrolysing VIM-2 metallo-beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* from Greece. J. Antimicrob Chemother., 46(6):1041-1042.
- **Mayhall, G. G.** (1993). Surgical infections including burns. In preventation and control of nosocomial infection by Wenzel, R.P., 2nd edition .
- **McCarthy, L. R.** (1980). β-lactamases. Clin. Microbiol. Newsl. 2 (2): 1-3. G.K. Hall and Co., Boston.
- **McDougal, L. K. and Thornsberry, C.** (1986). The role of ß-lactamase in staphylococcal resistance to penicillinase-resistant penicillins and cephalosporins. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 23: 832-839.
- **Medeiros, A. A.** (1997). Evolution and dissemination of beta – lactamases accelerated by generations of beta – lactam antibiotics. Clin. Infect. Dis. 24 (s): 19–45.

- **Mendonca, N.; Leita˜o, J.; Manageiro, V.; Ferreira, E.; The antimicrobial resistance surveillance program in portugal, and manuela canic.** (2007). Spread of extended-spectrum β-lactamase CTX-Mproducing Escherichia coli clinical isolates in community and nosocomial environments in Portugal. Antimicrob. Agents Chemother., 51(6):1946–1955.

- **Menon, T. h.; Shanmugasundaram, S.; Kumar, M. P.; Kumar, C. P.** (2004). Group A Streptococcal infections of the pharynx in a rural population in south India. Ind. J. Med. Res., 119: 171-173.
- **Merchant, I. A. and Packer, R. A.** (1967). Veterinary Bacteriology and Virology. 7th ed. The Iowa State University Press, Ames, Iowa, U.S.A., pp. 273 – 277.
- **Meyer, K. S.; Urban, C.; Eagan, J. A.; Berger, B. J. and Rahal, J. J.** (1993). Nosocomial outbreak of *Klebsiella* infection resistant to late generation cephalosporins. Ann. Intern. Med., 119**:** 353–358.
- **Mims, C. A., Dockrell, H. M.; Goering, R. V.; Roitt, I; Wakelin, D. and Zuckerman, M**. (2004). Medical Microbiology. 3rd ed. Mosbey of Elsevier Limited.
- **Minami, S.; Arak, H.; Yasuda, T.; Akama, M.; Iyobe, S. and Mitsuhashi, S.** (1993). High-level imipenem resistance associated with imipenem-hydrolyzing β-lactamase production and outer membrane alteration in a clinical isolate *Pseudomonas aeruginosa* . Int. J. Exp. Clin. Chemother., 6: 21-28.
- **Miriagou, V.; Tzelepi, E.; Gianneli, D. and Tzouvelekis, L. S.** (2003) . *Escherichia coli* with a self-transferable ,multiresistant plasmid coding for metallo-β-lactamase VIM-1 . Antimicrob. Agents Chemother., 47: 395-397.
- **Miró, E.; Rivera, A. and Mesa, R.** (2004). Elis β-lactamics, p. 91-106. In J. Ruiz edition, Antimicrobians. Societat Catalana de Biologia, Barcelona.
- **Moffet, H. L.** (1980). Clinical Microbiology. 2nd ed., J. B. Lippincott Company, U.S.A.
- **Moland, E. S. and K. S. Thomson.** (1994). Extended-spectrum β-lactamases of Enterobacteriaceae. J. Antimicrob. Chemother., 33**:** 666–668.
- **Moland, E. S.; Hanson, N. D.; Black, J. A.; Hossain, A.; Song, W. and Thomson, K. S.** (2006) .(Prevalence of newer β-lactamases in Gram-negative clinical isolates collected in the United States from 2001 to2002. J. Clin. Microbiol. 44(9):3318-24.
- **Moland, E. S.; Sanders, C. C. and Thomson, K. S.** (1998). Can results obtained with commercially available microscan microdilution panels serve as an indicator of β-lactamase production among *Escherichia coli* and *Klebsiella* isolates with hidden resistance to expanded-spectrum cephalosporins and aztreonam . J. Clin. Microbiol., 36: 2575-2579.

- **Montgomery, K., L. Raymundo, Jr., and W.L. Drew.** (1979). Chromogenic cephalosporin spot test to detect betalactamases in clinically significant bacteria. J. Clin. Microbiol. 9:205-207.
- **Moya, B.; Zamorano, L.; Juan, C.; Perez, J. L.; Ge, Y. and Oliver, A.** (2010). Activity of a New Cephalosporin, CXA-101 (FR264205), against {beta}-lactam-resistant pseudomonas aeruginosa mutants selected in vitro and after antipseudomonal treatment of intensive care unit patients. Antimicrob. Agents Chemother. 54: 1213-1217.
- **Mugnier, P.; Casin, I.; Bouthers, A.T. and Collatz, E.** (1998). Novel OXA-10-derived extended-spectrum β-lactamases selected in vivo or in vitro. Antimicrob. Agents Chemother., 43: 3113-3116.
- **Murray, P. R.; Baron, E.; Pfaller, M. A.; Tenover, F. C. and Yolken, R. H.** (1999). Manual of clinical microbiology. 7 th ed. Asmpress. Washington. U.S.A.
- **Murray, P. R.; Rosenthal, K. S.; Kobayashi, G. S.; Pfaller, M. A.** (2002). Medical Microbiology, fourth edition, Mosby, USA.
- **Naas, T.; Sougakoff, W.; Casetta, A. and Nordmann, P.** (1998). Molecular characterization of OXA-20, a novel class D β-lactamase, and its integron from *Pseudomonas aeruginosa* . Antimicrob. Agents Chemother., 42: 2074-2083.
- **National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS).** (2003c). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard, 6th ed. M7-6A. NCCLS, Wayne. Pa.
- **National Committee for Clinical Laboratory Standards, (NCCLS)**. (2004). "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing;14th Informational Supplement". M100-S14 ,Vol.24 ,No.1 ,NCCLS, Wayne, PA , U.S.A.
- **National Committee for Clinical Laboratory Standards.** (2003b) Performance standards for antimicrobial susceptibility tests, 8th ed. Approved standard M 2-A8. NCCLS, Wayne, Pa.
- **National Committee for Clinical Laboratory Standards, (NCCLS).** (2003a) Performance standards for disk susceptibility testing; approved standard M 100-S13. NCCLS, Wayne, Pa.
- **Navon-Venezia, S.; Leavitt, A.; Ben-Ami, R.; Aharoni, Y.; Schwaber, M. J. Schwartz, D.** (2005). Evaluation of an accelerated protocol for detection of

extended-spectrum β-lactamase-producing Gram-negative bacilli from positive blood cultures. J. Clin. Microbiol., 43(1): 439-441.

