وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

عزل وتشخيص البكتريا *P.aeuginosa* ودراسة مقاومة لبعض المضادات الحياتية

بحث مقدم الى قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة القادسية كجزء من متطلبات نيل شهادة

البكالوريوس في علوم الحياة

اعداد: الطالبة

سلمى الراوش حجاب غالي

بأشراف

أ.م. د فراس سرحان المياحي

١٤٣٨ هـ

٢٠١٧ م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ وَيَسْأَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّي وَمَا أُوتِيتُم مِّنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلاً ﴾

سورة الاسراء / الآية (٨٥)

الاهداء

الى منارة العلم . . . والنبي المصطفى سيد الخلق الى رسولنا الكريم محمد صلى الله عليه واله وسلم

والائمه الميامين صلى الله عليهم اجمعين

الى من دمائهم سقت ارض العراق حشدنا المقدس وجيشنا الباسل . . .

الى ينبوع الذي لا يمل العطاء . . . . . الى من حاكت سعادتي بخيوط منسوجه من قلبها

. . . والدتي العزيز

الى من سعى وشقى لأنعم بالراحة والهناء . . . الذي لم يبخل بشيء من اجل دفعي في طريق النجاح . . .

والدي العزيز

الى الذين بذلوا كل جهد وعطاء لكي اصل الى هذي اللحظة . . . . اساتذتي الكرام

الشكر والتقدير

الحمد لله رب العالمين

والصلاة والسلام على اشرف الانبياء الرسول الكريم محمد صلى الله عليه واله وصحبه ومن اتبعه الى يوم الدين اتقدم بأسمى آيات الشكر والتقدير والاحترام . . . الى مشرفي الفاضل الدكتور فراس سرحان الماحي للمتابعة المستمرة والتوجيهات الدائمة و القيمة طيلة فترته اعداد البحث سائله ان يمن الله عليه بمزيد من النجاح والتقدم العلمي خدمتا للعراق العظيم كما اتقدم بالشكر والتقدير وامنياتي الطيبة الى منتسبي كليه العلوم وقسم علوم الحياة من ذكاترة واساتذتي المحترمون لما قدموه لي طيلة السنوات السابقة

عرفاني وامنياتي الصادقة الى الأساتذة منار حسن

وعلي عبد الحسين . محلل (مستشفى الحمزة العام)

لما ابدو لي من مساعده في جمع العينات

الخلاصةAbstract

هدفت الدراســة الى عزل بكتريا *pseudomonas aeruginosa* من مصــادر مختلفة (مرضيه وغير مرضيه)ومعرفة مدى مقاومته لعدد من المضـادات الحيوية بطريقه الانتشـار Discs diffusion method , اذ جمعت 60 عينه من مستشفيات واســواق محافظة الديوانية للفترة من كانون الاول2016الى مارس 2017 واظهرت النتـائج عزل 10عزلات عـائـده لبكتريـا *pseudomonas aeruginos* (٨ عزلات مرضـية و٢ غذائيه) بالاعتماد على الاختبارات الكيمو حيويه وعدة الفحص الجاهزه Api-20 وأظهرته نتائج فحص الحسـاسية الدوائية ان افضـل المضـادات تـأثيرا على هذه البكتريا هي مجموعة Aminoglycosides (Amikacin) ومضـــاد Azithromycin العائد لصـــنف Macrolides بنســـبة مقاومه قليلة (30%)و(٤٠%)على التوالي واقلهـا تـأثيرا مضـــــادات Piperacillin و Lincomycinو Erythromycinو Bacitracinو Rifampin و Chloramphenicol وبنسبة مقاومه مطلقه (١٠٠%).

المقدمة: Introduction

تعد بكتيريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* واحدة من الممرضات الانتهازية opportunistic pathogens والتي تمتلك العديد من عوامل الضراوة و هي سبب مهم في العدوى المكتسبه من المستشفيات كما تعد بكتيريا *P. aeruginosa* عصيات سالبه لصبغة غرام هوائية متحركة تمتلك هدب قطبي وحيد وتعد هذا البكتيرية اكثر الانواع شيوعا وانتشارا في الطبيعة والمسببة لأمراض كثيره . ويمكن لهذه البكتريا العيش في بيئات خاملة مع متطلبات غذائية قليلة (Farinas and Martinez, 2013).اذ لوحظ ان الاصابة ببكتيريا *P. aeruginosa* يصعب علاجها بسبب امتلاكها صفة المقاومة الطبيعية للعديد من المضادات الحيوية (MDR)(Livermore , 2012). في العقود الاخيرة كان هناك انتشار عالمي لمقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية ,التي اعلنت حالة الطوارئ و اعتبرتها منظمة الصحة العالمية مشكلة صحية عامة في عام ١٩٩٨. وبالتالي فان الاستخدام المكثف للمضادات الحياتية واسعة الطيف زاد من مقاومة بكتريا *P. aeruginosa* للعقاقير المستخدمة في العلاج (Peng *et al* .,2014).

و تحدث مقاومة بكتيريا P. aeruginosa تجاه المضادات الحيوية من خلال اكتسابها عدة آليات متميزة منها تحوير الموقع الهدف للمضاد أو تحوير الأغشية الخارجية، وإنتاج انزيمات البيتالاكتاميز ، وانظمة الدفق الفعالة . وقد تزداد مقاومة البكتيريا للمضادات والسبب يعود الى سوء الاستخدام للمضادات الحيوية مثل السيبروفلوكساسين، والبيتالاكتام وأمينوكلايكوسيدات في مراكز الحروق وكذلك عدم توافر و ارتفاع تكاليف الأدوية الفعالة الأخرى (tavajjohi *et al.* 2011) وعوامل اخرى ادى ان بكتيريا P. *aeruginosa* ظهور سلالات تمتاز بصفة تعدد المقاومة للعقاقيرMDR (Livermore , 2012).في البلدان النامية هنالك عدد كبير من الناس يموتون يوميا بسبب العدوى بهذه البكتيريا او غيرها من الانواع البكتيرية الاخرى ,وهي واحدة من المشاكل الصحية التي تنتج عن غزو الكائنات المسببة للأمراض في

أجزاء مختلفة من الجسم. ، بعضها أمراض يمكن الوقاية منها والتي يمكن علاجها مثل التهابات الجروح (Akingbade *et al* 2012)

خطوات الدراسة :

١- عزل بكتيريا *P. aeruginosa* المأخوذة من مصادر مختلفة (مرضيه وغذائية) من مستشفيات واسواق محافظة لديوانيه على التوالي.

