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

مدى مقاومة بكتريا *Proteus Mirabilis* المأخوذة من حالات التهابية مختلفة في مدينة الديوانية

بحث مقدم من قبل الطـــــــالبة (لمياء علي عبد حسون) الى عمـــادة كلية العلوم – قسم علوم الحياة– الدراسة المسائية جامعـــة القادسية كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

باشـــــــراف
أ.م.د فراس سرحان عبد

١٤٣٨هـ

٢٠١٧م

بسم الله الرحمن الرحيم

يَا أَيُّهَا النَّاسُ اتَّقُوا رَبَّكُمُ الَّذِي خَلَقَكُمْ مِنْ نَفْسٍ وَاحِدَةٍ وَخَلَقَ
مِنْهَا زَوْجَهَا وَبَثَّ مِنْهُمَا رِجَالاً كَثِيراً وَنِسَاءً وَاتَّقُوا اللَّهَ الَّذِي
تَسَاءَلُونَ بِهِ وَالْأَرْحَامَ إِنَّ اللَّهَ كَانَ عَلَيْكُمْ رَقِيباً

صدق الله العلي العظيم

سورة النساء - الآية (١)

الإهداء

الى من سقاني من فيض علمه استاذي

د . فراس سرحان

الى من جرع الكأس فارغاً ليسقيني قطرة حب

الى القلب الكبير . . . والدي العزيز

الى من ارضعتني الحب والحنان

الى القلب الناصع بالبياض . . .والدتي الحبيبة

الى القلوب الطاهرة الرقيقة والنفوس البريئة . . . اخوتي

الى من احبهم من شغاف القلب . . . احبائي

اهدي هذا المجهود . . .

شكر وتقدير

ان الحمد والثناء اولاً واخيراً الى الله سبحانه وتعالى

لما منحني من القدرة في اتمام هذا البحث

واتوجه بالشكر الى اساتذتي الافاضل اصحاب الصدور الرحبة والمعلومات البينة والهمم العالية

وبالأخص الاستاذ الفاضل

(د. فراس سرحان عبد)

الذي بذل وقته معي في اتمام هذا البحث

واخيراً كما بدأت فان الشكر لله فهو نعم الباري

وهو نعم المعبود ...

الباحث

المحتويات

ت	العنوان	رقم الصفحة
	العنوان	أ
	الآية القرآنية	ب
	الاهداء	جـ
	الشكر والتقدير	هـ
	المحتويات	د
	الخلاصة	
	المقدمة	
	المواد وطرائق العمل	
	النتائج والمناقشة	
	الاستنتاجات	
	التوصيات	
	المصادر	

الخلاصة Summary

هدفت الدراسة الى عزل وتشخيص بكتريا *proteus mirabilis* الماخوذة من حالات التهابية مختلفة في مدينة الديوانية ومعرفة مدى مقاومتها تجاه عدد من المضادات الحيوية٠اذ جمعت عينات خلال المدة من ٢٥- ١٢ – ٢٠١٦ لغاية ١٥- ٣- ٢٠١٧ أربعون عينه من مستشفيات مدينة الديوانية وقسمت العينات بحسب مصادر جمعها الى مجموعتين : عينات إدرار (٢٦) , مسحات حروق (١٤) وشخصت اعتمادا على الاختبارات الكيموحيوية اذ ظهرت النتائج وجود ٧ عزلات لهذة البكتريا في الادرار و ٣عزلات في الحروق. اختبرت حساسية عزلات*proteus mirabilis* تجاه ١٠ انواع من المضادات الحياتية بطريقة الانتشار بالاقراص العائد لست اصناف من المضادات الحياتية وجود مقاومة مطلقة (١٠٠%) لكل المضادات قيد الدراسة ما عدا مضادات مجموعة Aminoglycosides(Amikacin وGentamicin) اذ ابدت البكتريا لها مقاومة قليلة بلغت ٢٠% و٣٠% على التوالي.