- **Neelam**, **T.; Pooja, R.; Jitender, A. and Ashok D.** (2008). Occurrence of ESBL and AmpC β-lactamases and susceptibility to newer antimicrobial agents in complicated UTI. Indian J. Med. Res. 127, pp 85-88.
- **Nicholas, T. M.** (2002). Nosocomial infection in Auckland heath care hospitals. N. Z. Med. J. 11(1050):314-316.
- **Nicholas-Chanoine, M. H.** (1997). Inhibitor-resistant β-lactamases. J. Anti-microb. Chemother., 40: 1-4.
- **Nikaido, H.** (1996). Multidrug efflux pumps of gram – negative bacteria. J. Bacteriol. 178: 5853 – 5859.
- **Nikaido, H.** (2003). Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited . Microb.Mol.Biol.Rev.,67: 593-656
- **O'Callaghan, C. H.; Morris, A.; Kirby, S. M. and Shingler, A. H.** (1972). Novel method for detection of β-lactamases using Chromogenic cephalosporin substrate. Antimicrob. Agents Chemother.,1: 283-288.
- **Olson, A. B.; Silverman, M.; Boyd, D. A.; McGeer, A.; Willey, B. M.; Pong-Porter, V.; Daneman, N. and Mulvey, M. R.** (2005). Identification of a Progenitor of the CTX-M-9 Group of Extended-Spectrum □- Lactamases from Kluyvera georgiana Isolated in Guyana. Antimicrob. Agents Chemother 49: 2112-2115.
- **O'neill, E.; Humphreys, H.; Phillips, J. and Smyth, E. G.** (2006). Third – generation cephalosporins resistance among gram negative bacilli causing meningitis in neurosurgical patients: Significant challenges in ensuring effective antibiotic therapy. J. Antimicrob. Chemother. 57 (2): 356 – 359.
- **Osano, E.; Arakawa, Y.; Wacharotayankun, R.; Ohta, M.; Horii, T.; Ito, H.; Yoshimura, F. and Kato, N.** (1994). Molecular characterization of an enterobacterial metallo-β-lactamase found in a clinical isolate of *Serratia marcescens* that shows imipenem resistance . Antimicrob. Agent Chemother., 38: 71-78.
- **Pagani, L.; Perilli, M.; Migliavacca, R.; Luzzaro, F. and Amicosante, G.** (2000). Extended-spectrum TEM- and SHV-type β-lactamase-producing *Klibsiella pneumoniae* strains causing outbreaks in intensive care units in Italy. Eur. J. Clin. Microbiol. Infec. Dis. 19:765-772.

- **Paltzkill, T.; Thomson, K. S.; Sanders, C. C.; Moland, E. S.; Huang, W. and Milligan, T. W.** (1995). New variant of TEM-10 β-lactamase gene produced by clinical isolate of *Proteus mirabilis* . Antimicrob. Agents Chemother.,39: 1199-1200.
- **Patel, G. and Bonomo, R. A.** (2011). Status report on carbapenemases : challenges and prospects. Department of Medicine, Mount Sinai School of Medicine,NewYork,USA.
- **Patel, M.; Waites, K. B.; Moser, S. A.; Cloud, G. A. and Hoesley, C. J.** (2006). Prevalence of inducible clindamycin resistance among community-and hospital-associated *Staphylococcus aureus* isolates. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.44: 2481-2484.
- **Paterson, D. L. and Bonomo, R. A.** (2005). Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. Clin. Microbiol. Rev. 18 : 657-686.
- **Paterson, D. L.; Hujer, K. M.; Hujer, A. M.; Yeiser, B.; Bonomo, M. D.; Rice, L. B.; Bonomo, R. A. and the International *Klebsiella* Study Group.** (2003). Extended-spectrum β-lactamases in *Klebsiella pneumoniae* blood-stream isolates from seven contries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type β-lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 3554-3560.
- **Paterson, D. L.; Ko, W.; Gottberg, A. V.; Casellas, J. M.; Mulazimoglu, L.; Klugman, K. P.; Bonomo, R. A.; Rice, L. B.; Mccormack, J. G. and Yu, V. L.** (2001). Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. J. Clin. Microbiol. 39(6): . 2206-2212.
- **Paterson, D.L. and Yu, V.L.** (1999). Extended-spectrum β-lactamases: a call for improved detection and control . Clin. Infect. Dis.,29: 1419-1422.
- **Paterson, D.L.** (2006). Resistance in Gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. Am. J. Med. 119: S20-S28.
- **Paul, G.C.; Gerbaud, G.; Bure, A.; Philippon, A.M.; Pangon, B. and Courvalin, P.** (1989). TEM-4, a new plasmid-mediated β-lactamase that hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins in a clinical isolate of *Escherichia coli* . Antimicrob. Agents Chemother., 33: 1958-1963
- **Pearson, J.; Turnidge, J.; Franklin, C.; Bell, J. and the Australian Group on Antimicrobial Resistance.** (2007). Prevalence of antimicrobial resistances in common pathogenic Enterobacteriaceae in Australia, 2004: report from the Australian group on Antimicrob Res., CDI, 31 (1): 106-112.

Perilli, M.; Segatore, B.; Massis, M. R.; Riccio, M. L.; Bianchi, C.; Zollo, A.; Rossolini, G. M. and Amicosante, G. (2000). TEM-72, a new extended-spectrum β-lactamase detected in *Proteus mirabilis* in Italy. Antimicrob. Agents Chemother., 44: 2537-2539.