٢- تشخيص بكتيريا *P.aeruginosa* باستخدام وسط المكونكي والاختبارات البايو كيميائيه وباستخدام العده الجاهزه API-Enterobacteraceae .

٣- التعرف على العزلات المقاومه لبكتريا الـ *P. aeruginosa* تجاه عدد من المضادات الحيوية.

٣-المواد وطرائق العمل Materials and methods

٣-١ المواد materials

٣-١-1الأوساط الزراعية الجاهزة Ready media

جدول (1) الاوساط الزراعية .

ت	اسم الوسط الزرعي	
1	وسط اكار ماكونكي	MacConkey agar
2	وسط المرق المغذي	Nutrient broth
3	وسط اكار نقيع القلب-الدماغ	Brain-heart infusion agar
4	وسط احمر المثيل –فوكس بروسكاور	MR/VP broth
5	وسط اكار مولر- هنتون	Muller-Hinton agar
6	وسط ماء الببتون	Peptone water
7	وسط استهلاك السترات	Simons citrate agar
8	وسط اغار ثلاثي السكريات و الحديد	Trible sugar iron agar

جدول (2) المضادات الحيوية .

صنف المضاد الحيوي	تحت الصنف للمضاد الحيوي	اسم المضاد الحيوي	الرمز	التركيز/ مايكرو غرام
Penicillins	Ureidopenicillin	Piperacillin	PRL	١٠
Macrolides	Ma crolibdes anti microbial group	Erythromycin	E	15
		Azithromycin	Azn	15
Polypeptide Anti biotics		Bacitracin	B	10
Miscellaneous	Lincosamides	Lincomycin	L	10
Aminoglycosides		Amikacin	AK	10
		Gentamicin	GM	30
		Neomycin	N	30
Ansamycins		Rifampin	RIF	٥
Other Antibiotic		Chloramphenicol	C	١٠

٣-٢ :طرائق العمل

3-2-1: تحضير الأوساط الزرعية Culture media preparation

أ-تحضير الأوساط

حُضِّرت الأوساط الزرعية المذكورة في الفقرة 1 حسب تعليمات الشركة المُصنَّعة لها وضُبِطَ الأس الهيدروجيني لها بحسب الحاجة لهُ

ب- تعقيم الأوساط Media sterilization

عُقِمت جميع الأوساط الزرعية المستعملة بجهاز الموصدة عند درجة حرارة 121°م وضغط 1 جو لمدة 15 دقيقة

ج-تحضير محلول مكفر لاند القياسي Mcfarland tube standardحُضّرت من المحاليل الآتية وحسب ما جاء في **NCCLS (2003)** :

آ- محلول كلوريد الباريوم المائي $BaCl_2.2H_2O$

حُضّر المحلول بإذابة 1.175 غرام في 50 مليلتر من الماء المقطر المعقم وأُكمل الحجم إلى 100 مليلتر للحصول على تركيز 0.048 مول/لتر من كلوريد الباريوم.

ب- محلول حامض الكبريتيك H_2SO_4

حُضّر المحلول بإضافة 18 مليلتر من حامض الكبريتيك المركز ببطء إلى 50 مليلتر من الماء المقطر المعقم، وأكمل الحجم إلى100 مليلتر للحصول على تركيز 0.18 مول/لتر من H_2SO_4.

أضيف 0.5 مليلتر من محلول (آ) إلى 99.5 مليلتر من محلول (ب) وعُدلت قراءة العكورة القياسية ما بين (0.08-0.10) وحدة تكوين المستعمرة عند طول موجي 625 نانومتر وهذه القراءة تمثل ما يقارب عكورة (1.5×10^8) .[Colony forming unit (CFU)] في مليلتر واحد من البكتريا النامية، ووزع المحلول في أنابيب إختبار معقمة ذات سدادات محكمة بحجم 4 مليلتر لكل أنبوبة وحفظ في أماكن معتمة بدرجة حرارة الغرفة واستُعملت لغرض مقارنة كثافة النمو البكتيري في اللقاح المستعمل مع كثافة المحلول في الأنبوبة.

3-2-3: جمع العينات Collection of samples

جُمعت 60عينة من الحالات السريرية من مستشفيات واسواق محافظة الديوانية على التوالي للمدة من كانون الاول ٢٠١٦الى مارس 17 ٢٠١٧من المرضى المراجعين والراقدين في المستشفى المذكورة وبأعمار مختلفة لِكِلا الجنسين. إستُخدمت المسحات القطنية الحاوية على وسط ناقل Transport media swabs في عملية جمع العينات لضمان حيوية العزلة. وشملت العينات المدروسة ,عينات الادرار و عينات الحروق والاذن واسواب .وعينات اغذيه

طرائق جمع عينات الغذائية (اللحم)

جمعت عينات اللحم البقري المحلي من مجازر ومحلات بيع اللحوم في مدينة الديوانية كما تم جمع عينات من اللحوم المستورد المجمد من الاسواق المحليه للمدينه.حيث تم انتخاب عينات عشوائية من لحوم البقر المختومة بيطريا ووضعت في قناني بلاستيكية نظيفة ومعقمه. جمع ١٠ عينه(٥عينات محليه-٥عينات مستورده) حيث تم وزن ٢٠غم من عينة لحوم(محلي ومستورد)باستخدام الميزان الحساس ووضعت كل عينه في خلاط كهربائي نظيف ومعقم ثم اضافة ١٨٠مل من ماء مقطر الى كل عينة لحم مزجت العينتين كلا على حده باستخدام خلاطين لمده ٥دقائق وهكذا تم الحصول على التخافيف ١٠-١و١٠-٢ لكل عينة لحم ثم نقل ١مل من التخفيف ١٠-٢ الى دورق نظيف ومعقم يحتوي على ٩٩مل ماء مقطر للحصول على التخفيف١٠-٣ ثم بعد ذلك عملت سلسله من التخافيف بواقع ٣ مكررات لكل تخفيف ثم تحضير عينات اللحم لغرض الفحص المختبري لغرض العد والعزل الجرثومي ثم يوزن ٢٠غم من كل عينة لحم وتم اضافة ١٨٠مل من الماءالمقطر لكل منها في خلاط كهربائي معقم مزجت العينتين كل على حده لمدة٥دقائق ثم عملت سلسله تخافيف بغد ذلك اخذ ٠،١ من التخافيف ١٠-٢و١٠-٣و١٠-٤ووضع كل تخفيف في طبق بتري بواقع ٣مكررات لكل تخفيف .

