جمهورية العراق

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية – كلية العلوم

قسم علوم الحياة

وجود البكتيريا السالبة الغير مخمرة لسكر اللاكتوز من عينات الحروق ومدى مقاومتها لبعض المضادات الحيوية

بحث مقدم إلى مجلس قسم علوم الحياة / كلية العلوم

وهو من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس / علوم الحياة

اعداد الطالبة

رباب رضا علوان

بإشراف

أ . م . د . فراس سرحان المياحي

١٤٣٩هـ

٢٠١٨ م

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَٰنِ الرَّحِيمِ

﴿لَا يَسْتَوِي أَصْحَابُ النَّارِ وَأَصْحَابُ الْجَنَّةِ أَصْحَابُ الْجَنَّةِ هُمُ الْفَائِزُونَ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة الحشر الآية (٢٠)

" الاهـــــــــــــداء"

أهدي هذا البحث ..."

إلى البلسم الذي يداوي جراحي .... إلى من احببت شمعة حياتي

إلى سندي في رحلتي العلمية التي دامت سنوات

والدي العزيز

إلى من أرضعتني الحب والحنان .... إلى القلب الناصع بالبياض

إلى سندي وقوتي وملاذي بعد الله

والدتي الحبيبة

إلى من سقاني من فيض علمه استاذي

أ. م. د. فراس سرحان المياحي

"الـشـكـــروالـتـقـديـــر"

اتقدم أولاً وأخيراً بالشكر الى الله عز وجل الذي وفقني في انجاز هذا البحث.

واتقدم بالشكر إلى اساتذتي الافاضل في قسم علوم الحياة وبالأخص استاذي الفاضل:

" أ.م. د. فراس سرحان المياحي "

وإلى من شقوا على تربيتي وتعليمي ... " أبـــي وأمـــي " .

وإلى طالبة الدراسات : " راويـــة" التي بذلت وقتها معي في اتمام هذا البحث .

وأخيراً كما بدأت فإن الشكر لله فهو نعم الباري ونعم المعبود.

الخلاصة Abstract

الهدف من هذه الدراسة عزل وتشخيص البكتيريا السالبة الغير مخمرة لسكر اللاكتوز من حالات مرضية مختلفة ومعرفة مدى مقاومتها تجاه عدد من المضادات الحيوية. في دراسة شملت عدد من المستشفيات في مدينة الديوانية حيث جمعت (٦٢) عينة سريرية مختلفة خلال فترة من / ١٣ تشرين الثاني / ٢٠١٧ الى / ٢٧ كانون الاول / ٢٠١٨ حيث زرعت ونميت هذه العينات على اوساط macConkey agar واجريت عليها الاختبارات الكيموحيوية والفحص المجهري والفحص المضهري لغرض تشخيصها وكانت نتائج الزرع ل (٦٢) عينة (٢٠) عينة لم تعطي نمو (٤٢) عينة اعطت نمو وأن العينات التي اعطت نمو ظهر منها (٢٢) عينة مخمرة لسكر اللاكتوز و(٢٠) عينة غير مخمرة السكر اللاكتوز حيث تم تشخيص (١٢) عزلة من بكتريا pseudomonas aeruginosa (٨) عزلات من بكتريا proteus mirabilis بعدها اجريت فحص الحساسية لستخدام (٧) اقراص من المضادات الحيوية بطريقة انتشار الاقراص على سطح وسط muellerhinton اذ اظهرت نتائج الفحص الحساسية بطريقة الأنتشار بالأقراص اذ اعطى المضاد Gentamicin,Ciprofloxacin اعلى نسبة تثبيط لنمو البكتريا اما مضاد (Amikacin,Impenem,Amoxicellin,Ampicililn,Chlorampenicol) اذا اعطت اقل نسبة تثبيط لنمو البكتريا أذ بدت البكتريا مقاومتها العالية اتجاهها

المقدمة *Introduction*

لقد أصبح تلوث الحروق شائعاً بالأنواع البكتيرية المستعصية في ردهات الحروق وقد أدى الى ارتفاع نسبة الوفيات بين مرضى الحروق (Weller *et al.*, 1997).