- **Perret , G. J.** (1954).Iodometric assay of penicillinase. Nature, 174 (4439):1012-1013.
- **Perry, C.M. and Scott, L. J.** (2004). Cefdinir: a review of its use in the management of mild-to-moderate bacterial infections. Drugs, 64: 1433-1464.
- **Petit, A.; Stougaard, J.; Kuhle, A.; Marcker, K. A. and Tempe, J.** (1987) . Transformation and regeneration of legume Lotus corniculatus:A system for molecular studies of symbiotic nitrogen fixation. Mol. Gen. Genet., 207:245-250.
- **Pfaller, M.A. and Segreti, J.** (2006). Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum β-lactamases. Clin Infect Dis., 42: S153-S163.
- **Philippon, A.; Arlet. and Lagrange, P. H.** (2002). Orgin and imact of plasmid-mediated extended -spectrum β-lactamases. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 13: S17-S19.
- **Philippon, A.; Labia, R.; and Jacoby, G. A. (**1989). Extended-spectrum β-lactamases. Antimicrob. Agents Chemother., 33**:** 1131–1136.
- **Philippon, A.; Naas, T.; Bouthors, A.T.; Barakett, V. and Nordmann, P.** (1997). OXA-18, a class D clavulinic acid-inhibited extended-spectrum β-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* . Antimicrob. Agent Chemother., 41: 2188-2195.
- **Phillips, I.** (1976). β-lactamase producing, penicillin-resistant gonococcus . Lancet, II: 656-657.
- **Picao, R. C.; Poirel, L.; Gales, A. C.; Nordmann, P.** (2009). Further Identification of CTX-M-2 Extended-Spectrum beta-Lactamase in Pseudomonas aeruginosa. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53: 2225-2226.
- **Piddock , L. J. V.; Walters, R. N.; Jin. Y. F.; Turner, H. L.; Gascoyne-Binzi, D. M. and Hawkey, P. M.** (1997). Prevalence and mechanism of resistance to third- generation cephalosporins in clinically relevant isolates of Enterobacteriaceae from 43 hospitals in the UK, 1990-1991. J. Antimicrob. Chemother, 39: 177-187.
- **Pitton**, **J. S.** (1972). Mechanism of bacterial resistance to antibiotics. Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol. 65: 15-93.

- **Plowman, R. M; Graves, N. And Roberts, J. A.** (1997). Hospital acquired infection, London, office of health economics.
- **Podschun, R. and Ullmann, U.** (1998). Klebsiella spp. as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin. Microbiol. Rev., 11 (4): 589–603.
- **Podschun, R.; Heineken, P.; Ullmann, U. and Sonntag, H. G.** (1986). Comparative investigations of *Klebsiella* species of clinical origin: plasmid patterns, biochemical reactions, antibiotic resistances and serotypes. Zentbl. Bakteriol. Mikrobiol. Hyg. Ser. A 262:335–345.
- **Poirel, L.; Docquier, J-D.; De Luca, F.; Verlinde, A.; Ide, L.; Rossolini, G. M. and Nordmann, P.** (2010). BEL-2, an Extended-Spectrum beta-Lactamase with Increased Activity toward Expanded-Spectrum Cephalosporins in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob. Agents Chemother. 54: 533-535.
- **Poirel, L.; Girlich, D.; Naas, T. and Nordmann, P.** (2001). OXA-28, an extended-spectrum variant of OXA-10 β-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* and its plasmid-integron-located gene. Antimicrob. Agents Chemother.,45: 447-453.
- **Poirel, L.; Heritier, C.; Tolun, V. and Nordmann, P.** (2004). Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. 48: 15-22.
- **Poirel, L.; Thomas, I. Le.; Naas, T.; Karim, A. and Nordmann, P.** (2000). Biochemical sequence analyses of GES-1, a novel class A extended-spectrum beta-lactamase, and the class 1 integron In52 from *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother. 44**:** 622-632.
- **Pongpech, P.; Naenna, P.; Taipobsakul, Y.; Tribuddharat, C. and Srifuengfung, S.** (2008). Prevalence of extended-spectrum betalactamases and class 1 integron integrase gene *inti1* in *Escherichia coli* from the patients and healthy adults. Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health. 39(3).
- **Poole, K.** (2004). Resistance to ß-lactam antibiotics. Cell. Mol. Life. Sci., 61: 2200–23.
- **Pospiech, T. and Neumann, J.** (1995). In genomic DNA isolation T. Kieser eds. John Innes center. Norwich. NR4 7UH. U.K.
- **Potz, N. A. C.; Hope, R.; Warner, M.; Johnson, A. P.; Livermore, D. M.; L. on behalf of the and E.P.G. South East.** (2006). Prevalence and mechanisms of cephalosporin resistance in Enterobacteriaceae in London and South-East England. J Antimicrob Chemother., 58: 320-326.

