وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية / كلية العلوم

قسم علوم الحياة

# وجود البكتريا السالبة لصبغة غرام غير المخمرة لسكر اللاكتوز في الإدرار ومدى مقاومتها لبعض المضادات الحيوية

بحث تخرج مقدم إلى

كلية العلوم – جامعة القادسية كـ جزء من متطلبات نيل شهادة

البكالوريوس في علوم الحياة

من قبل الطالب

علاء حسن جبار

بإشراف

أ.م.د فراس سرحان المياحي

٢٠١٨ م

# ألآيـــــــة

بِسْمِ اللَّـهِ الرَّحْمَـٰنِ الرَّحِيمِ

وَيَسْأَلُونَكَ عَنِ الرُّوحِ ۖ قُلِ الرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّي وَمَا أُوتِيتُم مِّنَ الْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا

(٨٥)

**صدق الله العلي العظيم**

**الآية ٨٥ من سورة الاسراء**

# الاهداء

الى معلم الانسانية وخير البرية رسول الله (صلى الله علية واله وسلم) ..... ودا واقتداء

مثلـــي ونبـــراس ظلمتـــي والـــــــدي رحمـــه اللـــــــه

نبع الحنان وطريق الجنان والدتـــي العزيزة ..... حبا واعتزاز

سندي وعضدي وقدوتي اخي فضل كامل .... اخلاصا وتقديرا

نبـــــع الصـــــداقة والاخـــــلاص ..... اصدقـــــائي

اهـــــــدي ثمرة جهدي المتواضـــــــع

# شـكـــــــــر وتقـديـــــر

الحمد لله على ماانعم وله الشكر على ما الهم والثناء بما قدم والصلاة والسلام على خير خلق الله محمد المصطفى وآل بيته الأطهار

اتقدم بالشكر الجزيل لأستاذي المشرف الدكتور فراس سرحان المياحي الذي اسدى لي النصيحة ولمتابعته المستمرة وتوجيهاته الدائمة والقيمة طيلة فترة البحث واتمنى ان يمن الله علية بوافر الخير ومزيد من النجاح

كما اتقدم بالشكر الجزيل الى اساتذة قسم علوم الحياة وبلاخص السيد رئيس القسم المحترم الدكتور حبيب وسيل شبر على ما ابداه من تسهيلات معنوية في سنوات البحث والدراسة

عرفاني وامتناني لكل من ساعدني في سنوات دراستي واعداد هذا البحث وبلاخص الاخ والزميل البايولوجي/ فضل كامل منكاش لدعمة الدائم وتوجيهاته المستمرة والقيمة .

البـــــاحث

# الخلاصة SUMMARY

هدفت الدراسة معرفة مدى مقاومة البكتريا السالبة لصبغة غرام غير المخمرة لسكر اللاكتوز في عينات الادرار للمضادات الحيوية ، حيث تم جمع ١٠٠ عينة ادرار لمرضى مصابين بالتهابات المجاري البولية قسمت الى ٧٥ عينة للاناث و٢٥ عينة للذكور ، واستخدمت اوساط blood agar & macConky agar في زراعة العينات بطريقة التخطيط على الاوساط ، وبعد فترة الحضن تم الحصول على ٨٥ عزلة قسمت الى ١٠ عزلات موجبة لصبغة غرام و ٧٥ عينة سالبة لصبغة غرام ، ظهرت ٢٠ عزلة من اصل ٧٥ غير مخمرة لسكر اللاكتوز ، وامتدت الدراسة من شهر كانون الاول ٢٠١٧ الى شهر آذار ٢٠١٨

حيث بينت نتائج البحث ان الاناث اكثر عرضة للاصابة بالبكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز في المجاري البولية حيث كان مجموع العزلات السالبة غير المخمرة لسكر اللاكتوز الماخوذة من الاناث ١٦ من اصل ٢٠ بنسبة بلغت ٨٠ % في حين كان عدد العزلات الماخوذة من عينات الرجال ٤ من اصل ٢٠ بنسبة ٢٠%

واستخدمت طريقة الانتشار بالاقراص Diffusion methods of sensitivity testing لحوالي ١٥ مضاد حيوي والمعتمدة على قياس قطر منطقة تثبيط النمو حول المستعمرات (بالمليمتر) قورنت هذه النتائج إذ كانت البكتريا حساسة S أو مقاومة R حسب المواصفات العالمية الواردة في ( CLSI ,2017) اذ اظهرت نتائج البحث كفائة بعض المضادات الحيوية بالعمل على قتل وتثبيط نمو البكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز في حين اعطت بعض المضادات الاخرى نسب تثبيط ضئيلة تجاه هذا النوع من البكتريا

اذ اعطى مضاد Nitrofurantoin اعلى نسبة تثبيط بلغت ١٠٠% في حين اعطى مضاد Ticarcillin نسبة ٤% وتراوحت المضادات الأخرى بين هذه النسب وكما مبين في الجداول المرفقة في البحث .

# الفصـــل الاول

## المقدمة Introduction

الادرار هو السائل الذي تستخرجه الكليتان من الجسم والدم ، وذلك بعد ان يتم ارسالة عبر الحالبان الى المثانة ومن ثم عبر الاحليل ، حاملا معه الكثير من الاملاح والسوائل الزائدة عن حاجة الجسم ويعتبر الادرار من السوائل شديدة الاهمية في الدلالة على حالة الجسم الصحية حيث اذ يتم اجراء الفحوصات الطبية له ومعرفة المسببات المرضية من خلاله ، حيث يمتلك الادرار الطبيعي لون اصفر رائق وتعتمد شدة اللون على مكونات الادرار فكلما زادت كمية الماء في الادرار قل اصفراره وكلما زادت نسب المواد الاخرى في البول ك اليوريا وغيرها تغير لونه ولتغير اللون احيانا دلالات على الالتهابات البكتيرية حيث يشير خمج المسالك البولية الى الكائنات الحية الدقيقة في المسالك البولية على الرغم من انه قد يكون من الصعب التمييز بين التلوث والاستعمار اوالعدوى ( Verrier,2000) ، ويعد التهاب المجاري البولية من الامراض الشائعة ويصيب اغلب الفئات العمرية فضلا عن اصابة كلا الجنسين ذكورا واناثا (Orreett,2001) . ان الاصابة ب التهاب المسالك البولية يختلف باختلاف العمر والجنس وتكون اكثر حدوثا في الاناث مما علية في الذكور في مختلف الاعمار عد مرحلة الطفولة المبكرة (اقل من ٣ اشهر) حيث تكون نسبة حدوثها في الذكور (٣-٥%) وفي الاناث ١% (خميس ، ٢٠١٣) وان اغلب المسببات لالتهاب المسالك البولية يكون سببها البكتريا السالبة لصبغة غرام مثل بكتريا E. coli & P.mirabilis & Pseudomonas aeruginosa & P. vulgaris & Serratia ، كذلك يحدث خمج المسالك البولية بفعل البكتريا الموجبة لصبغة غرام ومنها المكورات المعوية Staphylococcus وانواع اخرى (Tangho and Mcaninch ,2004) .