تهاجم بعض البكتيريا الخلايا الجلدية من خلال ارتباطها بمواقع الاتصال بالبشرة (Dale & Federman, 2003)، كما يمكن ان تدخل البكتيريا عن طريق بصيلات الشعر والغدد الدهنية او قناة الحلمة (Mims *et al.*, 1993). في البداية تكون البكتيريا معقمة إلا أنها بعد ساعات قليلة تتطور إلى اخماج مختلفة (Rook *et al.*, 1968) حيث تصبح البكتيريا السالبة لصبغة كرام هي السائدة وغالباً ما تكون *Pseudomonas*(Polk, 1982). تمتلك الانواع البكتيرية عوامل ضراوة لها دور اساسي في زيادة امراضيتها ومنها انتاج الهيمولايسين (Hemolysin) وهو انزيم ذو طبيعة بروتينية يفرز من أنواع عديدة من البكتيريا السالبة (Benz *et al.*, 1989).

بكتيريا *Pseudomonas*

تعد بكتيريا *Pseudomonas*بكتيريا سالبة لصبغة كرام منتشرة بكثرة يمكن ان تسبب امراض عند الحيوانات والبشر أيضاً. حيث تعتبر موجبة للسترات وموجبة لاختبار الاوكسيديز. كما أنها تحتوي انزيم الكتليز (Catalase) ، تتواجد بكتيريا *Pseudomonas* في التربة والمياه والنباتات والجلد ومختلف النبات سواء كانت طبيعية او البيئات التي من صنع الانسان، كما تتواجد ايضاً في جميع انحاء العالم.

تتغذى على مجموعة واسعة من المواد العضوية ، تمتاز بأن لها امكانيات متعددة ، فعند اصابتها للكائن الحي تدمر انسجته وتصيب الكائنات التي تعاني من نقص المناعة. ومن اعراض مرضى بكتيريا *Pseudomonas*التهاب معمم وتعفن الدم. ويمكن ان تكون قاتلة اذا كان انتشارها يحدث في اجهزة الجسم الحيوية (Balcht *et al.*, 1994) ، يمكن لهذه البكتيريا ان تتواجد في المعدات الطبية مثل انبوب القسطرة نظراً لأنها تتغذى على السطوح الرطبة لذلك تعتبر من الاخماج الشفوية.

تعتبر *Pseudomonas* عصيات سالبة لصبغة كرام ، هوائية ، متحركة بواسطة هدب وحيد قطبي (Ryan *et al.*, 2004). وهي من المسببات للأمراض الانتهازية عند الانسان والنباتات (Lglewski , 1996). يتم التعرف على هذه البكتيريا غالباً بالنسبة لظهور تقزح الالوان وظهور رائحة تشبه رائحة العنب.

تصنف هذه البكتيريا كـ كائن حي هوائي ، الكثيرون يعتبرون *Pseudomonas* هوائية اختيارية. يمكن لهذه البكتيريا ان تحقق نمو لاهوائي باستخدام النترات كما لهذه البكتيريا القدرة على تخمير الارجنين (Rander *et al.*, 1984; Palmerkl *et al.*, 2007) ، ومن اهم اجناسها*Ps.aeruginosa*.

تعد بكتيريا ***Ps.aeruginosa*** واحدة من المسببات التي تؤدي الى الاصابة بالاخماج المكتسبة، اشار Lode وجماعته (١٩٩٥) بأن هذه البكتيريا تحتل المدينة الثالثة بين عوامل الاصابة بالتهابات القناة التنفسية المكتسبة في المستشفيات.

ومن اهم الاصابات التي تحدثها بكتيريا *Ps.aeruginosa* لدى مرضى الايدز تجرثم الدم Bacteremia والتهابات القناة التنفسية والاذن الوسطى الخبيث (Vato *et al.*, 1996).

بكتيريا *Proteus*

تعد بكتيريا *Proteus* عصيات سالبة لصبغة، تعد هذه البكتيريا من اهم الانواع البكتيرية التي تنتمي للعائلة المعوية ولها اهمية في تفشي العدوى البكتيرية في المستشفيات (Jacobsen *et al.*, 2012).

تكون هذه البكتيريا غير مكونة للسبورات ومتحركة (Abbott, 2007) تحتوي على اسواط واهلاب، سالبة لفحص الاوكسيديز وموجبة لفحص أحمر المثيل تمتاز بكتيريا *Proteus* بظاهرة العج (Swarming) عند زراعتها على الوسط الصلب (Holt *et al.*, 1994). كما انها غير مكونة للكبسولة وتنتج انزيم اليوريز (Urease) وبالإضافة لذلك تنتج كبريتيد الهيدروجين (H_2S). يكون لونها على وسط الماكونكي اصفر باهت وذلك لعدم تخمرها لسكر اللاكتوز ولنها تخمر سكر الكلوكوز والسكروز والكالكتوز (Gkert *et al.*, 2000; Abbott, 2007).