بعد اتمام عملية تحضير العينات المطلوبة وتوزيعها في اطباق بتري ثم سكب كميه من الوسط الغذائي الاكار المعقم والمبرد بين ٤٢-٤٥م حرك الطبق ليتجانس النموذج مع الوسط ثم يترك ليتصلب حسب طريقة (الزيدي وجماعته ,١٨٩٧)حضنت الاطباق المزروعة بدرجة حراره٣٧م لمدة ١٨-٢٤ساعة .

3-2-4: عزل البكتيريا Isolation of bacteria

لغرض عزل بكتيريا *P.aeruginosa* ، لُقحت الوسط الزرعي أگار الماكونكي MacConkey agar بمسحات العينات بطريقة التخطيط ثم حُضّنت بدرجة حرارة 37 م° لمدة 18-24 ساعة , و حُضّنت الأطباق التي لم يظهر فيها نمو خلال 24 ساعة لمدة 24 ساعة اخرى قبل عدها نتيجة سالبة .

3-2-5: تشخيص البكتيريا Identification of Bacteria

شُخصت المستعمرات البكتيرية النامية اعتماداً على :

3-2-5-1 : الخصائص المظهرية Phenotypic characteristics

لوحظت الصفات المظهرية للمستعمرات النامية أشكالها و لونها و سطح المستعمرات ووجود روائح مميزة لها و قوامها و شفافيتها وتخمر اللاكتوز على وسط أگار الماكونكي (**Winn *et al*., 2006**).

3-2-5-2 : التشخيص المجهري Microscopic diagnosis

فُحصت العينات مجهرياً وذلك بأخذ مسحة من المستعمرات البكتيرية النامية على الأوساط الزرعية وتثبيتها وتصبيغها بصبغة گرام لملاحظة اشكال وترتيب الخلايا البكتيرية وتفاعلها مع الصبغة (موجبة أو سالبة).

3-2-5-3 : الأختبارات الكيموحيوية Biochemical tests

أُجريت مجموعة من الإختبارات الكيموحيوية اللازمة لتشخيص العزلات البكتيرية قيد الدراسة, وكالآتي:

1-إختبار الكتاليز Catalase test:

نُقلَ جزء من مستعمرة فتيَّه بعمر 24 ساعة بوساطة العيدان الخشبية المعقمة إلى شريحة زجاجية نظيفة ومن ثم أُضيفت قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 بتركيز 3%. وتكون النتيجة موجبة بظهور فقاعات من غاز الأوكسجين (Brown, 2007).

2-إختبار الأوكسيديز Oxidase test:

نُقلَ جزء من مستعمرة فتيَّه بعمر 24 ساعة بوساطة عود خشبي مُعقم إلى ورقة ترشيح مشبَّعة بكاشف الأوكسيديز, وأنَّ تكوّن اللون البنفسجي خلال 10 ثوانٍ دليل على إيجابية الإختبار (Brown, 2007).

3- إختبار قابلية الحركة Motility test :

أجري هذا الإختبار بتلقيح الأنابيب الحاوية على وسط الحركة بطريقة الطعن المحضر باذابة 0.5غم من أگار- أگارفي 100 مل من وسط نقيع القلب – الدماغ السائل بالمزروع البكتيري ,

وحُضن بدرجة حرارة 37°م لمدة 24–48 ساعة ، انتشار النمو خارج حدود الطعنة يدل على النتيجة الموجبة (MacFaddin , 2000).

4- إختبار تخمرالسكريات وانتاج الغازSugar fermentation&gas production test

لقحت الأنابيب الحاوية على وسط (Kliger's Iron Agar (KIA بطريقة الطعن والتخطيط على السطح المائل بالمزروع البكتيري . وحُضنت الأنابيب بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة ان عدم تغير لون الوسط من الأحمر إلى الأصفر دليل على عدم قدرة البكتيريا على تخمر سكري الكلوكوز و اللاكتوز, وعدم إنتاج غازكبريتيد الهيدروجين على شكل راسب اسود اسفل الوسط الصلب .

5- مجموعة إختبارات IMViC المُكوّنة من:

•إختبار إنتاج الأندول Indol production test:

استُخدم في هذا الإختبار وسط ماء الببتون (Peptone water) الذي لُقِحَ بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد إختبارها، ثم حُضنَت الأنابيب بدرجة حرارة 37°م لمدة 18- 24 ساعة بعد ذلك أضيفت عدة قطرات من كاشف كوفاكس Kovac's reagent إلى كل انبوبة مع الرج الجيد وأنَّ ظهور حلقة حمراء اللون دليل على إيجابية الفحص وقدرة البكتيريا على تحليل الحامض الأميني التربتوفان Tryptophanوإنتاج الأندول (MacFaddin ,2000) .

•إختبار المثيل الأحمر Methyl red test:

اجري هذا الإختبار بتلقيح الأنابيب الحاوية على الوسط الزرعي MR.VP. medium بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد إختبارها وحُضِنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24- 48 ساعة. بعد انتهاء فترة الحضن أُضيفت 5 قطرات من كاشف المثيل الأحمر وسُجِلت النتيجة الموجبة بظهور اللون الأحمر دلالةً على إنتاج الحامض، في حين أنَّ بقاء اللون الأصفر يمثل النتيجة السالبة (Collee et al ., 1996).

•إختبار فوكس – بروسكاور Voges – Proskauer test:

لُقحت الأنابيب الحاوية على الوسط الزرعي MR.VP. medium بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد إختبارها ثم حُضِنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 –48 ساعة, بعد ذلك أُضيف

1ملیلترمن الكاشف إلى كل انبوبة مع التحريك الهادئ ثم تُرك ساكناً لمدة ١٠-١٥ دقيقة، وإستدلَ على النتيجة الموجبة بظهور اللون الأحمر (Collee et al ., 1996) .

-إختبار إستهلاك السترات Citrate utilization test:

لُقِحَ في هذا الإختبار وسط سيمون ستريت المائل بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد إختبارها وحُضِنَ بدرجة حرارة 37°م لمدة 24–48 ساعة, واستدلَ على إيجابية الفحص بتغير لون الوسط من الأخضر إلى الأزرق دلالةً على إستهلاك البكتيريا للسترات على أنهُ مصدرٌ وحيدٌ للكاربون (Winn et al ., 2006).