واشارت الدراسة التي اجراها خلف كاظم ٢٠١٢ الى ان بكتريا P.mirabilis مسؤولة عن (١١,٨٥%) من اصابات المسالك البولية كما بين ان نسبة عزل هذه البكتريا من النساء اعلى منه في الرجال ويمنك ان يحدث التهاب المسالك اليولية في أي جزء من الجهاز البولي : الكلية ، الحالب ، المثانة و الاحليل ويصنف حسب موقع الاصابة الى : اخماج حوض الكلية (pyelonephritis) ، اخماج المثانة (cystits) ، اخماج الاحليل (urethritis) (Masson et al., 2009)

وقد وجد من خلال الدراسات ان بعض البكتريا تفضل اصابة الجزء العلوي من المسالك البولية مثل بكتريا P.mirabilis (Liaw et al., 2001) ويصاحب هذا النوع من الاتهابات بعض الاعراض مثل الحمى والغثيان وآلام في منطقة البطن ووجد ان ٥٠% من الاطفال المصابين باخماج الكلية يعانون من تلف في الانسجة الكلوية (Craig,2004) وتتراوح شدة الاصابة من اصابات طفيفة الى الى قاتلة حيث يعد التهاب المسالك البولية سببا مهما لحدوث انتنان الدم (septicaemia) محدثا

نسب عالية من الوفيات ولاسيما عند المسنين حيث يعد مسبب رئيس لحدوث تجرثم الدم (Bacteremia) بالبكتريا السالبة لصبغة غرام (Mathai et al.,2001) . وتعتمد شدة الاصابة ومدتها على عوامل الضراوة التي تمتلكها البكتريا المسببة للمرض من ناحية ومن ناحية اخرى تعتمد على طبيعة الاجهزة الدفاعية لدى المضيف (Bass et al., 2003) وتعد مسببات التهابات المجاري البولية من اخطر العوامل التي تؤدي الى تطور القصور الكلوي (Elder , 2004)

## ١ ـ ١ تصنيف اخماج المسالك البولية من حيث الامراضية

١-١-١ اخماج المسالك البولية المعقد complicatated U.T.I

ان اصابات البكتريا السالبة لصبغة غرام للمسالك البولية غالبا ما يكون مترافق مع خمج المسالك البولية المعقدة اضافة الى ترافقه مع التشوهات التركيبية في القناة البولية والانسدادات والتشوهات الولادية (Dattelbaum et al,. 2003) وهذا النوع من الاخماج صعب العلاج باستعمال المضادات الحيوية بسبب وجود البكتريا داخل قوالب (Torzewska et al., 2003)

١-١-٢اخماج المسالك البولية غير المعقد Uncomplicatated U.T.I

يؤلف خمج المسالك البولية غير المعقد نسبة كبيرة من الاخماج ، ويحدث عندما لا يكون هنالك تغيرات واختلالات تشريحية ووظيفية غير طبيعية في القناة البولية بحيث تؤدي الكلية وظائفها بشكل طبيعي فضلا عن انه لايتوافق مع اللاضطرابات التي تؤدي الى عطل في آليات الدفاع للجسم ، تشمل اخماج المسالك البولية غير المعقدة كلا من تجرثم الادرار عديم الاعراض ( Asymptomatic bacteriuria) واخماج الكلية والمثانة وحويضها (Gunther et al.,2001)

## ١ ـ ٢ تصنيف اخماج المسالك البولية من حيث بحسب مكان الاصابة

١-٢-١اخماج المسالك البولية العليا Upper U.T.I

يشمل اخماج الكلية وحويضها الناتجة من غزو البكتيريا للطبقة البارنكيمية للكلية (Wagenlehner et al., 2009) حيث تصاحب هذا النوع من الاخماج اعراض عديدة اهمها الحمى والقشعريرة والتعب والالم في الخاصرة واسفل الظهر مع قلة التبول وتكرارة (Lana and Takhar , 2011) وتعد اخماج المسالك البولية العليا اكثر خطورة من السفلى ولكنها اقل شيوعا منها (Reddy's , 2002)

١ ـ ٢ ـ ٢ اخماج المسالك البولية السفلى Lower U.T.I

يتضمن كل من خمج المثانة وخمج الاحليل (Joseph dipiro et al.,2011) ويشكو مرضى خمج المثانة من مجموعة اعراض تتضمن عسر التبول وكثرة

عدد مرات التبول والحاجة للتبول والم فوق منطقة العانة Lana and Takhar (, 2011)

## ١-٣ طرائق العدوى

هناك ثلاث طرق محتملة من قبل البكتريا التي يمكن ان تغزو المسالك البولية وهي : الطريق الصاعد والطريق الدموي والطريق اللمفاوي (Soble and Kaye , 2000)

## ١-٤ العوامل المهيئة للاصابة باخماج المسالك البولية

ان العوامل التي تعيق جريان الادرار وتفريغ المثانة البولية منه والعوامل التي تسهل اقتراب الكائنات من المثانة يكون عاملا مهيئا للاصابة بالخمج، اذا يرى الباحثون ان بقاء كمية في الادرار ٢-٣ مل يعد عاملا مهيئا لتكاثر الجراثيم (Mims et al .,1993) . بينما هناك عوامل اخرى تؤدي الى الاصابة بالبكتريا وحدوث خمج المسالك البولية منها التغيرات في الضغط التناضحي وتركيز اليوريا في الادرار ، كذلك يؤدي تراكم السموم البولية المختلفة الى تثبيط خلايا الدم الدفاعية مثل الخلايا البلعمية بالاضافة الى الاليات المناعية الاخرى (Reinhard et al ., 2006) وان نسبة كبيرة من اخماج المسالك البولية تدخل عن طريق الاحليل والمثانة ثم الحالب والكلى (Meryeir et al ., 2000)