وبكتيريا *Proteus mirabilis* لها القدرة على انتاج مستويات عالية من اليوريا التي تحول اليوريا الى امونيا بحيث يجعل الادرار اكثر قلوياً اذا تركت دون علاج، فإن زيادة القلوية تؤدي الى تشكيل بلورات من نوع كاربونات الكالسيوم. كما يمكن لهذه البكتيريا ان تسبب التهابات الجروح وتسمم الدم والالتهابات الرئوية ومعظمها في المرضى الراقدين في المستشفيات (Armbruster *et al.*, 2012).

ونظراً للمدى الواسع من مناطق الاصابة التي تسببه هذه البكتيريا وعوامل الضراوة ومقاومتها الكبيرة لأنواع واصناف مختلفة من المضادات الحيوية أتينا ان نقوم بهذا العمل لتحقيق ما يأتي:

* عزل بكتيريا *السالبة الغير مخمرة لسكر اللاكتوز من عينات الحروق*

* تشخيص العزلات البكتيرية اعتماداً على الاختبارات الكيموحيوية.

* التعرف على مدى مقاومة هذه البكتيريا لعدد من المضادات الحيوية وسبب المقاومة .

المواد وطرائق العمل *Materials and Methods*

١. المواد Materials

الاجهزة والادوات المختبرية Apparatus:

اسم المادة	الاسم العلمي
ميزان الكتروني حساس	Sensitive electronic balance
مسحة قطنية	Swab
عيدان خشبية	Chopstick wooden
مصباح بنزن	Lamp benzin
اطباق بتري بلاستيكية	Disposable petri dishes
حاضنة	Incubator
ثلاجة	Refrigerator
انابيب اختبار	Test tube

٢. الاوساط الزرعية الجاهزة Ready Prepared Media

الوسط الزرعي	الاسم العلمي
وسط الماكونكي اكار	MacConkey agar
وسط السايمون ستريت	Cimon citrate
وسط المولر هنتون	Muller hinton agar
وسط احمر المثيل/ فوكس بروسكاور	MD / VP
ماء الببتون	Pepton water
وسط كليكلر اكار	Kliger iron agar KIA

٣. المضاد الحياتي:

اسم المضاد الحياتي	رمزه	الشركة المصنعة	تركيزه /مايكرو كرام
Ampicillin	Am	MAST–Diagnostic–UK	25
Ciprofloxacin	CIP	MAST–Diagnostic–UK	5
Chloramphenicol	C	MAST–Diagnostic–UK	10
Amikacin	AK	MAST–Diagnostic–UK	10
Gentamycin	GN	MAST–Diagnostic–UK	30
Imipenem	IMP	MAST–Diagnostic–UK	10
Amoxicillin	AX	MAST–Diagnostic–UK	25

طرائق العمل Methods

١. المحاليل Solution

- المحلول الملحي الفسلجي Solution normal saline

نحضر بإذابة (٠,٢٥)غم من كلوريد الصوديوم (NaCl) في ٩٠ ملليتر من الماء المقطر ونكمل الحجم الى (١٠٠)ملليتر بعدها نعقم بالمؤصدة لمدة ١٥ دقيقة ونحفظها بعد ذلك في درجة حرارة 4C° وتستعمل هذا المحلول في تخفيف العالق البكتيري عند اجراء التجارب المختبرية (MacFaddin , 2000)

- محلول ماكفلايد القياسي (محلول ثابت العكورة القياسي) Macfarland Tube Standard

حضر وفقاً لما ورد في (Clsi C , 2012):

A. نحضر محلول كلوريد الباريوم المائي $BaCl_2-2H_2O$ بإذابة ١,١٧٥ غم من كلوريد الباريوم ($BaCl_2$) في ٥٠ ملليتر من الماء المقطر المعقم ونكمل الحجم الى ١٠٠ ملليتر.

B. نحضر محلول حامض الكبريتيك H_2SO_4

وذلك بإضافة ١٨ ملليتر من (H_2SO_4) المركز ببطء الى ٥٠ ملليتر من الماء المقطر المعقم ونكمل الحجم الى ١٠٠ ملليتر للحصول على تركيز ٠,١٨ مول / لتر من حامض الكبريتيك (H_2SO_4).

نضيف 0.5ml من المحلول (A) الى 99.5ml من محلول (B) ونرج المحلول بقوة مع الضغط في أنابيب محكمة الغلق في النظام وذلك للحصول على عدد تقريبي للخلايا البكتيرية بمقدار ١,٥ × $١٠^{٨}$ خلية / ملليتر عند اجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية.