3-2-5-4التشخيص باستخدام العده الجاهزه Api-20

بعد الحصول على نتائج الفحوصات الكيموحيوية التي تنطبق على بكتيريا *P.aeruginosa* أستخدمت شرائط الـ api 20 E , لتشخيص هذا النوع بالشكل النهائي اذ يحوي هذا الشريط على 20 انبوبة خاصة بالفحوصات الكيموحيوية التأكيدية. تتضمن طريقة العمل الخطوات التالية :

أ – تحضير العالق البكتيري Preparation of bacterial suspention لُقح 5 مليلتر من محلول الملح الفسلجي ب 1-4 مستعمرة من بكتيريا *P.aeruginosa* بواسطة المسحة القطنية (swap) مع المزج المستمر للحصول على عالق تركيزه (1.5×10^8) خلية / مليلتر وذلك بالمقارنة مع المحلول ثابت العكورة القياسي ذو الرقم (0.5) .

ب - تلقيح شريطِ API-20 Inoculation of the API-20strip

بعد تحضير العالق البكتيري وباستخدام ماصة (Pipette) نظيفة وجافة لقح مقدار 0.12 مليلتر من عالق البكتيريا لكل انابيب الأختبار فيما بلغت كمية اللقاح البكتيري 0.28 مليلتر لأنابيب الأختبارات CIT, VP, GEL , واضيف الزيت المعدني المعقم (Sterile mineral oil) الى الاختبارات التي تحتها خط والتي شملت URE, ADH, LDC, ODC, H_2S.

ج- حضن شريط API-20 Incubating the strip in its chamber

وضع شريط الـ api داخل غطاء او حافظة خاصة ضمن العُدة بعد وضع القليل من قطرات الماء بالحفر الموجودة في هذا الغطاء , ثم حُضن شريط الـ api بدرجة حرارة 37°م لمدة 24–ساعة .

د- اضافة الكواشف **Addition of reagents**

- اضيفت قطرة من كاشف TDA الى اختبار ازالة مجموعة الامين من الحامض تربتوفان (Tryptophan deaminase) , تحول اللون الى البني يدل على النتيجة الموجبة .
- اضيفت قطرة من كاشف JAMES الى اختبار إنتاج الأندول (Indol production test) , ظهور حلقة حمراء اللون دليل على النتيجة الموجبة .
- اضيفت قطرة من كل كاشف VP1 + VP2 على التوالي الى اختبار فوكس – بروسكاور(Voges – Proskauer test) , تحول اللون الى الوردي يدل على النتيجة الموجبة .
- اضيفت قطرة من كاشف NIT1 و قطرة من كاشف NIT2 الى اختبار GLU , تحول اللون الى الازرق يدل على النتيجة الموجبة .

ز- قراءة النتيجة **Reading of Result**

شُخصت البكتيريا من خلال الشفرة الرقمية (Code number) التي تتكون بعد وضع علامة (+) اوعلامة (-) لكل من الأختبارات الكيموحيوية الموجودة ضمن شريط الـ api حيث ان لكل بكتيريا بالشريط وشُخصت. باستخدام الدليل الملحق شفرة رقمية خاصة بها , ثم قورنت الارقام في اوراق خاصة

Pseudomonas aeruginosa

٣-2-6 : حفظ وإدامة العزلات البكتيرية

Preservation and Maintenance of Bacterial Isolates

أ- الحفظ قصير الأمد

تم تلقيح الأنابيب الحاوية على الوسط المغذي الصلب المائل بالبكتيريا المراد حفظها وحُضنت في درجة حرارة 37 مº لمدة 24 ساعة، ثم حفظت بدرجة 4 مْ، وكررت عملية الحفظ لتجديد حيوية العزلات، وتجنب حدوث التلوث **(Collee *et al* ., 1996).**

ب-الحفظ طويل الأمد

لُقحت الأنابيب الحاوية على الوسط المغذي السائل المدعم بالكليسيرول بتركيز(15%) بالبكتيريا قيد الدراسة، وحُفظت بدرجة - 20 مْ **(NCCLS , 2003) .**

3-2-7 : إختبار فحص الحساسية Antibiotic Susceptibility Testing

اختبرت الحساسية الدوائية للعزلات البكتيرية بطريقة الأقراص إعتماداً على طريقة Bauer وجماعته (1966) و (2012)CLSI , وتضمنت :

نقل ٢-4 مستعمرات من بكتيريا *P. aeruginosa* إلى أنبوب إختبار يحوي 5مل من مرق تربتون الصويا المغذي وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة 8 ساعات. خفف النمو الحاصل باستعمال

محلول الملح الفسلجي ، تمت مقارنة النمو في الأنبوب مع أنبوبة ماكفرلاند (0.5) القياسية ، وغمست المسحة القطنية في مرق تربتون الصويا المزروع، وأزيل الفائض بالضغط على الجوانب الداخلية للأنبوبة , نشرت البكتيريا على وسط مولر- هنتون الصلب بطريقة التخطيط لأكثر من مرة ، وباتجاهات مختلفة لغرض التأكد من نشر البكتيريا المراد إختبار حساسيتها بالتساوي ، وتُركت الأطباق 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة لضمان إمتصاص الرطوبة، وُضعت أقراص المضادات الحيوية بواقع ١٠أقراص في طبق قياس١٥٠ ملي متر، ، والمسافة بين كل قرص وآخر 20 ملي متر من مركز القرص الأول إلى مركز القرص الآخر، حُضنت الأطباق في 37 مْ لمدة ١٨ ساعة لجميع أنواع المضادات الحيوية، ثم قيست أقطار التثبيط باستعمال الفيرنيا وقورنت مع القيم القياسية المذكورة في CLSI (2016) .

٤ : النتائج والمناقشة Results and discussion

٤-١ : الدراسة الإحصائية Statistical study

تضمنت الدراسة الحالية جمع 60عينة (٥٠ عينة مرضيه و١٠ عينات اغذيه) من حالات سريرية مختلفة من مستشفيات واسواق محافظة الديوانيه على التوالي لمدة من شهر تشرين الثاني ٢٠١٦ ولغاية شهرآ مارس ٢٠١٧ وكانت عملية جمع العينات بشكل عشوائي للتحري عن بكتيريا *P. aeruginosa*, شملت العينات السريرية حسب مصادر جمعها اخماج مختلفة منها اخماج الأذن الوسطى و مسحات لجروح والحروق والعينات الادرار واغذيه (لحوم) . توزعت المصادر حسب جنس المريض ٢٥عينة من الذكور مثلت نسبة٥٠% من العينات و ١٦عينة من الاناث بنسبة 32% , و٩عينات غذاء وبنسبة ١٨%من مجموع العينات مثلت عينات المرضى المراجعين نسبة٧٠ % من خلال نتائج العزل نلاحظ ان بكتيريا *P. aeruginosa*قادرة على أن تسبب مجموعة كبيرة من الأمراض المختلفة، سواء كانت الاصابة حادة او مزمنة ويمكنها أن تغزو أي جزء من اجزاء الجسم ,حيث يمكنها ان تهاجم اجهزة المناعة لدى الانسان كالجلد وتسبب تسمم الدم Septicemia وتسبب تلفه , و تصيب الجهاز التنفسي ,والجهاز البولي حيث تسبب التهابات الجهاز البولي UTI (Selezska and Ukraine , 2010). وبالتالي فإن البكتيريا.