## ١-٥ المضادات الحيوية

ادى اكتشاف المضادات الحيوية و اولها مضاد البنسلين في الاربعينات من القرن الماضي الى ثورة في مجال معالجة الامراض البكتيرية حيث يعرف المضاد الحيوي antibiotic بانه مادة تنتج من كائن مجهري تثبط نمو كائنات مجهرية اخرى ،واستعمل المضاد الحيوي منذ اكتشافة الى يومنا هذا في معالجة مختلف الاصابات البكتيرية البسيطة والمعقدة اما عن طريق قتل البكتيريا bactericidal او عن طريق تثبيط نموها bacteriostatic (الطالب ١٩٨٦) ، وتؤثر المضادات الحيوية على الخلية البكتيرية من خلال الاعاقة ومنع تكوين كلا من (الجدار الخلوي والغشاء البلازمي) ومنع تكوين البروتين والاحماض النووية ومواد ايضية مثل Folic Acid التي تلعب دورا مهما في حياة الخلية البكتيرية (Malion & Manuselis 1995)

كما ان بعض المضادات تكون فعالة ضد البكتريا الموجبة لصبغة غرام في حين تكون مضادات اخرى فعالة ضد البكتريا السالبة لصبغة غرام وتجمع بعض المضادات التاثيرين (Brooks et al., 1998) ، وهذا الاختلاف في عمل المضادات يعود للتفاوت والاختلاف في تركيب جدار البكتريا واختلاف قدرة المضاد الحيوي على اختراق الجدار (Nikaido1989 )، كما ويعد اختبار المضادات الحيوية المعروف مختبريا باختبار الحساسية للمضادات الحيوية (Sensitivity Test) الطريقة

الاعتيادية لمعرفة حساسية البكتريا للمضاد الحيوي وتعطي هذه الطريقة مؤشرا للعلاج

وقد لاتظهر المضادات مفعولا مشابها لها في جسم الانسان برغم حساسيتها للمضاد الحيوي مختبريا (الجبوري ١٩٩٠)

وتعتمد المضادات وجرعتها وفترة العلاج على عدة عوامل اهمها موقع الاصابة و شدة المرض وعمر المريض وحالته المناعية (Martin & Fanik 1998)

تبين من خلال الدراسة ان اغلب الاصابات بالبكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز في الادرار تسببها بكتريا *proteus mirabilis* & *pseudomonas aerugenosa*

حيث ان بكتريا *aerugenosa* *ps.* بكتريا سالبة لصبغة غرام وغير مخمرة لسكر اللاكتوز اكتشفت سنة ١٨٨٢ من قبل الفرنسي Carle Gressare

واظهرت هذه البكتريا مقاومة للعديد من المضادات الحيوية ومن الدراسات الكثيرة في هذا المجال والتي اشارت الى وجود صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية على بكتيريا *aerugenosa* *ps.* هي دراسة الحميداوي( ٢٠٠٤)والمؤيد( ٢٠٠٣) وعاكف( ٢٠٠٣ )

في حين ان بكتريا *proteus mirabilis* سالبة لصبغة غرام وغير مخمرة للاكتوز اكتشفت سنة ١٨٨٥ من قبل العالم Hauser حيث قام بعزلها لاول مره من البراز ومياه المجاري والمواد العضوية المتحللة واسماها المتقلبات لامتلاكها ظاهرة تعدد الاشكال polymorphism ( Sahara et al., 2000)

ونظرا لاهمية الموضوع قررنا اجراء هذه الدراسة .

## خطوات الدراسة

١ - عزل البكتريا غير المخنمرة لسكر اللاكتوز من عينات الادرار
٢ - تشخيص البكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز باستخدام وسط الماكونكي والاختبارات البايو كيميائية biochemical test والصفات المظهرية والمجهرية
٣ - استخدام العدة الجاهزة المخصصة لتشخيص البكتريا السالبة للعائلة المعوية ( api 20 E ) لتاكيد التشخيص
٤ - اختبار مدى مقاومتة البكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز لبعض المضادات الحيوية

# الفصل الثـــــاني

## المواد وطرق العمل Materials & Methodes

### ٢-١المضادات الحيوية المستخدمة

| ت | اسم المضاد | الرمز | التركيز | S | I | R |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ١ | Ciprofloxacin | CIP | 5 mcg | ≥21 | 16-20 | ≤14 |
| ٢ | Amikacin | AK | 30 mcg | ≥17 | 15-16 | ≤14 |
| ٣ | Nitrofurantion | NIT | 300 mcg | ≥17 | 15-16 | ≤14 |
| ٤ | Norfluxacin | NOR | 10µg | ≥17 | 13-16 | ≤12 |
| ٥ | Pipracillin | PI | 100 mcg | ≥21 | 18-20 | ≤17 |
| ٦ | Aztreonam | AT | 30 mcg | ≥21 | 18-20 | ≤17 |
| ٧ | Trimethoprim | TM | 5µg | ≥16 | 11-15 | ≤10 |
| ٨ | Ampicillin-Sulbactam | SAM | /10µg 10µg | ≥13 | 10-12 | ≤9 |
| ٩ | Gentamicin | GEN | 10 mcg | ≥15 | 13-14 | ≤12 |
| ١٠ | Ticarcillin | TI | 75 mcg | ≥20 | 15-19 | ≤14 |
| ١١ | Chloramphenicol | C | 30 mcg | ≥18 | 13-17 | ≤12 |
| ١٢ | Ceftazidim | CAZ | 30µg | ≥21 | 18-20 | ≤17 |
| ١٣ | Cefepim | CFP | 30µg | ≥18 | 15-17 | ≤14 |
| ١٤ | Ceftriaxone | CTR | 30µg | ≥23 | 20-22 | ≤19 |
| ١٥ | Netillin | NET | 30 mcg | ≥19 | 14-18 | ≤13 |