٢. تحضير الأوساط Culture media Preparation

نحضر ونعقم الاوساط الزرعية الجاهزة (وسط اكار الماكونكي ، اكار المولر هنتون) حسب تعليمات الشركة المصنعة المثبته على العبوات مع ضبط الاس الهيدروجيني عند ٧ بإذابة ٣٨ غم /لتر.

٣. تحضير الكواشف :

- كاشف الاوكسيديز Oxidase

نحضر الكاشف بإذابة (٠,١)غم من (tetramethy 1–phenyl Diamine Dihydro Chloride) في ١٠ ملليتر من الماء المقطر المعقم و وضع الكاشف في قنينة معتمة. تستعمل الكاشف للتحري على قابليته للبكتيريا لانتاج انزيم الاوكسيديز (Forbes *et al.*, 2007)

- كاشف احمر المثيل Reagent methyl red

تحضير الكاشف بإذابة ٠,١غم من صيغة احمر المثيل في ٣٠٠ ملليتر من ٩٥ كحول مثيلي ونكمل الحجم الى ٥٠٠ ملليتر باستعمال الماء المقطر (MacFaddin, 2000).

- كاشف الكاتليز Catalase reagent :

نحضر بإذابة ٣غم من H2O2 في ١٠٠ مللتر من الماء يستخدم هذا الكاشف للتحري عن قدرة البكتيريا على انتاج انزيم الكاتليز (Collee, 1996).

- كاشف كوفاكس Kovac´s reagent

نحضر بإذابة ٥ غم من مادة (Para.Dimethyl Amino benzal dehyde) في ٧٥ ملليتر من كحول ايزوبوبيلي isoamyacohol و ٢٥مللتر من حامض الهيدروكلوريك المركز (HCL) تستعمله في انتاج الاندول (Forbes *et al.*, 2007).

٤. جمع العينات Collection of sample

جمعت (٦٢) عينة سريرية خلال الفترة من ٢٠١٧/١١/١٣ إلى ٢٠١٨/١/٢٧ لكلا الجنسين من مستشفيات محافظة الديوانية التي شملت مستشفى الديوانية التعليمي ومركز الحروق وبأعمار مختلفة وذلك بأخذ مسحات من حالات التهابية مختلفة مثل الادرار ومسحات حروق وكما حرص اثناء جمع العينات استخدام المسحات القطنية الحاوية على وسط نقل Transport media swab في عملية جمع العينات لضمان حيوية العزلة بعدها نقلت هذه العينات مباشرة الى مختبر كلية العلوم لغرض تنميتها وتشخيصها. حيث زرعت على اطباق بتري حاوية على وسط اكار الماكونكي بطريقة التخطيط (Streak method) ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة ٣٧مْ لمدة ٢٤ ساعة (MacFaddin, 2000).

تشخيص البكتيريا المعزولة Identification of isolated bacteria

١. الفحص الزرعي والمظهري Morphological and Culture examination

لقد شخصت البكتيريا المعزولة بالاعتماد على (Baron *et al.*, 1994; Collee *et al.*, 1996; MacFaddin, 2000) حيث درست الصفات المظهرية للمستعمرات البكتيريا النامية من حيث شكل ولون وحجم وطبيعة المستعمرة وقابليتها على التخمير لسكر اللاكتوز واظهارها روائح مختلفة على الاوساط الغذائية العامة والتفريقية.

٢. التحري عن السكريات الثلاثية Triple-sugar iron agar وانتاج H_2S

لقد تم استخدام هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتيريا على تخمير السكريات الكلوكوز والسكروز واللاكتوز حيث لقحت الانابيب التي تحتوي على وسط كليكلر Kligers iron agar (KIA) باستعمال ابرة ناقلة معقمة بطريقة الطعن في قعر الانبوبة والتخطيط على السطح المائل بالمزروع البكتيري وحضن الانابيب بدرجة حرارة 37C° لمدة ٢٤ ساعة حيث يعد تحول الوسط من اللون الاحمر الى اللون الاصفر في الجزء العميق نتيجة موجبة لتخمر سكر الكلوكوز . كما يعد تحول الوسط كله الى الاصفر نتيجة موجبة لتخمر سكر اللاكتوز والسكروز وكذلك انتاج راسب اسود دليل على انتاج كبريتيد الحديدوز (كبريتيد الحديد) اسفل الوسط الصلب وايضاً ظهور فقاعات غازية دليل على انتاج غاز CO_2 (MacFaddin, 2000).