P . aeruginosa تعد واحدة من اهم الممرضات المسببة لعدوى المستشفيات Nosocomial infection التي تؤدي إلى ارتفاع نسب وفيات المرضى ونسب الهلاك (Altoparlaket *et al*., 2005) , و سجلت الدراسة فرقاً معنوياً في نسب الإصابة بين المرضى المراجعين والراقدين و حسب مصدر العينة في حين لم تسجل فروقا معنوية بين الذكور والاناث عند مستوى معنوية.

٢-٤ : عزل و تشخيص البكتيريا Isolation and Identification

خلال اجراء الاختبارات اعلاه لاحظنا وجود و افراز صبغات وبالوان مختلفة منها الزرقاء البايوسيانين Pyocyanin ومنها الاخضر المزرق والصفراءPyoverdin وغيرها ,ان العديد من سلالات البكتيريا *P. aeruginosa* هي قادرة على انتاج هذه الصبغات . أظهر مولر وآخرون (٢٠٠٢) في دراستهم على صبغة البايوسيانين بانها ستعمل على تثبيط تكوين الخلايا الليفية fibroblasts المسؤولة عن توليد الجلد البشري ،وبالتالي يؤدي ذلك الى تحفيز الشيخوخة المبكرة حتى لو كانت الصبغة بتركيزات منخفضة. وتكهن الباحثون أن هذا هو ما يفسر جزئيا كون بكتيريا *P. aeruginosa* تعوق التئام الجروح (Muller *et al*., 2009).

جدول (٤) الاختبارات الكيموحيوية لبكتيريا *P.aeruginosa* المعزولة من العينات السريرية.

الاختبار	النتيجة
اختبار الاوكسديز	+
اختبار الكتاليز	+
اختبار الاندول	-
اختبار احمر المثيل	-
اختبار فوكس بروسكاور	-
اختبار استهلاك السترات	+
اختبار استهلاك السكريات الثلاثة وانتاج H2S	K\K-

ظهرت انواع بكتيرية اخرى مختلفة عند عزل بكتيريا *P. aeruginosa* منها بكتيريا سالبة لصبغة كرام ومنها الموجبة للصبغة كبكتريا الاشيرشية القولونية *E.coli* التي ظهرت بنسب عالية اثناء مراحل العزل وكذلك بكتيريا *Proteus mirabilis* وبكتيريا ال *Staphylococcus aures* اضافة الى *Pseudomonas* spp. الاخرى والتي عزلت من الادرار و مسحات الحروق . اضافه الى انه هناك عزلات لم تعطي

نمو والتي ظهرت نتائجها السلبية بعدم وجود المستعمرات بعد زراعتها على الاوساط الزرعية وحضنها لمدة ٢٤ساعة وبدرجة حرارة ٣٧م° في الحاضنة , وقد يعود سبب ذلك الى كون المريض قد تناول علاجا مسبقا أو أن المسبب المرضي هو فايروسي أو فطري ولم تتوافر له الظروف المختبرية المناسبة للنمو (و سجلت الدراسة فرقاً معنوياً في عزلات بكتيريا *P. aeruginosa* و العزلات السالبة والموجبة لصبغة غرام حسب مصدر جمع العينات .

٤-٣ : انتشار وتوزيع بكتيريا *P. aeruginosa* في العينات السريرية

Occurence and distribution of *P. aeruginosa* in clinical samples

بلغ عدد عزلات بكتيريا *P. aeruginosa* ١٠ عزلة من مجموع عينة وبنسبة تواجد بلغت ٢٠ % ,جاءت نتائجنا مقاربة لما توصل اليه Magdy (٢٠١٣), Ndip (٢٠٠٥) وHassan (٢٠١٢) الى ان نسبة العزل بكتيريا *P.aeruginosa* من حالات سريرية مختلفة كانت ٢١ % , ٢٥,٥%, ٢٦,٠٦% على التوالي. وايضا مع نتائج حران (٢٠١٢) حيث بلغت نسب عزلاته ١٨% ,و مع ما توصل اليه (٢٠١٤) Abdul-Wahid ومقاربة لما توصل اليه سالم (٢٠١٤) حيث بلغت نسبة عزلاته١٢,٨% في مدينة الديوانية,و مقاربة لما سجله داخل (٢٠١٥) و بنسب عزلات بلغ ١٤,٢% ايضا في مدينة الديوانية ,

أظهرت نتائج دراستنا أن أعلى نسبة عزل لبكتيريا *P. aeruginosa* كانت من اخماج الحروق والتي بلغت نسبة عزل بكتيريا *P. aeruginosa* منها ٤٠ % كانت النتائج مقاربة الى النتائج التي حصل عليها سالم (٢٠١٤) لعزلات البكتيريا من اخماج الحروق قد بلغت ٢٣,٦ %. , اما Gad وجماعته (2007) , فقد سجلوا أعلى نسبة عزل ٧٢% من اخماج الحروق, و مقاربه الى ما توصل اليه داخل (2015) , اذ سجل نسبة عزل 13.2% من اخماج الحروق , و قريبة لما سجله Abdul-Wahid (٢٠١٤) , اذ أشار إلى إن نسبة عزل البكتيريا كانت ١٦,٢ % من اخماج الحروق

وقد بينت الدراسات ان معدل حدوث الاصابة في مرضى الحروق هو متزايد نتيجة لعوامل مختلفة مثل طبيعة الحروق نفسها، والحالة المناعية (Pruitt *et al* ., 1998)، وعمر المريض ومدى الإصابة، وعمق الحرق بالاضافة الى العوامل الميكروبية مثل نوع وعدد الكائنات الحية، إنتاج الانزيم و السموم، و موقع استعمار الجروح و الحروق ,ومن ثم الغزو النسيجي من قبل الكائنات المستعمرة (Magnet *et al*) .., 2013