## ٢-٢ طرائق العمل

٢-٢-١ المحاليل

أ - محلول الملح الفسلجي normal salin حضر باذابة ٥,٨ غرام من Naclفي كمية قليلة من الماء المقطر ثم كمل الحجم الى اللتر ثم عقم بالموصدة (autoclave) بدرجة ١٢١ م وضغط ١٥ باوند/انج$^{٢}$ ولمدة ١٥ دقيقة

٢-٢-٢ تحضير الاوساط الزرعية

حضرت الاوساط الزرعية الجاهزة بحسب تعليمات الشركة المصنعة واستخدم في هذا البحث الاوساط المبينه في الجدول التالي :

| ت | اسم الوسط | | الغرض من استخدامة |
|---|---|---|---|
| ١ | وسط اكار الماكونكي | MacConkey agar | استعمل بوصفة وسطا اختباريا للبكتريا السالبة لصبغة غرام وللتفريق بين المستعمرات المخمرة للاكتوز من غير المخمرة |
| ٢ | وسط اكار المولر هنتون | Muller-Hinton agar | استعمل لاجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية |
| ٣ | وسط ماء الببتون | Peptone water | استعمل للكشف عن حلقة الاندول |
| ٤ | وسط استهلاك السترات | Citrate utilization | استعمل للكشف عن البكتريا المخمرة للسترات بوصفة مصدرا وحيدا للكاربون |
| ٥ | وسط كلكلر | Kliglar-iron agar | استعمل لتمييز البكتريا على اساس انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين وتخمر السكريات |
| ٦ | وسط احمر المثيل-فوكس بروسكاور | MR-VP media | استعمل لاجراء اختباري احمر المثيل واختبار فوكس بروسكاور |
| ٧ | وسط الدم | Blood agar | استعمل لتنمية البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام |

٢

### ٢-٢-٣ تعقيم المواد والادوات strelization of material & instrument

عقمت الاوساط الزرعية باستخدام جهاز الموصدة (autoclave) بدرجة ١٢١ م وضغط ١٥ باوند/انج$^{٢}$ ولمدة ١٥ دقيقة

### ٢-٢-٤ جمع العينات

جمعت عينات الادرار من مرضى مصابين بالتهابات المجاري البولية او من يشك باصابتهم بالتهاب المسالك البولية وبحسب تشخيص الاطباء في مستشفى عفك اعام ومستشفى الديوانية التعليمي على مدى فترة امتدت من شهر كانون الاول ٢٠١٧ الى شهر آذار ٢٠١٨

حيث يطلب من المرضى جمع عينة الادرار في حاويات معقمة وذات استعمال واحد وتهمل القطرات الاولى من الادرار ونقلت الى المختبر لزراعتها مباشرة

### ٢-٢-٥ زرع العينات

تم زرع العينات المأخوذه من المرضى مباشرة وبدون تاخير لضمان عدم تلوث العينات باستخدام (loop) على اوساط اكار الدم واكار الماكونكي ثم حضنت بدرجة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة

### ٢-٢-٦ تشخيص العينات Identification of isolation bacteria

شخصت المستعمرات النامية بالاعتماد على

**a - الصفات المظهرية phenotypic characteristic**

لوحظت الصفات المظهرية للمستعمرات النامية من حيث اشكالها ، الوانها ، سطح المستعمرات ، ووجود روائح مميزة لها وقوامها وشفافيتها وتخمر اللاكتوز على سطح الماكونكي (winn et al.,2006)

**b - التشخيص المجهري microscopic examination**

فحصت مجهريا باخذ مسحة من المستعمرات البكتيرية النامية وتم تبيتها وتصبيغها بصبغة غرام حسب طريقة العمل المعتمدة من قبل الشركة المصنعة لملاحظة ترتيب الخلايا البكتيرية واشكالها وتفاعلها مع الصبغة .

**c - الاختبارات الكيموحيوية biochemical test**

اجريت مجموعة اختبارات لتشخيص البكتريا قيد الدراسة وهي كالتالي

- **اختبار الكاتليز catalase test :** نقل جزء من مستعمرة فتية بواسطة العيدان الخشبية الى شريحة زجاجية ثم اضيف قطرة من بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ بتركيز ٣% وتكون النتيجة موجبة بظهور فقاعات غاز الاوكسجين (Brown 2007)

- **اختبار الاوكسديز oxidase test**

نقل جزء من مستعمرة فتية بواسطة عود خشبي معقم الى ورقة ترشح مشبعة بكاشف الاوكسديز وان تكون اللون البنفسجي خلال ١٠ ثوان دليل على ايجابية الاختبار (Brown 2007)

- **اختبار تخمر السكريات وانتاج الغاز sugar fermentation & gas prodaction**

تعتمد على الانابيب الحاوية على وسط kliglar iron agar حيث يتم تلقيح انابيب هذا الوسط بالزلات بطريقة الطعن والتخطيط على السطح المائل ويحضن لمدة ٢٤ ساعة بدرجة ٣٧ م البكتيريا الغير مخمرة للاكتوز تظهر لون اصفر في الأسفل فقط أو لون اصفر في الأعلى والأسفل إذا كانت مخمرة للسكروز.اللون الأسود يدل على كبريتيد الحديد الثنائي.

- **مجموعة اختبارات IMViC المكونة من :**

**١** اختبار الاندول Indol test**

استخدم وسط ماء الببتون الذي لقح بجزء من المستعمرات البكتيرية النقية المراد اختبارها ثم حضنت بدرجة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعة بعد ذلك اضيف قطرات من كاشف كوفاكس الى كل انبوبة ولوحظ ظهور حلقة حمراء اللون دليل على ايجابية الفحص وقدرة البكتريا على تحليل الحامض الاميني تربتوفان(Tryptophan) وانتاج الاندول (Mac faddin 2000 )

**٢** اختبار احمر الميثيل Methyl Red Test**

اجري الفحص بتلقيح الانابيب الحاوية على الوسط الزرعي MR-VP Medium بالمزروع وحضنت عند درجة حرارة ٣٧ م ولمدة ٢٤-٤٨ ساعة بعد ذلك تم اضافة قطرات من كاشف احمر المثيل وان ظهور اللون الاحمر بعد ١٥ دقيقة دليل على تخمر الكلكوز الكامل أي ان الفحص موجب (Collee et al,. 1996)