٣. مجموعة من الاختبارات (IMVIS) التي تتكون من :

١. اختبار انتاج الاندول Indol production test

استخدم وسط ماء الببتون Peptone Water لتلقيح البكتيريا المراد اختبارها بعدها حضنت هذه الانابيب بدرجة حرارة ٣٧مْ لمدة ٢٤ ساعة بعدها اضيف لهذه الانابيب ٠,٥ ملليتر من كاشف (Kovacs reagent) بعدها ترج جيداً. وملاحظة ظهور حلقة حمراء في اعلى الانبوبة دلالة على ايجابية الفحص (MacFaddin, 2000).

٢. اختبار المثيل الاحمر Methyl red test

لقحت الأنابيب الحاوية على الوسط (M.R.Vp medium) بجزء من المستعمرة البكتيرية المراد اختبارها وبعدها حقنت بدرجة حرارة ٣٧مْ لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة ثم اضيفت ٥ قطرات من المثيل الاحمر وسجلت النتيجة الموجبة بظهور اللون الاحمر (Collee *et al*., 1996).

٣. اختبار فوكس – بروسكاور Voges – Proskaure

لقح الوسط الزرعي MR.VP medium بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد اختبارها ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة ٣٧مْ لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة ثم اضيف ٠,٦ ملليتر من كاشف الفانفثول و ٠,٢ ملليتر من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الى كل انبوبة وذلك مع التحريك الهادئ حيث ان ظهور لون وردي دليل على النتيجة الموجبة (Collee *et al*., 1996).

٤. اختبار استهلاك السترات Citrate utilization test

حيث لقح الوسط (Simon citrate) سيمون ستريت بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد اختبارها وحضنت بدرجة حرارة ٣٧مْ لمدة ٢٤ ساعة حيث ان تحول الوسط من اللون الاخضر الى اللون الازرق دليل على استهلاك البكتيريا للسترات (Winn *et al*., 2006).

٥. الاختبارات الكيموحيوية Biochemical tests

لقحت الاوساط الخاصة بهذه الفحوصات وذلك باستخدام Loop وتلك التي تتطلب الطحن باستخدام Straight Wire بمستعمرات نقية وفيه بعمر (١٨ – ٢٤) ساعة نامية على وسط nutrient agar ومن هذه الاختبارات :

أ. انتاج انزيم الاوكسيديز Oxidase production

حيث نقلت مستعمرات نقية من المزروع البكتيري وذلك بواسطة عيدان خشبية الى ورقة ترشيح مبللة بكاشف الاوكسيديز حيث ان ظهور اللون البنفسجي المزرق يدل على ايجابية الفحص نتيجة امتلاك البكتيريا لإنزيم الاوكسيديز.

ب. الحركة Motility

حيث لقحت الانابيب الحاوية على وسط المانيتول بمستعمرات البكتيريا المراد تشخيصها وذلك باستعمال ابره ناقلة معقمة للطعن في مركز الوسط ثم حضنت بدرجة حرارة ٣٧مْ لمدة ٢٤ – ٤٨ ساعة حيث ان انتشار النمو خارج حدود الطعنة يدل على النتيجة الموجبة . أما بقاء النمو حول خط الطعنة فهذا يعني ان البكتيريا غير متحركة (MacFaddin, 2000).

٦. الكشف عن انزيم اليوريز Urease test

حيث لقح وسط اليوريا بطريقة الطعن والتخطيط ثم حضنت هذه الانابيب بدرجة حرارة ٣٧مْ ولمدة (٢٤ – ٤٨) ساعة . حيث ان النتيجة الموجبة لهذا الفحص هو تغير لون الوسط من الاصفر الى اللون الوردي دليل على تحلل اليوريز من قبل البكتيريا (Benson, 2002).

٧. اختبار فحص الحساسية Antibiotic Susceptibility test

تحضير الوسط الزرعي

يستخدم لهذا الغرض وسط مولر هنتون (Molar hentone) ، إذ حضر الوسط حسب تعليمات الشركة المجهزة للوسط . ثم صب الوسط في الاطباق المعقمة ويوضع في الثلاجة لحين استخدامه. يتم تخطيط وسط مولر هنتون بالبكتيريا اكثر من مدة وفي اتجاهات مختلفة وترك الاطباق بخمس دقائق بعدها توضع اقراص المضادات الحيوية بواسطة ملقط معقم وضغط على سطح الوسط بخفة حيث وضع ٧ اقراص من المضادات الحيوية لكل طبق مخطط ببكتيريا Proteus و٥ اقراص لكل طبق مخطط ببكتيريا *Pseudomonas* وتم بعد ذلك وضع الطبق في الحاضنة بدرجة ٣٧ درجة مئوية لمدة ٢٤ ساعة. قرأت النتائج بقياس اقطار التثبيط بأخذ قطرين متعامدين (Clsi, 2012).