المقدمة Introduction

تعد بكتريا *proteus* عصيات سالبة لصبغة كرام تحت المجهر . غير مكونة للسبورات ومتحركة (Abbott, 2007) تحتوي على (اهلاب) (fimbria) واسواط (Flagellates) وغير مكونة للكبسولة تنتج انزيم اليوريز (Urease) وتنتج كبريتيد الهيدروجين (H2S) وسالبة لفحص الاوكسيديز وموجبه لفحص احمر المثيل (Methyl red) كما تتميز بظاهرة العج(swarming) عندما تزرع على الوسط الصلب (Holt *et al.* , 1994) , كل انواع بكتريا المتقلبات تكون نتيجتها سالبة لفحص الاندول ماعدا *p. vulgaris* لذلك يعد فحص تفريقي بين *p. milarbilis* *p. vulgaris* , وذلك لكثرة تواجدها وتكون لون مستعمرات بكتريا المتقلبات على الوسط اكار الماكونكي اصفر باهت وذلك لعدم تخميرها لسكر اللالكتوز ولكنها تخمر كل من سكر الكلوكوز , السكروز, الكالكتوز). coker *et al.*, 2000; Abbott, (2007)

وتعد ايضا واحدة من أهم الأنواع البكتيرية السالبة لصبغة كرام التي تنتمي للعائلة المعوية ولهذه البكتريا أهمية كبيرة في تفشي العدوى المكتسبة من المستشفيات (Jacobsen & shirtliff, 2011 ; Armbruster .Nosocomial infections *et al.*, 2012) ولكونها بكتريا انتهازية لذا فهي تسبب الكثير من الاصابات المرضية عندما تتواجد في بيئاتها الطبيعية.

ان مقاومة عزلات هذة البكتريا ولا سيما المقاومات المتعددة للمضادات الحياتية Multi drug resistance(MDR) اصبحت مشكلة متزايدة مع الزمن بالاضافة الى انتاج انزيمات البيالاكتاميز واسعة الطيف الذي يكون متزامنا مع ذلك.

بكتريا *Proteus mirabilis* لها القدرة على انتاج مستويات عالية من يوريا (Urea) التي تحول اليوريا الى امونيا بحيث يجعل الادرار اكثر قلوية اذا تركت دون علاج فأن زيادة القلوية تؤدي الى تشكيل بلورات من نوع كاربونات الكالسيوم

يمكن العثور على البكتريا بالحجارة و(حصى الكلى) يمكن لهذه البكتريا الكامنة في حصى الكلى تجديد أعمال العدوى بعد العلاج من المضادات الحيوية مع مرور الوقت تنمو بما يكفي لتسبب انسداد الكلى و الفشل الكلوي ويمكن ايضا ان تسبب التهابات الجروح وتسمم الدم والالتهابات الرئوية ومعظمها في المرضى الراقدين في

المستشفيات (Armbruster *et al.*, 2012). ونظرا للمدى الواسع من مناطق الاصابة الذي تسببه هذة البكتريا وعوامل الضراوة ومقاومتها الكبيرة لانواع واصناف مختلفة من المضادات الحيوية ارتأينا ان نقوم بهذا العمل لتحقيق ما ياتي :

* عزل بكتريا *p. milarbilis* من مناطق التهابية مختلفة.

* تشخيص العزلات البكتيرية اعلاة اعتمادا على الاختبارات الكيموحيوية.

* التعرف على مدى مقاومة هذة البكتريا لعدد من المضادات الحيوية.

المواد وطرائق العمل materials and methods

materials : المواد

الاجهزة والادوات المختبرية Apparents Equipment

ت	اسم الجهاز	
١	ميزان الكتروني حساس	sensitive electronic balance
٢	حاضنة	In cubato
٣	ثلاجة	Refrigerator
٤	اطياف بتري بلاستيكية	Disposable petri dishes
٥	انابيب اختبار	Test tube

الاوساط الذرعيةالجاهزة Ready prepared media

ت	الاوساط الذرعية	الاستعمال
١	وسط اكار الماكونكي mac conkey agar	وهو وسط انتخابيا للبكتريا السالبة لصيغة كرام
٢	ماء البيبتون Pepton water	للتاكد من انتاج او عدم تكوين حلقة الاندول
٣	وسط السايمون ستريت Cimon citrate	للتاكد من تخمير السترات للبكتريا بوصفه مصدراً وحيداً للكاربون
٤	وسط المولرهنتون Muller hinton agar	الغرض منه هو في فحص حساسية البكتريا تجاه المضادات الحياتية
٥	وسط TSL	استخدم للتاكيد من انتاج كبريتيد الهيدروجين وتخميد السكريات الثنائية
٦	وسط المثيل الاحمر / فوكس بروسكاورMD\ VP	الكشف عن التحليل الجزئي او الكامل للسكريات