ففي احصائية لمنظمة WHO (٢٠٠١) بينت خلالها ان حوالي ٨٠% من حالات حروق الدرجة الثانية كانت سببا في احداث الوفيات وبنسب عالية جدا ,والسبب يعود الى كون الوسائل الدفاعية للمصابين مخترقة واقل قدرة على المقاومة, نستنتج من ذلك ازدياد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية وذلك يشكل خطرا على الوقاية و العلاج الفعالين,كما نستنتج ان نسبة عزل البكتيريا في هذه الدراسة من حالات الحروق لا تخلو من الخطورة على الرغم من ان شعبة الحروق خاضعة للرقابة المشددة اذ خفض هذا معدل التهابات الحروق للمصابين الراقدين وبشكل ملحوظ و لكن ما تزال العدوى البكتيرية تهدد حياة الاشخاص المصابين بحروق شديدة. و تعد الحروق سبباً من بين الأسباب الرئيسية لزيادة نسب الوفاة في العالم. Potokar (*et al* ., 2008).

بعد ذالك تاتي اخماج الأذن الوسطى بنسبة ٢٠ % , وهي مقاربة مع ماتوصل اليه داخل (2015) , حيث اشار الى ان نسبة عزل هذه البكتيريا كانت 16.6% من اخماج الأذن الوسطى في مستشفيات الديوانية , و في دراسة اخرى في مدينة الديوانية اجراها سالم (٢٠١٤), وكانت النتائج مقاربة الى ما حصل عليه اذ سجل نسبة عزل ١٢,٥ % , في حين توصل (Abdul-Wahid (2014, بان نسبة عزل

بكتيريا *P. aeruginosa* من اخماج الأذن الوسطى بلغت ٢٥% في مستشفيات الناصرية . ان امراض الاذن المزمنة اصيبت بها البشرية منذ زمن بعيد,الى يومنا هذا والاصابة تؤدي الى مضاعفات و تعقيدات متنوعة فالمختصين في مجال امراض الاذن منذ عدة سنوات حاولوا ان يضعوا او يؤسسوا مصطلحات عامة لوصف الاعراض السريرية و المرضية لالتهاب الاذن الوسطى والمتسبب بواسطة بكتيريا *P. aeruginosa* Goycoolea,199 اوضحت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة عزل *P. aeruginosa* من التهابات المسالك البولية بلغت ٢٠% وهذه النسبة مقاربة مع ما توصل اليه حران (٢٠١٢) في عزل البكتيريا من الادرار ١٩,٣%. وما توصل اليه داخل (٢٠١٥) و سالم (٢٠١٤) حيث اشارا الى ان نسب عزل البكتيريا من الادرار كانت ١٠% , ١٠,٤٩% على التوالي , ومقاربة ايضا لنتائج كلا من (2014) Abdul-Wahid و قاسم (٢٠٠٦) وبنسب عزل ٨,٩% , ٨% على التوالي, اذ تعد بكتيريا

P. aeruginosa الممرض الثاني والاكثر تردداً بين البكتيريا السالبة لصبغة گرام بنسبة ١٦,٣% للمرضى الذين يعانون من اخماج المسالك البولية في الولايات المتحدة (Gaynes and Edwards , 2005) .

في الوقت الحاضرتكون بكتيريا *P. aeruginosa* مسؤولة عن ٨٪ من عدوى المستشفيات، و ان هذه الاصابات تكلف نظام الرعاية الصحية الامريكي ما بين ٢٨,٤ و٤٥ مليار دولار , وسبب ذلك يعود الى تزايد اعداد الاصابات الى نحو ١,٧مليون و٩٩،٠٠٠ حالة وفاة سنويا Worlitzsch *et al* ., 2002; Castang *et al* ., (2008). اما في عينات الاغذيه كانت بكتريا متواجده *P. aeruginosa* متواجده وبنسبة ٢٠% (١٠%لحم محلي و١٠%لحم مستورد)

٤-٤: انتشار وتوزيع عزلات *P. aeruginosa* حسب العمر ,الجنس ,وحالة المرضى

Incident and distribution of *P. aeruginosa* isolates based on age, gender, and hospitalization

لاحظنا في هذه الدراسة ان للعمر و الجنس تاثيرا على الاصابة ببكتيريا *P. aeruginosa* يبين توزيع الحالات المرضية على الفئات العمرية المدونة ضمن بيانات المرضى اذ سجلت اعلى نسبة اصابة ببكتيريا *P. aeruginosa* عند الفئات العمرية (٤٠-٣١) سنة ,والسبب يعود الى كون هذه الفئات تمثل الفئات العاملة من بين بقية الفئات العمرية. جاءت النتائج مقاربة لما توصل اليه داخل (٢٠١٥) اذ سجل اعلى نسبة اصابة في الفئات العمرية (٤٠-٣١) ,تليها الفئات العمرية (١٠-١) (٢٠-١١) اذ كانت نسبة الاصابة في هذه الاعمار عالية, حيث ان الفئة العمرية (١٠-١) تمثل الفئات العمرية الصغيرة اذ ان الاطفال يتعرضون للاصابة بالجراثيم عند التماس مع بعضهم البعض يُعزى الإختلاف في نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات الاخرى إلى اختلاف الموسم الذي جُمعت فيه العينات , التدابير الصحية , واختلاف المرضى , حيث تزداد النسبة في المرضى الراقدين والذين يعانون أصلاً من ضعف في أنظمة الجسم المناعية (CDC , 2001) و سجلت الدراسة فرقاً معنوياً في الفئات العمرية المذكورة

جدول (١) مصادر الاصابة ببكتيريا *P. aeruginosa* حسب الفئات العمرية .