النتائج والمناقشةResult and Discussion

* النتائج Result:

جمعت (٦٢) عينة من حالات سريرية مختلفة في عدد من مستشفيات الديوانية خلال الفترة من ١٣ تشرين الثاني ٢٠١٧ ولغاية ٢٧ كانون الاول ٢٠١٨ للتحري عن البكتيريا السالبة الغير مخمرة لسكر اللاكتوز من عينات الحروق حيث اظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية وجود (٨) عزلات عائدة لبكتيريا *Proteus mirabilis* ، و(١٢) عزلة عائدة لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*

جدول(١): نتائج الاختبارات الكيموحيوية

Ps.aeraginosa	Pr.mirabilis	Biochemical test
+	+	Gram-negative bacteria
–	–	Indol
+	+	Methyl red
+	swarming motile +	Motility
–	+	Urease
–	+	H_2S Production
+	–	Oxidase
+	+	Catalase
K/K	K/A	kilglarlron

جدول(٢): توزيع معدلات الاصابة ببكتيريا *Proteus mirabilis*حسب الجنس من حالات سريرية مختلفة

الجنس	الحروق	النسبة المئوية%
الاناث	٥	%٦٢,٥
الذكور	٣	%٣٧,٥

جدول(٣): توزيع معدلات الاصابة ببكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* حسب الجنس من حالات سريرية مختلفة.

الجنس	الحروق	النسبة المئوية%
الاناث	٥	%٤١,٦
الذكور	٧	%٥٨,٣

جدول(٤): مصادر الاصابة ببعض البكتريا السالبة لصبغة غرام حسب الفئات العمرية

الفئات العمرية	عدد الاصابة	النسبة المئوية%
١ – ١٠	٥	%٢٥
١١ – ٢٠	٥	%٢٥
٢١ – ٣٠	٣	%١٥
٣١ – ٤٠	٤	%٢٠
٤١ – ٥٠	٣	%١٥
مجموع	٢٠	%١٠٠

جدول (٥) النسبة المؤية الكلية لمقاومة بكتريا , ps. Aeruginosa وبكتريا pr. Mirabilis لسبعة من

رمز المضاد	N=12 عدد عزلات بكتريا ps.aeruginosa المقاومة للمضادات الحيوية (%)	N=8 عدد عزلات بكتريا pr.mirabilisالمقاومة للمضادات الحيوية (%)
Ax	(100) 12	(100) 8
Ak	(75) 9	(75) 6
Gn	(25) 3	(12.5) 1
Cip	(33.3) 4	(37.5) 3
Imp	(75) 9	(87.5) 7
Am	(100) 12	(75) 6
C	(91.6) 11	(100) 8

المضادات الحيوية

حيث اظهرت نتائج 12 عزلة العائدة لبكتريا Pseudomonas aeruginosa اعلى نسبة مقاومة (100,91.6,83.3,75,75)سللمضادات