المواد لكيميائية المستعملة Chemical materials

ت	اسم المادة
١	كبريتيد الهيدروجين H2s
٢	الاندول
٣	Cimmancitrat

المضادات الحياتية Antibiotics

ت	صنف المضاد الحيوي	اسم المضاد الحياتي
١	Aminoglycoside	Gentamycin
٢	Polypeptides	Bacitracin
٣	Aminoglycoside	Neomycin
٤	Macrolides	Erythromycin
٥	Miscellaneous	Chloramphenicol
٦	Macrolides	Azithromycin
٧	Ansamycin	Rifampin
٨	Aminoglycoside	Amikacin
٩	B-Lactams-ESP	Piperacillin
١٠	Lincosamides	Lincosamycin

طرائق العمل methods

أ- تحضير الاوساط الذرعية culture media preparation

أ- وسط اكار الدم Blood agar medium

استعمل وسط اكار الدم المعقم والمحضر بحسب تعليمات الشركة المصنعة ، ثم برد الوسط لدرجة (50 -45) واضيف له (5%) دم الانسان صنف AB ومن ثم صبه في اطباق بتري معقمة وحفظ في الثلاجة لحين الاستعمال (macfaddin,2000)

ب- وسط اكار اليوريا Urea agar

استعمل وسط اكار اليوريا المعقم والمحضر بحسب تعليمات الشركة المصنعة بعدها اضيف (5) ملليتر من محلول اليوريا (20%) بعد تبريد الوسط في الحمام المائي لدرجة (50)م ووزع الوسط على انابيب وضعت بشكل مائل لتتصلب (deep slop) استعمل للتحري عن قابلية البكتريا على انتاج انزيم اليوريز .

ج: وسط الجيلاتين Gelatine agar

أُذيب (6) غم من الجيلاتين في (500) ملليتر من المرق المغذي ووزع في أنابيب زجاجية بواقع (5) ملليتر لكل أنبوبة ثم عقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة إلى حين الاستعمال استعمل الوسط للتحري عن العزلات القادرة على إسالة الجلاتين (Atlas *et al.*, 1995).

ب- تحضير المحاليل والكواشف

Solution and Reagents preparation

أ- المحاليل Solutions

- المحلول الملحي الفسلجي Solution normal saline

حضر بإذابة (0.85) غم من كلوريد الصوديوم (Nacl) في 90 ملليتر من الماء المقطر واكمل الحجم الى (100) ملليتر ثم عقم بالموصدة لمدة 15 دقيقة وحفظ بعد ذلك في درجة 4 م واستعمل هذا المحلول في تخفيف العالق واعداد اللقاح البكتيري المباشر في عند اجراء التجارب المختبرية (macfaddin ,2000)

- محلول ماكفلاند القياسي (0.5) macfarland Tube standard

حضر المحلول على وفق ما جاء في (2012) clsi وكالاتي :

أ) محلول كلوريد الباريوم المائي $Bacl_2 - 2H_2O$

حضر المحلول بإذابة1.175 غرام كلوريد الباريوم ($Bacl_2$) في 50 ملليتر من الماء المقطر المعقم واكمل الحجم الى 100 ملليتر للحصول على تركيز 0.048 مول/لتر.

ب) محلول حامض الكبريتيك h_2so_4

حضر المحلوب اضافة18 ملليتر من حامض الكبريتيك المركز ببطء الى 50 ملليتر من الماء المقطر المعقم واكمل الحجم الى 100 ملليتر للحصول على تركيز 0.18 مول/ لتر من H_2so_4 عند استعمال محلول ماكفرلاند مزج (0.5) ملليتر من محلول A مع (99.5) ملليتر من المحلول B للحصول على عدد تقريبي للخلايا البكتيرية بمقدار 10^8x1.5 خلية / ملليتر .