**٣** اختبار فوكس بروسكور voqas-proskauer**

اجري الفحص بتلقيح الانابيب الحاوية على الوسط الزرعي MR-VP Medium بالمزروع وحضنت عند درجة حرارة ٣٧ م ولمدة ٢٤-٤٨ ساعة بعد ذلك تم اضافة(٠,٦) مل من كاشف الفا نفثول و (٠,٢) مل من محلول

هيدروكسيد البوتاسيوم الى كل انبوبة . ان ظهور اللون الوردي خلال ٢-٥ دقيقة دلالة على ايجابية الفحص التي تشير الى التحلل الجزئي للسكر وانتاج مركب استيل مثل كاربونيل acetyl methyi-carbonyl
(Collee et al ., 1996)

**٤** اختبار استهلاك السترات Citrate utilization**

لقح وسط citrate simmon المصبوب بشكل مائل slant بجزء من المستعمرة المراد فحصها وحضنت بدرجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة ثم استدل على ايجابية الفحص بتحول لون الوسط من الاخضر الى الازرق دليل على استهلاك البكتريا للسترات كمصدر للطاقة (Collee et al ., 1996)

- **التشخيص باستخدام العدة الجاهزة api20E**

بعد الحصول على نتائج باستخدام الاختبارات الكيموحيوية تم تاكيد النتائج باستخدام api20E اذ يحتوي هذا الشريط على٢٠ حفرة خاصة بالفحوصات الكيموحيوية وتتضمن طريقة العمل التالي:

**أ - تحضير العالق البكتيري preparation of bacterial suspention**

لقح ٥ مل من محلول الملح الفسلجي normal saline بـ ١-٣ مستعمرة للحصول على عالق

**ب -تلقيح شريط api20E**

باستخدام ماصة نظيفة وجافة لقحت حفر الشريط من خلال ملئ الحفر بالعالق البكتيري وحسب تعليمات الشركة المصنعة للشريط حيث تملأ الحفر بمقدار ٠,١٢ مل من العالق في حين بلغت كمية اللقاح ٠,٢٨ مل لانابيب citrate & Vp &Gel واضيف الزيت المعقم لانابيب الاختبارات التي تحتها خط وشملت URE&ADH&LDC&ODC&$H_2S$

**ج- حضن شريط api20E**

وضع الشريط داخل غطاء خاص مرفق مع العدة ثم حضن بدرجة ٣٧ م لمدة ٢٤ ساعه

**د- إضافة الكواشف Addition of reagent**

- اضيف قطرة من كاشف TDA الى اختبار ازالة مجموعة الامين من الحامض

**Tryptophan deaminase ← تحول الى اللون البني يدل على ايجابية النتيجة**

- اضيف قطرة من كاشف james الى اختبار indol

Indol ← ظهور حلقة حمراء دليل على ايجابية التفاعل

- اضيف قطرة من كاشف VP1&VP2 على التوالي الى اختبار **voqas-proskauer**

**voqas-proskauer ← تحول اللون الى اللون الوردي دليل على ايجابية التفاعل**

- **اضيف قطرة من كاشف Nit1&Nit2 الى اختبار glucose**
-

**Glucose ← تحول اللون الى اللون الازرق يدل على ايجابية النتيجة**

## ز- قراءة النتيجة reading of result

شخصت البكتريا من خلال الشفرة الرقمية التي تتكون بعد وضع + او – بالاعتماد على ايجابية او سلبية الاختبارات الكيموحيوية ضمن شريط api20E وشخصت البكتريا باستخدام الدليل الخاص بـ api20E

- **اختبار فحص الحساسية antibiotic sensitivity test**

اختبرت الحساسية الدوائية للعزلات البكتيرية بطريقة الاقراص بالاعتماد على طريقة Buner وجماعتة ١٩٦٦ وتضمنت نقل ٢-٤ مستعمرات من البكتريا الى انبوب اختبار كعقم يحتوي ٥ مل من مرق تربتون الصويا المغذي وحضنت بدرجة ٣٧ م لمدة ٨ ساعات ، خفف النمو الحاصل باستعمال المحلول الملحي الفسلجي وتم مقارنة النمو مع انبوبة مقارنة ماكفرلاند ٠,٥ القياسية وغمست المسحة القطنية ونشرت البكتريا على اطباق وسط مولر-هنتون الصلب بطريقة النشر لاكثر من مره وباتجاهات مختلفة لغرض التاكد من نشر البكتريا المراد اختبار حساسيتها وضغطت اقراص المضادات الحيوية بواقع ١٠ اقراص في طبق قياسه ١٥٠ ملي متر والمسافة بين قرص وآخر ٢٠ ملي متر من مركز القرص الاول الى مركز القرص الثاني وحضنت الاطباق بدرجة ٣٧ م لمدة ١٨ ساعة ثم قيست اقطار التثبيط باستعمال الفيرنيا وقورنت مع القيم المذكورة في (CLSI 2017 )

# النتائج والمناقشة Result and Discussion

تضمنت الدراسة الحالية جمع ١٠٠ عينة ادرار لمرضى مصابين بالتهابات المجاري البولية قسمت الى ٧٥ عينة للاناث و٢٥ عينة للذكور في محافظة الديوانية للفترة من تشرين الاول ٢٠١٧ لغاية آذار ٢٠١٨

ظهر عند زرع العينات ان البكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز سببت اصابة ب ٢٠ عينة من اصل ١٠٠ اي مايعادل ٢٠% حيث بينت الدراسة ان بكتريا Proteus mirabilis سببت اعلى نسبة بواقع ٩ عينات من اصل ٢٠ عينة بنسبة ٤٥% بينما جائت في المرتبة الثانية بكتريا Pse. aeruginosa بنسبة اصابة بلغت ٢٥ % بواقع ٥ عينات من اصل ٢٠ عينة وتلتها بكتريا Salmonella sp. بنسبة اصابة بلغت ٢٠% بواقع ٤ عينات من اصل ٢٠ عينة

وتساوت نسبة الاصابة بكل من Morganii Mor. & Pr. Vulgari & بنسبة ٥% فقط بواقع عينة واحدة من اصل ٢٠ عينة لكل منها .