- **Poupart, M. C.; Chnal, C.; Sirot, D.; Labia, R. and Sirot, J.** (1991). Identification of CTX-2, a novel cefotaximase from a *Salmonella mbandaka* isolate . Antimicrob. Agents Chemother., 35: 1498-1500.
- **Powers, R. A. and Shoichet, B. K.** (2002). An ultrahigh resolution structure of TEM-1 beta lactamase suggests a role for glu 166 as the general base in acylation. J. Am Chem. Soc. 124 (19): 5333-5340.
- **Prescott, L. M.; Harley, J. P. and Klein, D. A.** (1996)." Microbiology". 3rd ed., Wm.C. Brown Communication, Inc., Iowa, U.S.A.
- **Qin, X.; Weissman, S. J.; Chesnut, M. E.; Zhang, B. and Shen, L.** (2004). Kirby-Bauer disc approximation to detect inducible third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacteriaceae*. Ann.Clin.Microbiol. Antimicrob., 3:13-18.
- **Queenan, A. M. and Bush, K.** (2007). "Carbapenemases: the Versatile -Lactamases." Clin. Microbiol. Rev 20: 440-458.
- **Rabin, E. R.; Graber, C. D.; Vogel, E. H.; Finkelstein, R. A. and Tumbusch, W. A.** (1961). Fatal Pseudomonas infection in burned patients. Journal of Medicine, 265(25): 1225-1231.
- **Rasheed, J. K.; Anderson, G. J.; Queenan, A. M.; Biddle, J. W.; Oliver, A.; Jacoby, G. A.; Bush, K. and Tenover, F. C.** (2002). TEM-71, a novel plasmid-encoded, extended-spectrum β-lactamase produced by clinical isolate of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob. Agents Chemother., 46: 2000-2003.
- **Rasheed, J. K.; Jay, C.; Metchock, B.; Berkowitz, F.; Weigel, L.; Crellin, J.; Steward, C.; Hill, B.; Medeiros, A. A. and Tenover, F. C.** (1997). Evolution of extended-spectrum β-lactam resistance (SHV-8) in a strain of Escherichia coli during multiple episodes of bacteremia . Antimicrob.Agents Chemother.,41: 647-653.
- **Raskine, L.; Borrel, I.; Barnaud, G.; Boyer, S.; Bercot, B.; Gravisse, J.; Labia, R.; Arlet, G. and Le-Pors, M. S.** (2002). Novel plasmid-encoded class C β-lactamase (MOX-2) in *Klebsiella pneumoniae* from Greece . Antimicrob.Agents Chemother., 46: 2262-2265.
- **Reading, C. and Cole, M.** (1977). Clavulanic acid, a β-lactamase inhibiting b-lactam from Streptomyces clavuligerus. Antimicrob. Agent Chemother. 11: 852-857.
- **Riccio, M. L.; Docquier, J. D.; Dell'Amico, E.; Luzzaro, F.; Amicosante, G. and Rossolini, G. M.** (2003) . Novel 3-N-aminoglycoside acetyltransferase gene,

aac(*3*)-*Ic*, from a *Pseudomonas aeruginosa* integron. Antimicrob. Agents Chemother., 47: 1746-1748.

- **Riccio, M. L.; Docquier, J. D.; Dell'Amico, E.; Luzzaro, F.; Amicosante, G. and Rossolini, G.M.** (2003) . Novel 3-N-aminoglycoside acetyltransferase gene, aac(*3*)-*Ic*, from a *Pseudomonas aeruginosa* integron. Antimicrob. Agents Chemother., 47: 1746-1748.
- **Rice, L. B. and Bonomo, R. A.** (2000). Beta-lactamases: which ones are clinically important. Drug Res. Update. 3: 178-189.
- **Richmond, M. H.** (1979). β-lactam antibiotics and β-lactamases: two sides of a continuing story. Rev. Inf. Dis. 1:30-36.
- **Richmond, M. H. and Sykes, R. B.** (1973). The β-lactamases of Gram negative bacteria and their possible physiological role. Adv. Microb. Physiol., 9: 31–88.
- **Roy, M. C. and Perl, T. M.** (2002). Basics of surgical-site infections Surveilline. Infec. Control. Hosp-Epidermal. 18(9):659-68.
- **Rupp , M. E. and Fey, P. D.** (2003). Extended spectrum β-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae considerations for diagnosis, prevention and drug treatment. Drugs. 63: 353-365.
- **Ryan, K. J. and Ray, C. G.** (2004). sherris medical microbiology 4th ed. McGraw-Hill-NewYork. S5-9.
- **Rybak, M. J. and Laplante, K. L.** (2005). Community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* a review. Pharmacotherapy. 25 (1): 74-85.
- **Rychlik, W.** (1990). Optimization of the annealing temperature for DNA amplification in vitro. Nucl. Acids. Res. 18: 6409-6412.
- **Sabate, M.; Tarragó, R.; Navarro, F.; Miró, E.; Vergés, C.; Barbé, J. and Prats, G.** (2000). Cloning and sequence of the gene encoding a novel cefotaxime-hydrolyzing β-lactamase (CTX-M-9) from *Escherichia coli* in Spain . Antimicrob. Agent Chemother., 44: 1970-1973.
- **Salimi, S.; Owlia, P.; Yakhchali, B. and Rastegar, L. A.** (2009). Drug Susceptibility and Molecular Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated in a Burn Unit. American. J. Infect. Dis. 5 (4): 308-313.
- **Samaha-Kfoury, J. N. and Araj, G. F.** (2003). Recent developments in β-lactamases and extended-spectrum β-lactamases. B. M. J. 327: 1209-1213.

- **Sambrook, J. and Rusell, D. W.** (2001). Molecular cloning. A laboratory manual. Third ed. Cold Spring Harbor (NY): Cold Spring Harbor Laboratory Press, N.Y.
- **Sambrook, J.; Fritsch, E. F. and Maniatis. T.** (1989). Molecular Cloning: A laboratory Manual, 2nd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y.
- **Sanders, C. C; Barry, A. L.; Washington, J. A.; Shubert, C.; Moland, E. S.; Traczewski, M. M.; Knapp, C. and Mulder, R.** (1996). Detection of extended-spectrum-β-lactamase-producing members of the family *Enterobacteriaceae* with the Vitek ESBL test . J. Clin. Microbiol., 34: 2997-3001.
- **Schaechter, M.; Engleberg, N. C.; Eisenstein, B. I. and Medoff, G.** (1999). "Mechanisms of Michrobial Disease". 3rd ed., Lippincott Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland, USA., pp. 199-204.
- **Schaefner, W**. (1996) Prevention and control of hospital acquired infection. In:"Cecitext book of medicine". 20th ed. Vol.2, (Bennett,J. C.; plum, F.) W.B. Saunders co. Philadelphia P 1548-1553.
- **Schiappa, D. A., Hayden, M. K.; Matushek, M. G.; Hashemi, F. N.; Sullivan, J.; Smith, K. Y.; Miyashiro, D.; Quinn, J. P.; Weinstein, R. A. and Trenholme, G. M. (**1996). Ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* bloodstream infection: a case-control and molecular epidemiologic investigation. J. Infect. Dis., 174**:** 529–536.
- **Shahcheraghi, F.; Nikbin, V.S. and Feizabadi, M. M.** (2009). Prevalence of ESBLs genes among multidrug-resistant isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from patients in Tehran. Microb. Drug. Resist., 15 (1): 37-39.
- **Shahid, M. and Abida, M.** (2005). Resistance due to aminoglycoside modifying enzymes in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burns patients. Ind. J. Med. Res. 122: 324 – 329.
- **Shahid, M.; Malik, A. and Sheeba.** (2003). Multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa strains harbouring R-Plasmids and AmpC -lactamases isolated from hospitalised burn patients in a tertiary care hospital of North India. FEMS. Microbiol. Lett., 228(2):181-186.
- **Shahid, M.; Malik, A.; Agrawal, M. and Singhal, S.** (2004). Phenotypic detection of extended spectrum and AmpC β-lactamases by a new spot-inoculation method and modified three-dimensional extract test: comparison

with the conventional three-dimensional extract test. J. Antimicrob. Chemother. 54: 684-687.