ب- الكواشف :

- **كاشف الاوكسيديز oxidase**

حضر الكاشف انياً عند الاستعمال باذابة (0.1) غم من (tetramethy1- pheny 1 DiamineDihydro chloride) ١٠مللتر من الماء المقطر وضع الكاشف في قنينة معتمة . استعمل هذا الكاشف للتحري عن قابلية البكتريا على انتاج انزيم الاوكسيديز (forbes et al , 2007)

- **كاشف الكاتليز catalase reagent**

استعمل بتركيز 3% من بيروكسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide) باذابة3غم من H_2O_2 في (100) ملليتر من الماء استخدم للتحري عن قدرة البكتريا على انتاج انزيم الكاتليز Collee , 1996( )

- **كاشف كوفاكس Kava'cs reagent**

حضر باذابة(5) غم من مادة para- Dimethyl Amino benzaldehde في 75 ملليتر من كحول ايزوبوبيليIsoamyacohol و ٢٥ ملليتر من حامض HCl المركز ، استعمل في اختبار انتاج الاندول (forbes et al , 2007)

- **كاشف احمد المثيل Reagent methyl red**

حضر الكاشف باذابة0.1 غم من صبغة احمر المثيل في 300 ملليتر من 95% كحول مثيلي واكمل الحجم الى (500) ملليتر باستعمال الماء المقطر (macfaddin 2000).

٣- جمع العينات Collection of Sample

تتضمن الدراسة الحالية ٤٠ عينة من الحالات السريرية خلال فترة من ٢٠١٦/١٢/٢٥ الى ٢٠١٧/٣/١٥ من المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية ومرضى الحروق باعمار مختلفة لكلا الجنسين من مستشفيات محافظة الديوانية شملت مستشفى الشامية العام ومستشفى عفك العام وكما حرص اثناء جمع العينات استخدام المسحات القطنية الحاوية على وسط نقل Transport media swabs في عملية جمع العينات لضمان حيوية العزلة ٠

٤- تشخيص البكتريا المعزولة Identification of isolated bacteria

- التحري عن السكريات الثلاثية Triple – sugar iron agar

استخدم هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتريا على تخمير سكريات (كلوكوز – سكروز – لاكتوز) لقحت الانابيب الحاوية على وسط kligers iron agar KIA بطريقة الطعن والتخطيط على السطح المائل بالمزروع البكتيري وحضنت الانابيب بدرجة حرارة 37 م لمدة 24 ساعة يعد تحول الوسط من الاحمر الى الاصفر في الجزء العميق نتيجة موجبة لتخمد سكر الكلوكوز بينما تحول لون الوسط ككل الى الاصفر نتيجة موجبة لتخمر سكر اللاكتوز والسكروز ايضاً انتاج راسب اسود دلالة على انتاج كبريتيد الحديدوز (كبريتيد الهيدروجين) اسفل الوسط الصلب وكذلك ظهور فقاعات غازية دلالة على انتاج غاز CO_2 (Mcfaddin, 2000)

- مجموعة اختبارات IMVIS المكونة من

١. اختبار انتاج الاندول Indol production test

يستخدم وسط ماء الببتون peptone water لتلقيح البكتريا المراد اختبارها في هذا الاختبار ثم حضنت الانابيب بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة بعد ذلك اضيف 0.5 ملليتر من كاشف كوفاكس kovacsreagent ترجع جيداً وان ظهور حلقة حمراء في اعلى الانبوبة دليل على ايجابية الفحص تبين قدرة البكتريا وخاصة *p. mirabilis* تتميز بقدرتها على انتاج حلقة لاندول تميزها عن باقي انواع جنس المتقلبات اذ تحلل الترنيوفان Tryptophan وتنتج الاندول (Mcfaddin, 2000)

٢. اختبار المثيل الاحمر Methyl red test

اجري هذا الاختبار بتلقيح الانابيب الحاوية على الوسط الزرعي MR.VPmedium بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد اختبارها وحضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24– 48 ساعة بعد الحضن اضيفت 5 قطرات من المثيل الاحمر وسجلت النتيجة الموجبة بظهور اللون الاحمر (collee *et al.* , 1996)