(Amoxicillin,Chloramphenicol,Ampicillin,Imipenem,Amikacin) على التوالي واقل نسبة مقاومة (25,33.3) للمضادات (Gentamicin,ciprofloxacim) حيث اظهرت بكتريا Ps.aeruginosa نسبة مقاومتها لمضاد Gentamicin بلغت 25% اذ تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه كل من حنا (1999) والجوراني (2000) كانت نسبة مقاومة العزلات لهذا المضاد (42.8,40,38.7)على التوالي فيما لم تتفق هذه النتائج مع نتائج خليل (1980) الذي اشار ان المضاد Gentamicin هو الاكثر كفاءة لعلاج التهاب الاذن الوسطى . كما توصل الرماحي (2006) ان نسبة مقاومة هذه اتلبكتريا لهذا المضاد (9.4%) وتوصل Altalib,Habib بان نسبة مقاومة (159) عزلة ل Ps.aeruginosa لمضاد الجنتامايسين (26.7) واثبت الامير (1998) مقاومة بكتريا Ps.aeruginosa الواطئة لمضاد الجنتامايسين . اما مضاد Ampicillin فقد اظهرت بكتريا Ps.aeruginosa نسبة مقاومة (100%) واتفقت هذه النتائج مع نتائج كل من (1996) Fekete Atel الذين وجدوا ان نسبة مقاومة عزلاتهم لهذا المضاد 100% وكذلك الدباغ (1998) ، العباسي(2000) والفتلاوي (2001) والعابدي (2002) والشيباني (2004) كانت نسبة المقاومة لهذا المضاد قدرها (100%) واتفق مع نتائج الرماحي (2006) التي كانت نسبة مقاومة عزلاته لهذا المضاد (100%) .اما مضاد Chloramphenicol فكانت نسبة المقاومة التي ابدتها عزلات بكتريا Ps.aeruginosa (91.6%) اقل من النتائج التي توصل اليها الرماحي (2006) اذ كانت نسبة مقاومة عزلاته لمضاد Chloramphenicol هي (89.1) مع نتائج الجوراني (2001)فكانت نسبة المقاومة (90.1%) ولم تتفق هذه النتائج مع نتائج العابدي (2000) والعباسي (2000) حيث كانت نسبة مقاومة عزلاتهما () حيث كانت نسبة مقاومة عزلاتهما (33,57,28%) على التوالي وكذلك لم يتفق مع نتائج الذي توصل اليه الدباغ (1998) الذي كانت نسبة مقاومة عزلاته لهذا المضاد (40%) اما نسبة مقاومة بكتريا Ps.aeruginosa للمضادCiprofrloxaci كانت (33.3%) وهذا اتفق مع ما توصل اليه الرماحي (2006) اذ كانت نسبة مقاومة عزلاته لمضاد بلغت (30%) .اما نسبة مقاومة هذه البكتريا للمضادات (Amikacin, Imipenem, Amoxicillin) هي (75,75,100%) على التوالي . وسجلت النتائج الحالية نسبة المقاومة لبكتريا Pr.mirabilis لمضاد Gentamicin في الدراسة الحالية قد بلغت (12.5%) هذه النتائج لم تتفق مع ما توصل اليه الباحثان (2016)Zuhir ,Alubydi فقد سجلا نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الجنتامايسين

(53.2%) .اما (2015) Ahmed سجل نسبة مقاومة مرتفعة (56%) لمضاد الجنتامايسين بينما سجل الباحث Perween وجماعته (2016) نسبة مقاومة عالية (100%) . اما مضاد Amikacin فكانت نسبة المقاومة التي ابدتها بكتريا Pr.mirabilis لهذا المضاد (75%) حيث تقاوم هذه البكتريا مضاد Amikacin عن طريق حدوث تغير في موقع الهدف (30s) من الرايبوسوم حيث تحدث طفرة في الموقع (من الرايبوسوم حيث تحدث طفرة في الموقع (30s) مؤدية الى قلة نفاذية جزيئات المضاد عبر الغشاء Alghazadetal(2004) او عن طريق انظمة الدفق الفعالة او تحوير نفاذية الجدار الخارجي هذا يؤدي الى تحوير جزيئة المضاد ومقاومة فعاليته . اما مقاومة بكتريا Pr.mira (2016) بنسبة (82.60%) اما الباحث Felgo (2010) فسجل نسبة مقاومة البكتريا لهذا المضاد (65%) بينما الباحث Trivedietal (2016) وجد بان البكتريا حساسة بصورة كاملة لمضاد الكلورامفينكول بنسبة 100%

الاستنتاجات Conclusions

١. اظهرت النتائج ان المضادين Ciprofloxacin ، Meropenem الاكثر فعالية تجاه البكتيريا *P.mirabilis*.

٢. اظهرت الدراسة الدور الاساسي لبكتيريا *P.mirabilis*في عدوى المستشفيات .

٣. تسجيل تتابع جيني لجين المقاومة β-lactam بين عزلات البكتيريا *P.mirabilis*وذلك باستخدام جهاز ABDNA sequencing system

٤. اظهرت نتائج الشجرة الورائية تشابه بين جينات المقاومة β-lactam المصلية مع العزلات القياسية في بنك الجينات NCBI.

٥. معظم عزلات بكتيريا *P.mirabilis* قيد الدراسة ابدت صفة تعدد المقاومة اذ كانت العزلات اغلبها ذات مقاومة متعددة فيما قد يشكل خطراً علاجياً كبيراً.

٦. امتلاك بكتيريا *Ps.aeruginosa* مقاومة عالية لمعظم المضادات وذلك بسبب امتلاكها للعديد من آليات المقاومة منها.: احتواء جدارها الخلوي على بروتين خاص حيث يتميز بقدرته على تحرير المضادات الحياتية الى خارج الخلية البكتيرية مساوية لسرعة دخولها (James, 1999)، وسبب امتلاكها للبلازميدات المقاومة (James, 1999) وامتلاكها لبعض اليات اخرى تمنع نفاذ المضادات لداخل الخلية (Brokopp and Farmer, 1999) وتنتج بعض سلالاتها انزيمات معينة تحطم المضادات الحياتية.