- **Siu, L. K.; LU, P. L.; Hsueh, P. R.; Lin, F. M.; Cang, S. C. Luh, K. T.; Ho, M.; and Lee, C. Y. J.** (1999). Bacteremia due to extended-spectrum b-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric oncology ward: clinical features and identification of different plasmids carrying both SHV-5 and TEM-1 Genes. J. Clin. Microbiol. 37: 4020-4027.
- **Skinner, A., and R. Wise.** (1977). A comparison of three rapid methods of β−lactamase activity in Haemophilus influenzae. J. Clin. Pathol. 30:1030-1032.
- **Sougakoff, W.; Goussard, S. and Courvalin, P.** (1988). The TEM-3 β-lactamase, which hydrolyzes broad-spectrum cephalosporins, is derived from the TEM-2 penicillinase by two amino acid substitutions. FEMS Microbiol. Lett., 56: 343-348
- **Spratt, B. G.** (1994). Resistance to antibiotics mediated by target modification . Science, 264: 388-393.
- **Steward, C. D.; Rasheed, J. K.; Hubert, S. K. *etal*.** (2001). Characterization of clinical isolates of *Klebsiella penumoniae* from 19 laboratories using the National Committee for Clinical Laboratory Standards extended-spectrum beta-lactamase detection methods. J. Clin. Microbiol. 39: 2864-2872.
- **Straus, D. C.; Atkisson, D. L. and Garner, C. W.** (1985). Importance of a lipopolysaccharide-containing extracellular toxic complex in infections caused by *Klebsiella pneumoniae*. Infect. Immun., 50: 787-795.
- **Stukus, P. E. (1997). Investigating microbiology. Harcout Brace and Companies.**
- **Svärd, L.** (2007). Evaluation of phenotypic and genotypic extended-spectrum beta-lactamase detection method. MSc. thesis, School of biological sciences, Dublin institute of technology. Uppsala University.
- **Sykes, R. B. and Matthew, M.** (1976). The β-lactamases of Gram-negative bacteria and their role in resistance to β-lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother. 2**:**115–157.
- **Talaro, K. P. and Talaro, A.** (1999). Foundations in Microbiology. 3rd ed., McGraw–Hill Companies, Inc., U. S. A.
- **Tan, D. T.; Lee, C. p. and Lim, A. S.** (1995). Corneal Ulcers in Two Institutions in Singapore: Analysis of Causative Factors, Organisms and Antibiotic Resistance. Annals of Academy of medicine Singapore. 24 (6): 823 – 829.

- **Tan, T. Y.; Yong N. g; L. S.; He, J.; Koh, T. H. and Hsu, L. Y.** (٢٠٠٩). Evaluation of screening methods to detect plasmid-mediated AmpC in Escherichia coli, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* . Antimicrob. Agents Chemoth., 53(1): 146-149.
- **Taneja, J.; Malik, A.; Malik, A.; Rizvi, M. and Agarwal, M.** (2009). Acute lower respiratory tract infections in children Indian pediatrics, JN Marg, India. E-mail: drjuhitaneja@gmail.com.
- **Tasl, H. and Bahar, H.** (2005). Molecular characterization of TEM- and SHV-derived extended spectrum β-lactamases in hospital-based Enterobacteriaceae in Turkey. Jpn. J. Infect. Dis. 58: 162-167.
- **Tenover, F. C.; Mohammed, J. M.; Gorton, T. and Dembek, Z. F.** (1999). Detection and reporting of organisms producing extended-spectrum β-lactamases: survey of laboratories in Connecticut. J. Clin. Microbiol., 37**:** 4065–4070.
- **Tenover, F. C.** (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria, Am. J. Med., 119: 3–10.
- **Tenover, F. C.; Mohammed, M. J.; Stelling, J.; O'Brien, T. and Williams, R.** (2001).Ability of laboratories to detect emerging antimicrobial resistance: proficiency testing and quality control results from the world health organization's assurance system for antimicrobial susceptibility testing. J. Clin. Microbiol., 39: 241-250.

  Tessier, F.; Arpin, C.; Allery, A. and Quentin, C. (1998).Molecular characteriz-ation of a TEM-21 β-lactamase in a clinical isolate of *Morganella morganii*. Antimicrob. Agents Chemother.,42: 2125-2127.
- **Thornsberry, C.; Gavan, T. L.; and Gerlach, E. H.** (1977). Cumitech 6, New developments in antimicrobial agent susceptibility testing. Coordinating ed., J.C. Sherris. American Society for Microbiology.
- **Todar, K.** (2008). *Pseudomonas aeruginosa*. University of Wisconsin-Madison, Department of Bacteriology.
- **Tofteland, S.; Haldorsen, B.; Dahi, K. H.; Simmonesn, S. G.; Steinbakk, M.; Walsh, R. T.; Sundsfjord, A. and Norwegian ESBL Study Group.** (2007). Effects of phenotype and genotype on methods for detection of extended spectrum β-lactamase-producing clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Norway. J. of Clin. Microbiol. **45** (1)**:** 199-205.

- **Trengove, N. J.; Stacey, M. C.; Mcgechie, D. F. and Mataos.** (1996). Qualitative bacteriology and legulcer healing. J.wound. care., 5:277-280.

- **Tsakris, P. A. S.; Woodford, N.; Palepou, M. F.; Babini, G. S.; Douboyas, J. and Livermore. D. M.** (2000). Outbreak of infections caused by *pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1 carbapenemase in Greece. J. Clin. Microbiol. **38:** 1290-1292.