٣. فوكس –بروسكاور Voges–proskauer test

لقحت الوسط الزرعي MR.VP medium بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد اختبارها وحضنت بدرجة حرارة 37م لمدة 24– 48 ساعة بعد ذلك اضيف 0.6 ملليتر من الكاشف الفانفتول و 0.2 ملليتر من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الى كل انبوبة مع التحريك الهادئ ان ظهور لون وردي خلال 2.5 دقيقة دلالة على نتيجة موجبة (collee et al , 1996)

٤. اختبار استهلاك السترات Citrate utilization test

استخدم هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتريا لاستهلاك السترات اذا لقح وسط سيمون ستريت المائل بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد اختبارها وحضن بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة بعد تحول الوسط من الاخضر الى الازرق دلاتلة على استهلاك البكتريا للسترات على انه مصدر وحيد الكاربون (winn *et al.*, 2006)

ج- الكشف عن أنزيم اليوريز Urease test

لقح وسط اليوريا بطريقة الطعن والتخطيط . حضنت الانابيب بدرجة (37) مْ ولمدة من 24-48 ساعة. ان النتيجة الموجبة لهذا الفحص هو تغير لون الوسط من اللون الاصفر إلى الوردي دلالة على تحلل اليوريز من قبل البكتريا (Benson ,2002) .

د- الكشف عن انزيم الجلاتينيز Gelatin liquification test

يستخدم للكشف عن قدرة البكتريا على انتاج انزيم الجيلاتينيز(Gelatinase) الذي يعمل على إسالة الجيلاتين اذ لقحت انابيب الوسط بطريقة الطعن وحضنت . تم التأكد من الفحص عن خلال إسالة الجيلاتين بعد وضع الوسط في الثلاجة (٤) مْ مدة نصف ساعة ، إنّ حدوث التميع يشير الى فعالية الانزيم (Collee *et al*., 1996) .

٤- اختبار فحص الحساسية Antibiotic Susceptibility testing

اخذت 10مللمترات من بكتريا *proteus* وخططت على وسط مولد هنستون الصلب بطريقة التخطيط اكثر من مروة وباتجاهات مختلفة وتركت الاطياف 5 دقائق في درجة حرارة الغرفة لضمان امتصاص الرطوبة ثم وضعت اقراص المضادات الحيوية وحضنت الاطياف في 75م لمدة 24 ساعة لجميع انواع المضادات الحياتية قرأت النتائج بقياس اقطار التثبيط باخذ قطرين متعامدين وقورنت النتائج مع قياسات عالمية بحسب ما جاء في (CLSI ,2012)

٥- حفظ العزلات البكتيرية وادامتها

Preservation and Maintenance of Bacterial Isolates

- **الحفظ قصير الأمد**

حفظت عزلات الـ *P.mirabilis* بنقل مستعمرة واحدة الى مائل الاكار المغذي وحُضنت في درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة، ثم حفظت بدرجة 4 مْ مع مراعاة تجديد حيوية العزلات (Forbes *et al.*, 2007).

- **الحفظ طويل الأمد**

حفظت العزلات مدة أطول ومن دون تعرضها لفقدان بعض صفاتها الوراثية بأستخدام الوسط المغذي السائل المدعم بالكليسيرول بتركيز نهائي(15%) (Forbes *et al.*, (2007.

النتائج والمناقشة Result and Discussion

- **النتائج : Results**

جمعت ٤٠ عينة من الحالات السريرية في مختبرات مستشفيات مدينة الديوانية خلال المدة من كانون الاول ٢٠١٦ ولغاية اذار ٢٠١٧ اذ اخذت العينات عشوائياً للتحري عن بكتريا *proteus mirabilis* من مرضى التهاب المجاري البولية و مرضى الحروق وبواقع ٢٦ عينه و١٤ مسحه على التوالي . اظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية وجود ١٠ عزلات عائدة لهذة البكتريا ٧ الادرار من و٣ من الحروق جدول (٤-١).ويمثل جدول (٤-٢) نتائج الاختبارات الكيموحيوية لعزلات بكتريا *proteus mirabilis*. يعد النوع *p.mirabils* الثاني من بعد بكتريا *E .coli* في احداث التهاب القناة البولية وتكثر الاصابة بها في المرضى الراقدين في المستشفيات وايضاً المستخدمين للنشاط البولية لفترات طويلة (Nielubowiez and mobely, 2010) ويعد النوع *p.mirabils* اكثر انواع جنس المتقلبات تواجد في القناة البولية والاكثر تكراراً في احداث التهابات المسالك البولية (Jacobson, 2008)