وتم تشخيص العزلات البكتيرية بالاعتماد على :

**٤-١ الصفات الزرعية Culture characteristic**

ظهرت المستعمرات النامية على اكار الماكونكي بشكل مستعمرات مفردة شاحبة اللون غير مخمرة لسكر اللاكتوز

**٤-٢ الصفات المجهرية Microscopic Characteristic**

اظهرت نتائج الفحص المجهري ان خلايا البكتريا المعزولة سالبة لصبغة غرام

**٤-٣ الفحوصات الكيموحيوية Biochemical Test**

**كانت نتائج الفحوصات البايوكيميائية في هذه الدراسة كما موضح في الجدول التالي :**

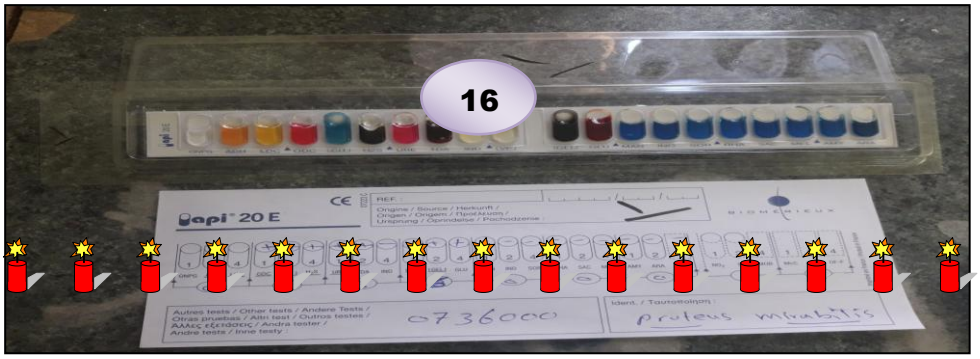
جدول (٤-١) يوضح نتائج الاختبارات الكيمو حيوية

| Clitrate | VP | M-R | Indol | urease | Kliglar | Oxidase | Catalase | Gram stain | رقم العينة |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| -ve | -ve | +ve | +ve | +ve | K/A Gas&$H_2S$ | -ve | +ve | -ve | العينة رقم١ |
| -ve | -ve | +ve | +ve | +ve | K/A Gas&$H_2S$ | -ve | +ve | -ve | العينة رقم ٢ |
| -ve | -ve | +ve | +ve | +ve | K/A Gas&$H_2S$ | -ve | +ve | -ve | العينة رقم٣ |
| +ve | -ve | +ve | -ve | -ve | K/A Gas&$H_2S$ | -ve | +ve | -ve | العينة رقم٤ |

| | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| العينة رقم٥ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | +ve | +ve | +ve | -ve | -ve |
| العينة رقم٦ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | +ve | +ve | +ve | -ve | -ve |
| العينة رقم٧ | -ve | +ve | +ve | K/A Gas&no $H_2s$ | -ve | -ve | -ve | -ve | +ve |
| العينة رقم٨ | -ve | +ve | +ve | K/A Gas&no $H_2s$ | -ve | -ve | -ve | -ve | +ve |
| العينة رقم٩ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | -ve | -ve | +ve | -ve | +ve |
| العينة رقم١٠ | -ve | +ve | -ve | K/A No Gas& no $H_2s$ | -ve | +ve | +ve | +ve | -ve |
| العينة رقم١١ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | -ve | -ve | +ve | -ve | +ve |
| العينة رقم١٢ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | -ve | +ve | +ve | -ve | -ve |
| العينة رقم١٣ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | -ve | -ve | +ve | -ve | +ve |
| العينة رقم١٤ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | -ve | +ve | +ve | -ve | -ve |
| العينة رقم١٥ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | -ve | +ve | +ve | -ve | -ve |
| العينة رقم١٦ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | -ve | +ve | +ve | -ve | -ve |
| العينة رقم١٧ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&no $H_2s$ | -ve | -ve | -ve | -ve | +ve |
| العينة رقم١٨ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&no $H_2s$ | -ve | -ve | -ve | -ve | +ve |
| العينة رقم١٩ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&$H_2s$ | +ve | +ve | +ve | -ve | -ve |
| العينة رقم٢٠ | -ve | +ve | -ve | K/A Gas&no $H_2s$ | -ve | -ve | -ve | -ve | +ve |

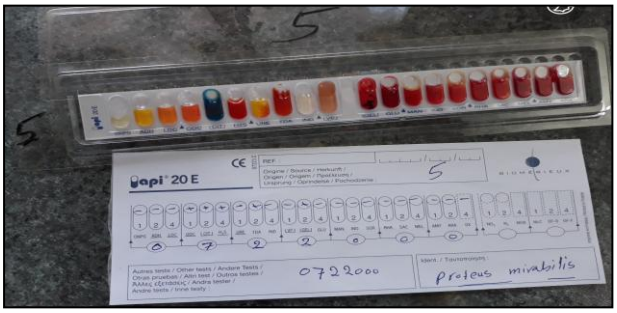
### ٤-٤ نتائج api 20 E

تـم تاكيـد تشـخيص العـزلات فـي الدراسـة باسـتخدام api 20 E بعـد تشخيصـها باسـتخدام نتـائج الاختبـاررات الكيموحيويـة والصـفات المظهريـة والمجهريـة وكانـت نتـائج فحـص api 20 E كما يلي :



api 20 E
0732000
Proteus mirabilis

api 20 E
0716000
Proteus mirabilis


api 20 E
0722000
Proteus mirabilis

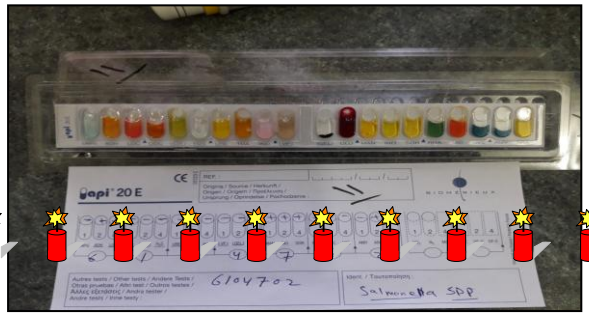
api 20 E
0706552
Salmonella spp

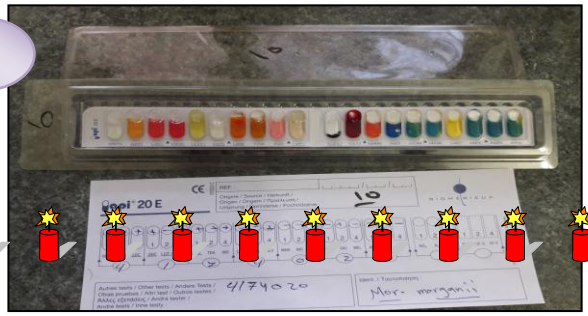
api 20 E
0216046
Pseudomonas aeruginosa

api 20 E
0426021
Proteus vulgaris

api 20 E
7744552
Salmonella sp.