الفئات العمرية	عدد الاصابة	النسبة المئوية

١-١٠	١	%١٠
١١-٣٠	٣	%٣٠
٣١-٥٠	٣	%٣٠
>٥١	١	%١٠
المجموع	٨	%٨٠

جدول (٦) عدد الاصابات ل *P.aeruginosa* حسب الجنس

ت	عدد الاصابة		النسبة المئوية
١	الذكور	٥	%٥٠
٢	الاناث	٣	%٣٠
٣	المجموع	٨	%٨٠

سجلت الدراسة الحالية نسبة الاصابة بالذكور اكثر من الاناث

. جدول (٧) مصادر الاصابة ببكتيريا *P. aeruginosa* حسب الفخذين

مصدر الاصابه	اللحم المحلي	اللحم المستورد
	١(١٠%)	1(10%)
المجموع الكلي	١(10%)	1(10%)

حيث بينت الدراسه الحاليه لعينات اللحم انه لم تظهر أي حساسيه اتجاه اغلب مضادات عدا مضاد ت Aminoglycosides

٤-٥: اختبارالحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic Susceptibility Test

تم اختبار حساسية ١٠ مضاداً حيوياً والمذكورة في الجدول تجاه بكتيريا *P. aeruginosa*, اذ اختيرت هذه المضادات لشيوع استعمالها في معالجة بعض الأخماج الناتجة عن الإصابة ببكتيريا *P. aeruginosa* والجدول (٦) يوضح نسب المقاومة والحساسية وما بينهما لهذه البكتيريا تجاه المضادات المستعملة .

جدول (٨) النسب المئوية لعزلات *P. aeruginosa* المقاومة للمضادات الحيوية

ت	L	Cn	Ak	E	B	Azm	C	N	Prl	Ra
العينه ١	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
العينه 2	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R
العينه٣	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R
العينه ٤	R	S	R	R	R	S	R	R	R	R
العينه ٥	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
العينه ٦	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R
العينه٧	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R
العينه ٨	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
العينه ٩	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R
العينه ١٠	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
النسبة المئوية	١٠٠%	٦٠%	٣٠%	١٠٠%	١٠٠%	٤٠%	١٠٠%	٧٠%	١٠٠%	١٠٠ %

جدول رقم (٩) أسم وتركيز المضاد

ت	رمز المضاد	تركيز المضاد	اسم المضاد
-١	L	10	Lincomycin
-٢	Cn	30	Gentamicin

٣-	Ak	10	Amikacin
٤-	E	15	Erythromycin
٥-	B	10	Bacitracin
٦-	Azm	15	Azithromycin
٧-	C	10	Chloramphenicol
٨-	N	30	Neomycin
٩-	Prl	30	Piperacillin
١٠-	Ra	5	Rifampin

وجد انه افضل المضادات التي استخدمته Amikacinو Azithromycin وبنسبة مقاومه (٣٠) و(٤٠) على التوالي

الاستنتاجات :

١- اظهرا الدراسة انه بكتريا ***P. aeruginosa*** مسؤاله عن اخماج التهابيه مختلفة في مستشفيات الديوانية

٢- أبدت العزلات البكتيرية مقاومة عالية للمضادات الحياتية

المستخدمة في الدراسة باستثناء مضادات الامينو كلايكوسيد ,ومضاد Azithromycin الذي استجابت له اغلب لعزلات البكتيرية.

٣-وجده تلوث جرثومي كبير في اللحم البقري المحلي والمستورد المتداول في مدينة الديوانية مما يعد هذا اللحم احد مسببات نقل الامراض بين الناس.

التوصيات

١- عدم الاستخدام العشوائي لمضادات دون استشارة الطبيب المختص وعدم استخدام مضادين مختلفين في مقاومتهم لبكتريا احدهم قاتل والاخر مثبط

٢- اجراء المزيد من الدراسات لهذا البكتريا المتطبعة والمقاومة لكثير من المضادات وخصوصا ان هذا البكتريا مسببه التهابات مختلفة

٣-ضرورة اجراء المسح الدوري للمستشفيات لمعرفة و تحديد مصادر التلوث البكتيري ومعرفة مستويات المقاومة للمضادات الحيوية

٤ضرورة تشديد الرقابة الصحية على المجازر المحلية والمنافذ الحدودية واجراء الفحوصات الازمه .

المصادر العربية :

- الدباغ, نبراس نصر الله (١٩٩٨)عزل وتشخيص العزلات البكتريه المسببة لالتهابات المجاري البوليه لدى اطفال محافظة بابل .اطروحة ماجستير.كلية العلوم-جامعة بابل

- لربيعي , عمر حسين حران (٢٠١١).التحري عن جينات المقاومه لمضادات البيتا لاكتام من البكتريا المعزولة من بعض الاصابات السريرية في محافضة الديوانيه

-الخفاجي ,فراس حميد (١٩٩٣)دراسه سريرية واحيائيه لالتهاب الاذان الوسطى القيحي المزمن .رسالة ماجستير .رساله مقدمة الى كلية الطب وهيئة الدراسات العليا في جامعة بغداد

-الشيباني.انتصار ناظم خلخال.(٢٠٠٤)دراسه بكتريولوجيه للانواع التابعه السيدوموناس المعزولة من مستشفيات في بغداد وتأثير بعض العوامل عليها.رسالة دكتوراه .كلية العلوم-الجامعة المستنصريه

-الصكر ,رباب قاسم .(٢٠٠٠)دراسه عن بعض البكتريا الهوائية المقاومه للمضادات الحيوية المعزولة من مرضى المصابين بالتهاب الاذان الوسطى .رسالة ماجستير.كلية العلوم –جامعة بغداد

-بلال , الهام جواد كاظم. (٢٠١٠). التحري عن بعض إنزيمات البيتالاكتاميز في العزلات السريرية لبكتيريا الزوائف الزنجارية في مدينة النجف . رسالة ماجستير , كلية التربية للبنات - جامعة الكوفة

-حران , عمر حسين. (٢٠١٢). التحري عن جينات المقاومة لمضادات البيتالاكتام من البكتيريا المعزولة من بعض الإصابات السريرية في محافظة الديوانية . رسالة ماجستير , كلية العلوم - جامعة القادسية .

-داخل,زينب فالح (٢٠١٥). التحري عن بعض الجينات المقاومة للامينوكلايكوسيدات والكينولينات في بكتريا Pseudomonas aeruginosa المعزولة من مصادر سريرية مختلفة في مدينة الديوانية. رسالة ماجستير ,كلية العلوم – جامعة القادسية.

سالم , رنا مشعل. (٢٠١٤). انتشار انزيمات البيتالاكتاميز نوع OXA بين بكتيريا الزوائف الزنجارية والمعزولة من مشستشفيات محافظة الديوانية . رسالة ماجستير , كلية العلوم - جامعة القادسية.

-قاسم , خالد وليد (٢٠٠٦).تأثير بعض العوامل الكيميائية و الفيزيائية في حساسية بكتيريا *P. aeruginosa* المعزولة محليا لمضادات الحياة .رسالة ماجستير , كلية العلوم - جامعة بغداد.