جدول (١-١) توزيع معدلات p. mirabilis حسب الجنس من الحالات السريرية المختلفة

مصدر / جنس	الادرار	الحروق
الاناث	٥	١
الذكور	٢	٢
المجموع	٧	٣

جدول (١-٢) نتائج الاختبارات الكيموحيوية لعزلات بكتريا *proteus mirabilis* .

Test	Gram-negative bacilli	Indole	Methyl red	Vogas-Proskaur	Citrate utilization	Motility	Urease	TSI (K/A+G)	H_2S production	Oxidase	Catalase
Result	+	-	+	-	-	+ swarming migration	+	+	+	-	+

جدول (٣-١) عزلات *p. mirabilis* حسب الجنس والعمر من الحالات السريرية المختلفة

جنس / فئات عمرية	الاناث	الذكور	المجموع
١٠ ــ ٢٠	٢	٤	٦
٢١ ــ ٣١	٢	٢	٤

اظهرت نتائج اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية **Antibiotic sensitivity test** وجود مقاومة مطلقة (١٠٠%) لكل المضادات قيد الدراسة ما عدا مضادات مجموعة Aminoglycosides(Amikacin وGentamicin) اذ ابدت البكتريا لها مقاومة قليلة بلغت ٢٠% و٣٠% على التوالي جدول (٤-٤) . المضادات الحياتية مركبات عضوية تنتج من قبل الاحياء المجهرية وبصورة طبيعية او قد تكون صناعية وتستطيع المضادات وبتراكيز قليلة قتل الاحياء المجهرية او تثبيطها (Bradford ,2001 ; Hodsom and kizior , 2003)

ويتركز عمل المضاد في جانبين الاول اعادة التكامل البنائي اذ يمنع تكوين كل من الجدار الخلوي والغشاء البلازمي والاخر يعيق الايض الوظيفي مثل اعاقة تكوين البروتين والاحماض النووية وحامض الفوليك (malion and manhselis (1995

جدول (٤-١) النسب المئوية لعزلات بكتريا *p. mirabilis* المقاومة للمضادات الحياتية

انواع المضادات الحياتية	الرمز	S %	R %	النسب المئوية للمقاومة %
Gentamicin	Gn	7	3	30
Bacitracin	B	0	10	100
Neomycin	NMC	0	10	100
Erythromycin	ETM	0	10	100
Chloramphenicol	CLM	0	10	100
Azithromycin	ATM	0	10	100
Rifampicin	RF	0	10	100
Lincomycin	LMC	0	10	100
Amikacin	AKC	8	2	20
Piperacillin	PRC	0	10	100

استخدم اختبار فحص الحساسية للمضادات الحياتية والبالغة ١٠ مضاداً حياتياً ، حيث اختبرت هذه المضادات لكثرة استخدامها وتداولها صحياً في معالجة بعض الاخماج الناتجة عن الاصابة ببكتريا *P. Mirabilis* والجدول (٤-٤) يوضح نسب المقاومة والحساسية وما بينهما لبكتريا المتقلبات تجاة المضادات المستخدمة خلال الدراسة اذ اعتمد على نتائج الفحص (قياس قطر منطقة التثبيط حول قرص المضاد) ومقارنتها مع الجداول القياسية (CLSI , 2012) وذلك لتعرف على مدى قابلية البكتريا على مقاومتها للمضادات الحياتية التي يكثر استعمالها في مستشفيات مدينة الديوانية وخطورة هذه المقاومة التي امتد ليشمل طيفاً واسعاً من المضادات الحياتية المتنوعة .