api 20 E
0212006
Ps. aeruginosa


api 20 E
6104702
Salmonella spp


api 20 E
4174020
Mor. morganii

ان بكتريا Proteus mirabilis الاكثر شيوعا في هذه الدراسة والسبب في ذلك ان موطنها الطبيعي في القناة الهضمية ولتقارب المجرى البولي وفتحة الشرج في الاناث ولقدرة هذا النوع من البكتريا على الحركة بشكل جيد تنتقل احيانا للمجرى البولي مسببة التهاب المجرى البولي كذلك قد تنتقل بعض المسببات الاخرى مثل السالمونيلا بنفس الطريقة .

ووجد من خلال الدراسة ان اكثر مضاد تمت مقاومتة من قبل البكتريا المستهدفه في الدراسة هو مضاد Ticarcillin حيث بلغت نسبة مقاومة البكتريا السالبة لصبغة غرام غير المخمرة لسكر اللاكتوز له ٩٦% بينما اعطى مضاد Ciprofloxacin نسبة ٨٤ % وبلغت نسبة مقاومة البكتريا للمضاد Trimethoprim ٨٠% تقريبا

وان اقل مضاد تمت مقاومتة من قبل البكتريا المستهدفه في الدراسة هو مضاد Nitrofurantion حيث بلغت ٠% وتراوحت المضادات الاخرى بين هذه النسب وكما موضح في ما يلي

وكانت نتائج فحص الحساسية كما موضح في الجدول التالي

جدول (٤-٢) يوضح نسبة مقاومة البكتريا السالبة لصبغة غرام غير المخمرة لسكر اللاكتوز المعزولة في الدراسة للمضادات الحيوية

| ت | المضادات | Proteus mirabilis | | Pse. aeruginosa | | Salmonella sp. | | Pr. Vulgaris | | Mor. Morganii | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | العدد N=9 | النسبة المؤية | العدد N=5 | النسبة | العدد N=4 | النسبة | العدد N=1 | النسبة | العدد N=1 | النسبة |
| ١ | AK | ٢ | %٢٢,٢ | ٢ | %٤٠ | ٣ | %٧٥ | ٠ | %٠ | ٠ | %٠ |
| ٢ | C | ٥ | %٥٥,٥ | ٥ | %١٠٠ | ٤ | %١٠٠ | ١ | %١٠٠ | ٠ | %٠ |
| ٣ | NET | ٥ | %٥٥,٥ | ٤ | %٨٠ | ٢ | %٥٠ | ١ | %١٠٠ | ٠ | %٠ |
| ٤ | CAZ | ٥ | %٥٥,٥ | ٣ | %٦٠ | ٢ | %٥٠ | ١ | %١٠٠ | ٠ | %٠ |
| ٥ | AT | ٨ | %\|٨٨,٨ | ٣ | %٦٠ | ٣ | %٧٥ | ١ | %١٠٠ | ٠ | %٠ |
| ٦ | CTR | ٦ | %٦٦,٦ | ٥ | %١٠٠ | ٣ | %٧٥ | ٠ | %٠ | ١ | %١٠٠ |
| ٧ | CFP | ٣ | %٣٣,٣ | ٣ | %٦٠ | ٢ | %٥٠ | ٠ | %٠ | ١ | %١٠٠ |
| ٨ | NOR | ٣ | %٣٣,٣ | ٢ | %٤٠ | ٢ | %٥٠ | ٠ | %٠ | ١ | %١٠٠ |
| ٩ | SAM | ٣ | %٣٣,٣ | ٣ | %٦٠ | ١ | %٢٥ | ١ | %١٠٠ | ٠ | %٠ |
| ١٠ | PI | ٥ | %٥٥,٥ | ٤ | %٨٠ | ٤ | %١٠٠ | ٠ | %٠ | ١ | %١٠٠ |
| ١١ | GEN | ٢ | %٢٢,٢ | ٣ | %٦٠ | ٣ | %٧٥ | ٠ | %٠ | ١ | %١٠٠ |
| ١٢ | TM | ٦ | %٦٦,٦ | ٣ | %٦٠ | ٣ | %٧٥ | ١ | %١٠٠ | ١ | %١٠٠ |
| ١٣ | TI | ٩ | %١٠٠ | ٤ | %٨٠ | ٤ | %١٠٠ | ١ | %١٠٠ | ١ | %١٠٠ |
| ١٤ | CIP | ٤ | %٤٤,٤ | ٤ | %٨٠ | ٣ | %٧٥ | ٠ | %٠ | ١ | %١٠٠ |
| ١٥ | NIT | ٠ | %٠ | ٠ | %٠ | ٠ | ٠٥ | ٠ | %٠ | ٠ | %٠ |

S=SENSITIVE R=RESISTANT I=INTERMEDIATE

جدول (٥-٢) يوضح نسبة المقاومة الكلية للمضادات الحيوية

| ت | اسم المضاد | نسبة المقاومة الكلية |
|---|---|---|
| ١ | Ciprofloxacin | %٨٤ |
| ٢ | Amikacin | %٢٧,٤٤ |
| ٣ | Nitrofurantion | %٠ |
| ٤ | Norfluxacin | %٤٤,٦٦ |
| ٥ | Pipracillin | %٧٦,١ |
| ٦ | Aztreonam | %٦٤,٧٦ |
| ٧ | Trimethoprim | %٨٠,٣٢ |
| ٨ | Ampicillin-Sulbactam | %٤٣,٦٦ |
| ٩ | Gentamicin | %٥١,٤٤ |
| ١٠ | Ticarcillin | %٩٦ |
| ١١ | Chloramphenicol | %٧١,١ |
| ١٢ | Ceftazidim | %٥٣,١ |
| ١٣ | Cefepim | %٤٨,٦٦ |
| ١٤ | Ceftriaxone | %٦٨,٣٢ |
| ١٥ | Netillin | %٥٧,١ |

كذلك لاحظنا في هذه الدراسة ان للعمر والجنس تاثيرا على الاصابة بالبكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز حيث تبين ان اكثر فئة عمرية اصيبت بالتهابات المجاري البولية بالبكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز هي فئة (٣١-٥٠) سنة حيث ان لكبر العمر وضعف الجهاز المناعي لدى هولاء الناس ذوي الاعمار الكبيرة هو السبب الرئيسي لتزايد الاصابات بالتهابات المجاري البولية فيما جائت الفئة العمرية (١١-٣٠) سنة بالمرتبة الثانية حيث ان هذه الفئة تمثل الفئة العاملة في المجتمع وهم عرضة للاصابة ايضا

وتعتمد نسبة الاصابة على موسم جمع العينات والتدابير الصحية واختلاف المرضى حيث تزداد النسبة بين المرضى الراقدين والذين يعانون اصلا من ضعف الجهاز المناعي وفيما يلي جدول يوضح معدل الاصابة بين الفئات العمرية .