References

- **Abdul-Wahid,** A.A.(2014). Dissemination of Aminoglycosides Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in Al-Nasseryia Hospitals. M.Sc. Thesis. College of Medicine. University of Kufa.
- **Akingbade**, O. A.; Balogun, S. A.; Ojo, D. A.; Afolabi, R. O.; Motayo, B. O.; Okerentugba, P. O. and Okonko, I.O.(2012). Plasmid profile analysis of multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from wound infections in South West, Nigeria. World Appl Sci J, 20(6):766 775.
- **Akinloye**, O. ;Ogbolu, D.O.;Akinloye, O.M. and Terry A.O.A. (2006) .Asymptomaticbacteriuria of pregnancy in Ibadan, Nigeria: a reassessment.Br.J

  Altoparlak, U., Aktas, F., Celebi, D., Ozkurt, Z. & Akcay, M. N. (2005). Prevalence of metallo-beta-lactamase among Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii isolated from burn wounds and in vitro activities of antibiotic combinations against these isolates. Burns 31, 707-710.

- **Brown,** A . (2007). Bensons Microbiological application laboratory manual in general microbiology . McGraw –Hill Co.INC. USA . P:102 -263.

- **Brown**,2005(Application microbiology

- **Castang**, S.; McManus, H. R.; Turner, K. H.and Dove ,S. L. (2008). H-NS family members function coordinately in an opportunistic pathogen. Proc Natl Acad Sci U S A 105, 18947–18952 10.1073/pnas.0808215105.

- **CDC** (Centers for Disease Control and Prevention) (2001). Methicillin -resistant Staphylococcus aureus skin of soft tissue infection in a state prison –Mississippi,2000.Morb.Mortal.Wkly.Rep.,50: 919-922.

- **Fariñas,** MC. Martínez-Martínez, L.(2013). Infecciones causadas por bacteria gram negativas multirresistentes: enterobacterias, *Pseudomonas aeruginosa*, Acinetobacter baumannii y otros bacilos gramnegativos no fermentadores. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. 2013;
- **Gad,** G. F.; El-Domany, R. A.; Zaki, S. and Ashour,H. M. (2007). Characterization of Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical and environmental samples in Minia, Egypt: prevalence, antibiogram and resistance mechanisms . Journal of Antimicrobial Chemotherapy., 60: 1010-1017.
- **Goycoolea,** M. and Ruah, L.(١٩٩١) .Definitions and Terminology .Otol Clin.of North Am .,٢٤:٧٥٧- 761.
- **Hassan**, K. I. ; Rafik, S. A. and Mussum, K.(2012). Molecular identification of Pseudomonas aeruginosa isolated from Hospitals in Kurdistan region., Journal of Advanced Medical Research Vol.2 No.3, 90-98.
- **Livermore,** D.M.(2012). Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram- Negative Pathogens. Korean J.Intern Med.27(2): 128 142.
- **MacFaddin,** J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA.
- **Magdy,** M. Afifi, I.I.A. Suelam, M.T.A. Soliman and El-Gohary M.G.S.(2013). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Pseudomonas aeruginosa Isolated from Environmental and Clinical Samples in Upper Egypt., International Journal of Biological Chemistry. 7 | (2): 47-57.
- **Magnet**, MD. M. H.; Arongozeb, MD.; Khan,G. M.; and Ahmed, Z. (2013). Isolation and identification of different bacteria from different

types of burn wound infection and study their antimicrobial sensitivity pattern. International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences., 1(3) :125-132.

- **Muller**, M. Li. Z.and Maitz P.KM. (2009). Pseudomonas pyocyanin inhibits wound repair by inducing premature cellular senescence: Role for p38 mitogen-activated protein kinase. Burns. 35: 500-508.
- **NCCLS** (National Committee for Clinical Laboratory Standards) (2003). Performance standards for disks susceptibility testing; approved standard, 6th ed. PP: 100-113, Wayne, Pannsylvannia, USA.
- **Peng**, Y.;Bi, J.;Shi, J.;Li,Y.;Ye, X.; and Chen, X.(2014). Multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa infections pose growing threat to health care-associated infection control in the hospitals of Southern China:a case-controlsurveillancestudy. Am.J.Infect.Control 42, 1308–1311.
- **Pruitt**, B.A.; McManus, A.T.; Kim, S.H.; and Goodwin, C.W. (1998).Burn wound infections: current status. World J Surg., 22: 135-145.
- **Selezska**, K. and Ukraine, K. (2010). *Pseudomonas aeruginosa* population structure revisited under environmental focus. der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina., 1-106.
- **Tavajjohi**, Z., Moniri, R. and Khorshidi, A. (2011). "Detection and characterization of resistance and extended spectrum β-lactamase producing (ESBL) Pseudomonas aeruginosa isolates in a teaching hospital". African J. Microbiol Res. 5(20): 3223-28.
- **Winn,** J. W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed., Lippincott–raven Publishers. Philadelphia, PP: 239–270. USA.
- **Worlitzsch** D., Tarran R., Ulrich M., Schwab U., Cekici A., Meyer K.C., Birrer P., Bellon G., Berger J., Weiss T. (2002).Effects of reduced

mucus oxygen concentration in airway Pseudomonas infections of cystic fibrosis patients. J. Clin. Investig.;109:317–325.

Abstract

The aim of the study was to isolate bacteria *pseudomonas* . isolated from different sources .(disease and *aeruginosa* unsatisfactory) .and knowledge of the extent of resistance to number of antibiotics in the for Discs diffusion method The collected (60) isolates from the hospitals and markets of province Diwaniyah in a row for the period from December 2016 to March 2017 and the results showed the . isolation of 10 isolates return to bacteria (8 isolates satisfactory and 2 food) Based on the tests of the vital and several tests and tests of the medical tests that the best antimicrobial effect on this (Amikacin) (bacteria is group less resistant Aminoglycosides 30%) and(40%) in a row the Azithromycin)Macrolides by (antibiotics related to influence the absolute Piperacillin and Rifampin,Bacitracin ,Erythromycin ,Lincomycin , Chloramphenicol by (100%)of resistance

Ministry of Higher Education & Scientific Research

University of AL– Qadisiyah/College of Science

Department of Biology

Isolation and idatpafication of *pseudomonas aeruginosa* *and* resistance *study of some antibiotics*

Research presented to the biology Sciences faculty of Sciences University of Qadisiyah as part of the requirements for a ‘ Bachelor of Sciences in biology Sciences

Prepared by the student

Salme Alrrawish hijab ghaly

Supervised by

Dr.Firas Sarhan Al-mayahi