وسجلت النتائج للدراسة الحالية نسبة المقاومة لبكتريا *P. Mirabilis* لمضاد الجنتاميسين في الدراسة الحالية فقد بلغت 30% اذ تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه Senthamarai *et al.* (2016)

الى 3-Acetoxychloram phenicol والذي بدورة يتحول الى

1-3 Acetoxychloram

سجلو نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الجنتامايسين في الدراسة الحالية فقد بلغت 33.33%, أذ تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل الية Senthamarai وجماعتة (2015) أذ سجلوا نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الجنتامايسين 28.9%, أما الباحثان Zuhir & Alaubydi (2016) فسجلا نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الجنتامايسين 53.2 % , اما Ahmed (2015) سجل نسبة مقاومة مرتفعة البكتريا لمضاد الجنتامايسين عن الدراسة الحالية 65% , بينما سجل الباحث Perween وجماعتة (2016) بنسبة مقاومة عالية للبكتريا 88.7 % , في حين سجل الباحثOjdana وجماعتة (2014) نسبة مقاومة 100 %. تقاوم البكتريا الأمينوكلايكوسيدات المتمثلة بمضاد الاميكايسين وجنتامايسين عن طريق حدوث تغير في موقع الهدف (30S) من الرايبوسوم حيث تحدث طفرة في الموقع (30S) مؤدية الى قلة نفاذية جزئيات المضاد عبر الغشاء. (Guven,2004) . او عن طريق انظمة الدفق الفعالة أوتحوير نفاذية الجدار الخارجي هذا يؤدي الى تحوير جزيئية المضاد وتؤدي الى فقدان فعاليته (Aghazadeh *et al* ., 2014).

أما مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الكلورامفينيكول فكانت بنسبة ١٠٠%, تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة الباحث السعدي ٢٠١٦ بنسبة ٨٢,٦٠% اما الباحثان Zuhir&Alaubydi (2016) سجلا نسبة مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الكلورومفينكول 62.5 %. اما Felgo (2010) فسجل نسبة مقاومة البكتريا للكلورامفينيكول 65% , بينما الباحث Trivedietal وجماعتة (2016) وجد بأن البكتريا حساسة بصورة كاملة لمضاد الكلورامفينيكول وبنسبة 100 %. يعمل لمضاد الكلورامفينيكول على منع تصنيع البروتين من خلال ارتباطة مع الوحده الرايبوسومية 50S يمنع بذلك تكوين الاصرة الببتيدية وذلك عن طريق الانزيمات Chloramphenicol acetyl transferase التي تعمل على تحويل المضاد الى 3-Acetoxychloramphenicol والذي بدوره يتحول الى 1-3- Diacetoxychloramphnicol وهذه النواتج المشتقه تكون غير فعالة كمضادات حياتية وذلك بسبب فشل ارتباطها بالوحده الرايبوسومية 50S (Fluit *et al*., 2001).

أمـا مقاومــة بكتريـا *P.mirabilis* لمضــاد الريفــامبين فكانــت بنســبة ١٠٠% , تقاربـت نتــائج الدراســة الحاليــة مــع دراســة الســعدي نســبة مقاومتــه لبكتريــا الريفــامبين نســبة ٩١%بمـــا ســـجل الباحثـــان Zuhir&Alaubydi (2016) أذ ســـجلا نســـبة مقاومـــة البكتريـــا لمضـــاد الريفـــامبين 93.7 %. بينمـــا ســـجل الباحـــث Al- Saedi وجماعتـــه (2013) نســبة مرتفعــة عــن النســب الحاليــة أذ كانــت مقاومــه هــذه البكتريــا لمضــاد الريفــامبين 100% . يقــع مضــاد Rifambin ضــمن مجموعــة الــIsoniazid التــي تعمــل علــى تثبــيط نمــو الخلايــا البكتريــة عــن طريــق التــداخل وبقــوة مــع أنــزيم البلمــرة DNA-dependent RNApolymerase أذ عنـــد اتحـــاده مـــع هـــذا الانـــزيم فـــي الموقــع المتواجــد علــى DNA مؤديــا الــى ايقــاف عمليــة الاستنســاخ الــ RNA (Fluit *et al*., 2001) .

الاستنتاجـــــات **Conclusions**

١- أظهــرت الدراســة الحاليــة الــدور الاساســي لبكتريــا *P.mirabilis* فــي عــدوى المستشفيات ومسؤوليتهاعن الاخماج المرضية المختلفة في هذه مستشفيات.