التوصيات Recommendations

١. يجب اجراء فحص دوري للمستشفيات وذلك لتحديد مصدر التلوث بالبكتيريا وكذلك تحديد مستوى مقامة البكتيريا للمضادات الحيوية.

٢. فحص المضادات الحياتية قبل التعقيم والسيطرة النوعية قبل وصولها للمستهلك ومن بين اهم اسباب عدم التشخيص الدقيق يعود الى المسبب المرضي واعطاء المضاد الاقل كفاءة.

٣. عدم الاكثار من استخدام المضادات الحيوية دون استشارة الطبيب المختص بذلك لمنع تطور المقاومة من قبل البكتيريا.

٤. اجراء المزيد من الدراسات على بكتيريا *P.mirabilis* باستخدام تقنية حديثة مثل PCR وذلك للكشف عن التعبير الجيني لانزيمات β-lactam

المصادر

اولا : المصادر العربية

١ -حنا ، صفاء تومة . (١٩٩٩) . دراسة عن الجراثيم الهوائية الملوثة لردهات احدى المستشفيات ومقاومتها لمضادات الحياتية والمطهرات . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة بغداد

٢ -العابدي ، هدف مهدي كاظم . (٢٠٠٢) عزل وتشخيص البكتريا الهوائية المشاركة في خمج السبيل البولي لاطفال مدينة الديوانية وحساسيتها لبعض مضادات الحياة . رسالة ماجستير . كلية التربية – جامعة القادسية

٣ -الجوراني ، ماجدة غازي مكطوف . (٢٠٠١) دراسة بعض الجوانب المناعية البكترولوجية للمصابين بالتهاب الوسطى في مدينة الناصرية . رسالة ماجستير . كلية العلوم – جامعة المستنصرية

٤ -الصكر ، رباب قاسم . (٢٠٠٠) دراسة عن بعض البكتريا الهوائية المقاومة لمضادات الحيوية المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى . رسالة ماجستير . كلية العلوم – جامعة بغداد

٥ -العباسي ، انعام جواد مطرود . (٢٠٠٠) دراسة لخمج المسالك البولية البكتيرية لدى اطفال محافضة النجف . اطروحة ماجستير . كلية القائد للتربية للبنات – جامعة الكوفة

ثانيا :المصادر الاجنبية

6.Weller, T. M. A., MacKenzie, F. M., & Forbes, K. J. (1997). Molecular epidemiology of a large outbreak of multiresistant Klebsiella pneumoniae. *Journal of medical microbiology*, *46*(11), 921-926

7.Mims, C. A., Playfair, J. H. L., Roitt, I. M., Wakelin, D., and Williams, R. (1993). Medical Microbiology, Mosby Europe Limited, London

8.Rook.A; Wilkinson , D.S and Ebling ,F.J.G.(1968).Text book of Dermaology .3th ed. Voll. Great British

9.Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmino, B.P.; and Simons, A. (1996). Mackin and McCartney Practical Medical Microbiology. 14th ed. The Churchill Livingstone, Inc. U.S.A

10.MacFaddin, J.F. (2000) Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd Edition, Lippincott Williams & Wilkins, New York.

11.Vatopoulos, A. C., Kalapothaki, V., & Legakis, N. J. (1996). Risk factors for nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Journal of Hospital Infection*, *34*(1), 11-22.

12.Vander Wauven, C. O. R. I. N. N. E., Pierard, A., Kley-Raymann, M. A. R. T. A., & Haas, D. I. E. T. E. R. (1984). Pseudomonas aeruginosa mutants affected in anaerobic growth on arginine: evidence for a four-gene cluster encoding the arginine deiminase pathway. *Journal of bacteriology*, *160*(3), 928-934.

13. Palmer, K. L., Brown, S. A., & Whiteley, M. (2007). Membrane-bound nitrate reductase is required for anaerobic growth in cystic fibrosis sputum. *Journal of bacteriology*, *189*(12), 4449-4455

14. Preston, C. A. K., Bruce, A. W., & Reid, G. (1992). Antibiotic resistance of urinary pathogens isolated from patients attending The Toronto Hospital between 1986 and 1990. *Journal of Hospital Infection*, *22*(2), 129-135.

15. Polk Hiram C., Jr., MD (ed) Infection and the Surgical Patient (Clinical Surgery International Series, Volume 4)New York, Churchill Livingstone, Inc., 1982, 200 pages, $30.00. - Volume 5 Issue 7 - John N. Krieger