- **Turnridge, J.** (1995). Epidemiology of quinolone resistance. Eastern hemisphere. Drugs. 49: 43 – 47.

- **Tzouvelekis, L. S. and Bonomo, R. A.** (1999). SHV- type β-lactamases. Curr. Pharm. Des., 5: 847–864.
- **Tzouvelekis, L. S.; Tzelepi, E.; Tassios, P. T. and Legakis, N. J.** (2000). CTX-M-type β-lactamases: an emerging group of extended-spectrum enzymes. Int. J. Antimicrob Agents 14: 137-142.
- **Van Elder, J.** (1999). *Pseudomonas aeruginosa* in a nosocomial infection. A survey of resistance in Belgian hospital. J. Antimicrob. Chemother. 51 (2): 347 – 352.

- **Varaiya, A.; Kulkarni, K.; Kulkarni, M.; Bhalekar, P. and Dogra, J.** (2007) Incidence of metallo beta lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* in ICU patients. Department of Microbiology, S. L. Raheja Hospital, Mumbai, India.

- **Veena, K.; Nagarathna, H. B.S. and Chandramuki, A.** (2007). Antimicrobial Resistance Pattern Among Aerobic Gram-negative Bacilli of Lower Respiratory Tract Specimens of Intensive Care Unit Patients in a Neurocentre. Ind. J. Chest. Dis. Allied. Sci., *49*: 19-22.
- **Vella, P.; Hussein, W. M.; Leung, E. W.; Clayton, D.; Ollis, D. L; Mitic, N.; Schenk, G. and McGeary, R. P. (**2011). The identification of new metallo-β-lactamaseinhibitor leads from fragment –based screening . School of Chemistry and Molecular Bioscience, Brisbane.

- **Venkatachalam, K. V.; Huang, W.; LaRocco, M. and Palzkill, T.** (1994). Characterization of TEM-1 β-lactamase mutants from positions 238 to 241 with increased catalytic efficiency for ceftazidime. J.Biol. Chem.,269: 23444-23450.
- **Vinod, K. C. S. and Neelagund, Y. F.** (2004). Extended spectrum β-lactamase mediated resistance to third generation cephalosporins among *Klebsiella pneumoniae* in neonatal septicemia .Ind. Ped., 41: 97-99.

- **Wachino, J.; Doi, Y. and Yamane, K.** (2004). Nosocomial spread of ceftazidimeresistant Klebsiella pneumoniae strains producing a novel class A blactamase, GES-3, in a neonatal intensive care unit in Japan. Antimicrob Agents Chemother., 48: 1960–1967.
- **Waldvogel, F. A.** (1990). *Staphylococcus aureus* (including toxic shock syndrome). Principles and practice of infection disease, ed3. N.Y. 1: 1489-1510.
- **Waley, S. G.** (1992). ß-lactamases mechanism of action, p. 198-228. In M. I. Page (ed.), The chemistry of ß-lactams. A and P. Blackie, London
- **Walsh, C.** (2000). Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. Nature., 406: 775-781.
- **Walsh, C.** (2003). Antibiotics actions, origins, resistance. ASM Press, Washington D.C.
- **Walther-Rasmussen, J. and Hoiby, N.** (2006). OXA-type carbapenemases. J. Antimicrob. Chemother., 57: 373-83.
- **Walther-Rasmussen, J. and N. Hoiby** (2004). "Cefotaximases (CTX-M-ases), an expanding family of extended-spectrum b-lactamases." Can J. Microbiol 50: 137-65.
- **Weldhagen, G. F.** (2004). "Integrons and blactamases- a novel perspective on resistance." Intra-pleural pressure. J. Antimicrob. Agents. 23: 556-562.
- **Weldhagen, G. F.; L. Poirel, and P. Nordmann.** (2003). Ambler class A extended-spectrum ß-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. Antimicrob. Agents Chemother. 47**:** 2385-2392.
- **Weldhagen, G. F.; Poirel, L. and Nordmann, P.** (2003). Ambler class A extended- spectrum beta-lactamases in Pseudomonas aeruginosa: novel developments and clinical impact. Antimicrob. Agents Chemother. 47: 2385-2392.
- **Wells, J. S.; Hunter, J. C. and Astle, G. L.** (1982). Distribution of β-lactam and β-lactone producing bacteria in nature . J. Antibiotics, 35: 814-821.
- **West, P.W.** (2000). extended-spectrum β-lactamases-producing *Klebsiella* spp. Br. J. Biomed Sci. **5** (3): 226-33.
- **Wiedmann, B.; Kliebe, C. and Kresken, M.** (1989). The epidemiology of β-lactamases. J. Antimicrob. Agents Chemother. 24 (Suppl B):1-22.