٢- أبـــدت معظـــم عـــزلات بكتيريـــا *P.mirabilis* قيـــد الدراســـة صـــفة تعـــدد المقاومـــة XDR, PDR , MDR , أذ كانـــت العـــزلات اغلبهـــا ذات مقاومـــة متعـــددة ممـــا يشكل خطراً و تحدياً علاجياً كبيراً .

٣- أظهـــــرت النتـــــائج أن المضـــــادين Ciprofloxacin و Meropenem همـــــا الافضل فعالية تجاه بكتيريا *P.mirabilis*.

٤- الانتشـار الكبيـر لجينـات المقاومـة ***bla**$_{TEM}$* لمضـادات البيتـالاكتم ***bla**$_{TEM}$*-177 , ***bla**$_{TEM}$*-160 , ***bla**$_{TEM}$*-156 , ***bla**$_{TEM}$*-89 , ***bla**$_{TEM}$*-72 , ***bla**$_{TEM}$*-3 , ***bla**$_{TEM}$*-1 . بـــين عـــزلات بكتيريـــا *P.mirabilis* , أذ كانـــت المورثـــة ***bla**$_{TEM}$ -177* هي الاكثر تواجداً.

٥- أظهـرت نتـائج الشـجرة الوراثيـة تشـابه جينـات المقاومـة البيتالاكتـاميز ***bla**$_{TEM}$* للعـزلات بكتيريـا *P.mirabilis* المحليـة مـع العـزلات العالميـة (القياسـية) فـي بنـك الجينات NCBI.

٦- تسـجيل جديـد لتتـابع جينـي (squencer) لجـين المقاومـة البيتالاكتـاميز نـوع *bla TEM -3* بـين عـزلات بكتيريـا *P.mirabilis* علـى المسـتوى المحلـي والعـالمي بأستخدام جهاز AB DNA sequencing system .

التوصيات Recommendations

١- يجب اجراء فحص دوري للمستشفيات في مدينة الديوانية لتحديد مصدر التلوث البكتيري وتحديد مستوى المقاومة للمضادات الحياتية .أذ كانت , XDR MDR, أو PDR.

٢- أستعمال تقنية الـPCR للتحري عن كافة انواع انزيمات المسببة للمقاومة للمضادات الحياتية ولا سينما أنزيمات البيتالاكتاميز واعتماد هذه الطريقة في البحوث كونها ذات نتائج موثوقة ولاسيما تقنية الـ Multiplex PCR.

٣- اجراء المزيد من الدراسات على بكتيريا *P.mirabilis* بأستخدام تقنية حديثة مثل Real time PCR في الكشف عن التعبير الجيني لانزيمات المقاومة لحلقة البيتالاكتم.

٤- استخدام تقنية الشجرة الوراثية للعزلات التي تمتلك مقاومة متعددة للمضادات الحياتية وذلك للكشف عن العزلات التي تحمل جينات مقاومة جديدة على المستوى المحلي والعالمي.

المصادر

- A Bahashwan ,s (2013) . Antimicrobial resistance patterns of protens isolates form clinical spaceiment .
- Brooks G.f : carroll , k.c , Butel , J.s and more ,S.A ,2007 ,Jawets , Melnick , Adelberg's medical microbiology .
- Malion , C –R and Mannselis G(1995) . text book of Diagnostic microbiology .w.B . Sanders company .
- Singh .v sharma ,l ; Kanta ,R ; sharma , S ; Chanhan , S, and chanhan , p.t (2010). Antimicrobial activity of protens bacteria isolated form raw milk of paonta valley .
- Malion , C.R and Manuselis G (1995) , text book of Diagnostic microbiology.
- Jacobsen , s.m ; sticker , D.J ; Mopley , H.L.T and shirtiff M.E 2008 complicated catheter . associated urinary tract infection due to Escherichia coli and protens mirabilis .
- Senthamarai s. sivasankari , s; Antha , c; khmudavathi , Ms; Amshava thani , sk ; venugopal , v ; and the nmochi valli ; p R (2015) . A study on the antibiotic susceptibility pattern of protens spp among varions samples .
- Thomas L.C (2007) Genetic methods for rapid dedication of medically important nosocomial bacteria . faculty of medicine department of medicine .