- **Wiener, J.; Quinn, J.P.; and Bradford, P.A.** (1999). Multiple antibiotic resistant *Klebsiella* and *Escherichia coli* in nursing homes. JAMA, 281: 517-523.
- **Woodford, N., Fagan, E. J. and Ellington, M. J.** (2006). Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding CTX-M extended-spectrum *ß*-lactamases. J. Antimicrob. Chemother., 57: 154–155.
- **Woodford, N., Ward, M. E.; Kaufmann, M. E.; Turton, J.; Fagan, E. J.; James, D.; Johnson, A. P.; Pike, R.; Warner, M.; Cheasty, T.; Pearson, A.; Harry, S.; Leach, J. B.; Loughrey, A.; Lowes, J. A.; Warren, R. E. and Livermore, D. M.** (2004). Community and hospital spread of Escherichia coli producing CTX-M extended-spectrum β-lactamases in the UK. J. Antimicrob Chemother. 54: 735-743.
- **Woodford, N.; Zhang, J.; Warner, M.; Kaufmann, M. E.; Matos, J.; MacDonald, A.; Brudney, D.; Sompolinsky, D.; Navon-Venezia, S. and Livermore, D. M.** (2008). Arrival of *Klebsiella pneumoniae* producing KPC carbapenemase in the United Kingdom. J. Antimicrob Chemother.
- **Wright, G. D.** (2005). Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. Advanced. Drug. Deliv. Rev., 57: 1451-1470.
- **Yan, J. H.; Yi, K.; Lee, K.; Yong, D.; Kim, J. M.; Rossolini, G. M. and Chong, Y.** (2002). Molecular characterization of metallo-β-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* and *Acinetobacter* genomo- species 3 from Korea: identification of two new integrons carrying the $bla_{\text{VIM-2}}$ gene cassette . J. Antimicrob. Chemother., 49: 837-840.
- **Yan**, **J. J.; Hsueh, P. R.; Ko, W. C.; Luh, K. T.; Tsai, S. H.; Wu, H. M, *etal*.** (2001) Metallo-β-lactamases in clinical Pseudomonas isolates in Taiwan and identification of VIM-3, a novel variant of the VIM-2 enzyme. Antimicrob Agents Chemother, 45: 2224- 8.
- **Yan, J. V. J.; Ko, W. C.; Jung, Y. C.; Chuang, C. L. and Wu, J. J.** (2002). Emergence of Klebsiella pneumoniae isolates producing inducible DHA-1 beta-lactamase in a university hospital in Taiwan. J. Clin. Microbiol., 40: 3121–3126.
- **Yao, J. D. C. and Moellering, R. C. J.** (2003). Antibacterial Agents. Manual of Clinical Microbiology P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover and R. H. Yolken. Washington, DC.; American Society of Microbiology**:** 1039-1073.

- **Yatsuyanagi, J.; Saito, S.; Ito, Y.; Ohta, K.; Kato, J.; Harata, S.; Suzuki, N. and Amano, K.** (2004). Identification of *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains harboring the *bla*$_{VIM-2}$ metallo-β-lactamase gene in Akita Prefecture ,Japan . Jap.J.Infect.Dis.,57: 130-132.
- **Yigit, H.; Queenan, A. M.; Anderson, G. J.; Sanchez, A. D.; Biddle, J. W.; Steward, C. D.; Albert, S.; Bush, K. and Tenover, F. C.** (2001).Novel carbapenem- hydrolyzing β-lactamase ,KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae* . Antimicrob. Agents Chemother., 45: 1151-1161.
- **Yildirim, S.; Narsal, T. Z.; Tarim, A.; Torer, N.; Noyan, T.; Demiroglu, Y. Z.; Moray, G. and Heberal, M.** (2005). Bacteriological profile and antibiotic resistance: comparison of findings in a burn intensive care unit, other intensive care unit, and the hospital services unit of a single center, J. Burn. Car. Rehabil. **26** (6): 488 – 492.
- **Ziha-Zarifi, I.; Llanes, C.; Kohler, T.; Pechere, J. and Pleasiat, P.** (1999). Invitro emergence of multi drug resistant mutants of Pseudomonas aeruginosa over expressing the active efflux system MexA-MexB-OprM. Antimicrobial agents chemotherapy, 43:287-291.
- **Zimmermann, W.** (1980). Penetration of β-lactam antibiotics into their target enzymes in *Pseudomonas aeruginosa*: comparison of a highly sensitive mutant with its parent strain. Antimicrob. Agents Chemother.,18: 94-100.
- **Zimmermann, W. and Rosselet, A.** (1977). Function of the outer membrane of *Escherichia coli* as a permeability barrier to β-lactam antibiotics . Antimicrob. Agents Chemother.,12 : 368-372.

ملحق (١)

معلومات البادئ المصمم

LOCUS NC_011770 1194 bp DNA linear BCT 16-APR-2010

DEFINITION Pseudomonas aeruginosa LESB58, complete genome.

ACCESSION NC_011770 REGION: complement(940031..941224)

VERSION NC_011770.1 GI:218888746

DBLINK Project: 59275

KEYWORDS complete genome.

SOURCE Pseudomonas aeruginosa LESB58

ORGANISM Pseudomonas aeruginosa LESB58

Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Pseudomonadales;

Pseudomonadaceae; Pseudomonas.

REFERENCE 1 (bases 1 to 1194)

AUTHORS Winstanley,C., Langille,M.G., Fothergill,J.L., Kukavica-Ibrulj,I.,

Paradis-Bleau,C., Sanschagrin,F., Thomson,N.R., Winsor,G.L.,

Quail,M.A., Lennard,N., Bignell,A., Clarke,L., Seeger,K.,

Saunders,D., Harris,D., Parkhill,J., Hancock,R.E., Brinkman,F.S.

and Levesque,R.C.

TITLE Newly introduced genomic prophage islands are critical determinants

of in vivo competitiveness in the Liverpool Epidemic Strain of

Pseudomonas aeruginosa

JOURNAL Genome Res. 19 (1), 12-23 (2009)

PUBMED 19047519

REFERENCE 2 (bases 1 to 1194)

CONSRTM NCBI Genome Project

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (25-DEC-2008) National Center for Biotechnology

Information, NIH, Bethesda, MD 20894, USA

REFERENCE 3 (bases 1 to 1194)

AUTHORS Thomson,N.R.

TITLE Direct Submission

JOURNAL Submitted (02-SEP-2008) Thomson N.R., Pathogen Sequencing Unit, The

Wellcome Trust Sanger Institute, Genome Campus, Hinxton, Cambridge,

CB10 1SA, UNITED KINGDOM

COMMENT PROVISIONAL REFSEQ: This record has not yet been subject to final

NCBI review. The reference sequence was derived from FM209186.

COMPLETENESS: full length.

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..1194

/organism="Pseudomonas aeruginosa LESB58"

/mol_type="genomic DNA"

/strain="LESB58"

/db_xref="taxon:557722"

gene 1..1194

/gene="ampC"

/locus_tag="PLES_08611"

/db_xref="GeneID:7175766"

CDS 1..1194

/gene="ampC"

/locus_tag="PLES_08611"

/codon_start=1

/transl_table=11

/product="beta-lactamase"

/protein_id="YP_002438469.1"

/db_xref="GI:218889605"

/db_xref="GeneID:7175766"

/translation="MRDTRFPCLCGIAASTLLFATTPAIAGEAPADRLKALVDAAVQP

VMKANDIPGLAVAISLKGEPHYFSYGLASKEDGRRVTPETLFEIGSVSKTFTATLAGY

ALAQDKMRLDDRASQHWPALQGSRFDGISLLDLATYTAGGLPLQFPDSVQKDQAQIRD

YYRQWQPTYAPGSQRLYSNPSIGLFGYLAARSLGQPFERLMEQQVFPALGLEQTHLDV

PEAALAQYAQGYGKDDRPLRVGPGPLDAEGYGVKTSAADLLRFVDANLHPERLDRPWA

QALDATHRGYYKVGDMTQGLGWEAYDWPISLKRLQAGNSTPMALQPHRIARLPAPQAL

EGQRLLNKTGSTNGFGAYVAFVPGRDLGLVILANRNYPNAERVKIAYAILSGLEQQGK

VPLKR"

ORIGIN

1 atgcgcgata ccagattccc ctgcctgtgc ggcatcgccg cttccacact gctgttcgcc

61 accaccccgg ccattgccgg cgaggccccg gcggatcgcc tgaaggcact ggtcgacgcc

121 gccgtacaac cggtgatgaa ggccaatgac attccgggcc tggccgtagc catcagcctg

181 aaaggagaac cgcattactt cagctatggg ctggcctcga aagaggacgg ccgccgggtg

241 acgccggaga ccctgttcga gatcggctcg gtgagcaaga ccttcaccgc caccctcgcc

301 ggctatgccc tggcccagga caagatgcgt ctcgacgacc gcgccagcca gcactggccg

361 gcactgcagg gcagccgctt cgacggcatc agcctgctcg acctcgcgac ctataccgcc

421 ggcggcttgc cgctgcagtt ccccgactcg gtgcagaagg accaggcaca gatccgcgac

481 tactaccgcc agtggcagcc gacctacgcg ccgggcagcc agcgcctcta ttccaacccg

541 agcatcggcc tgttcggcta tctcgccgcg cgcagcctgg gccagccgtt cgaacggctc

601 atggagcagc aagtgttccc ggcactgggc ctcgaacaga cccacctcga cgtgcccgag

661 gcggcgctgg cgcagtacgc ccagggctac ggcaaggacg accgcccgct acgggtcggt

721 cccggcccgc tggatgccga aggctacggg gtgaagacca gcgcggccga cctgctgcgc

781 ttcgtcgatg ccaacctgca tccggagcgc ctggacaggc cctgggcgca ggcgctcgat

841 gccacccatc gcggttacta caaggtcggc gacatgaccc agggcctggg ctgggaagcc

901 tacgactggc cgatctccct gaagcgcctg caggccggca actcgacgcc gatggcgctg

961 caaccgcaca ggatcgccag gctgcccgcg ccacaggcgc tggagggcca gcgcctgctg

1021 aacaagaccg gttccaccaa cggcttcggc gcctacgtgg cgttcgtccc gggccgcgac

1081 ctgggactgg tgatcctggc caaccgcaac tatcccaatg ccgagcgggt gaagatcgcc

1141 tacgccatcc tcagcggcct ggagcagcag ggcaaggtgc cgctgaagcg ctga

Primer3 Output

No mispriming library specified

Using 1-based sequence positions

OLIGO	**start**	**len**	**tm**	**gc%**	**any**	**3' seq**	
LEFT PRIMER	527	20	60.04	50.00	2.00	2.00	tctattccaacccgagcatc
RIGHT PRIMER	872	20	60.13	55.00	5.00	1.00	tcgccgaccttgtagtaacc

SEQUENCE SIZE: 1196

INCLUDED REGION SIZE: 1196

PRODUCT SIZE: 346, PAIR ANY COMPL: 4.00, PAIR 3' COMPL: 0.00

1 atgcgcgataccagattcccctgcctgtgcggcatcgccgcttccacactgctgttcgcc

61 accaccccggccattgccggcgaggccccggcggatcgcctgaaggcactggtcgacgcc

121 gccgtacaaccggtgatgaaggccaatgacattccgggcctggccgtagccatcagcctg

181 aaaggagaaccgcattacttcagctatgggctggcctcgaaagaggacggccgccgggtg

241 acgccggagaccctgttcgagatcggctcggtgagcaagaccttcaccgccaccctcgcc

301 ggctatgccctgacccaggacaagatgcgcctcgacgaccgcgccagccagcactggccg

361 gcactgcagggcagccgcttcgacggcatcagcctgctcgacctcgcgacctataccgcc

421 ggcggcttgccgctgcagttccccgactcggtgcagaaggaccaggcacagatccgcgac

481 tactaccgccagtggcagccgacctacgcgccgggcagccagcgcctctattccaacccg

>>>>>>>>>>>>>>

541 agcatcggcctgttcggctatctcgccgcgcgcagcctgggccagccgttcgaacggctc

>>>>>>

601 atggagcagcaagtgttcccggcactgggcctcgaacagacccacctcgacgtgcccgag

661 gcggcgctggcgcagtacgcccagggctatggcaaggacgaccgcccgctacgggtcggt

721 cccggcccgctggatgccgaaggctacggggtgaagaccagcgcggccgacctgctgcgc

781 ttcgtcgatgccaacctgcatccggagcgcctggacaggccctgggcgcaggcgctcgat

841 gccacccatcgcggttactacaaggtcggcgacatgacccagggcctgggctgggaagcc

<<<<<<<<<<<<<<<<<<<<

901 tacgactggccgatctccctgaagcgcctgcaggccggcaactcgacgccgatggcgctg

961 caaccgcacaggatcgccaggctgcccgcgccacaggcgctggagggccagcgcctgctg

١٠٢١aacaagaccggttccaccaacggcttcggcgcctacgtggcgttcgtcccgggccgcgac

1081ctgggcctggtgatcctggccaaccgcaactatcccaatgccgagcgggtgaagatcgcc

1141 tacgccatcctcagcggcctggagcagcagggcaaggtgccgctgaagcgctga//

>>>>>> left primer

<<<<<< right primer

considered 1271, unacceptable product size 1134, high end compl 20, ok 117

(primer3_results.cgi release 0.4.0)