جـدول (٤-٣) يوضـح اعـداد الاصـابات والنسـب المؤيـة للمصـابين بالتهـاب المسـالك البولية بالبكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز

| الفئة العمرية | عدد الاصابات | النسبة المؤية |
|---|---|---|
| ١-١٠ سنة | ٢ | ١٠% |
| ١١-٣٠ سنة | ٦ | ٣٠% |
| ٣١-٥٠ سنة | ١٠ | ٥٠% |
| اكبرمن ٥١ | ٢ | ١٠% |
| المجموع | ٢٠ | ١٠٠% |

كمـا ان للجـنس تـاثير ايضـا حيـث كانـت النسـبة الاعلـى للاصـابة للنسـاء وكمـا موضـح فـي الجدول التالي

جـدول (٤-٤) يوضـح الاعـداد والنسـب المئويـة للـذكور والانـاث المصـابين بالتهـاب المسالك البولية

| الجنس | عدد الاصابات | النسبة المؤية |
|---|---|---|
| ذكر | ٤ | ٢٠% |
| انثى | ١٦ | ٨٠% |
| المجموع | ٢٠ | ١٠٠% |

## الاستنتاجات

١** اظهرت الدراسة ان البكتريا غير المخمرة لسكر اللاكتوز مسؤولة عن نسبة عالية من التهابات المجاري البولية لكلا الجنسين

٢** ابدت العزلات البكتيرية مقاومة عالية للمضادات الحيوية بستثناء بعض المضادات مثل مضاد Nitrofurantion

## التوصيات

١** ترشيد استهلاك الادوية المضادة للمايكروبات واستخدمها وفق ارشادات طبية وعدم الاستخدام العشوائي للعلاجات

٢** اجراء المزيد من الدراسات على هذا النوع من البكتريا لقدرتها العالية على مقاومة المضادات الحيوية وخصوصا ان هذه الانواع من البكتريا تسبب التهابات متعدة لجسم الانسان غير التهاب المجاري البولية

٣** ضرورة اجراء مسح دوري للمستشفيات ومراكز الفحص لمعرفة وتحديد مستويات مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية

٤** ضرورة تنبية وتوعية المواطنين على طرق وانماط حياة تضمن لهم الابتعاد عن مصادر التلوث البكتيري والاتهابات البكتيرية كذلك توعيتهم على خطورة التناول العشوائي للمضادات الحيوية ومايسببة من اضرار للجسم ومقاومة للبكتيريا عن طريق اقامة ندوات ودورات توعية صحية في المدن والقرى والمنشئات الصحية والتعليمية .



## References

**Verrier J. K. (2000)** . Screening after urinary tract infection in childhood . Arech Dis child ; 2:123-124

**Tangho B. J. and Macanich G., (2004)** : Bacterial infection of the genitrourinary tract in Geniral Urology Smith(Edi) United state of Americanies : Mcc Grantittill companies Inc ; 203-227

**Masson P. ; Matheson , S.Webster , A.C and Craig , J. C (2009)** .Meta-anlyses in prevention and treatment of urinary tract infection . infect Dis. Clin . north Am. 23 (2) : 335-355

**Linw , S.J. ; La, H. C. ; HO,S. W. and wang W.B (2000)** . inhibition of virulence factor expression and swarming differentiation in *Pr. Mirabilis*

By p. nitrophnyl glycerol Med. Microbiology 49: 725-731

**Craig J. C (2000)**. Treatment of acute pyelonephritis in children Br.Med J.: 179-180

**Mathai D. ; Jones, R. N. Pffaller , M . A. (2001).** Epidemiology and frequency of resistant among pathogens causing U.T.I in 15010 Hospetalized patient : areport from the sentry antimicrobial surveillance program ( north America) Diagn, microbial , Infect Dis. J, 40(3): 129-136

**Bass , P.F. Jarris, J .A. ; Mitchell, C.K. (2003)** . U.T.I Primary care ; clinical in office practice , 30(1) : 41-60 general

**Elder , J . S (2004)** . urinary disorder in infant and children , In : Nelson Textbook of pediatrics , Behraman R.E.; Kleigman , R.M.; Jenson H.B .(eds) , 17th ed . saunders , New Delhi 1785-1789

**Dattelbaum , J.D.J; Lockatell ; C.V .; Johauson , D. E. Hary , L. and Mobley , T. (2003)** . UreR, the transcribtion activator of the *Pr. Mirabilis* urease gene cluster is required for urease infection and immunity ; 7(2): 1026-1030

**Gunther , N.W.; Virginia , L.J David , E. and Harry , L.(2001)**. In vivo dynamics of type 1 fimbriae Requletion in Uropathogenic E. coli during expermintal U.T.I infect 69(5): 2838-2846

**Wegenlehner , F.M. ; Weidner W. and Naber , K.G (2009) .** an update on uncomplication U.T.I in Women Curr. Opin urol.: 19(4) : 368-374

**Lana , D.R. and Takhar , S. S. (2011)**. Diagnosis and manegment of U.T.I and pyelenephritis . Emergency medicin clinics of north America . 29(3): 39-52

**Reddy's , s.(2002)**. Urinary tract (kidney & bladder) infection J. of infection Disease : 159(4) : 400-600

**Soble .J . D , ; Kayes , D. (2000)** . U.T.I In mandell GL. Bennett JE, Dolin R.(ed). Mandell , Dougles and Bennetts Principle and practice of infection disease . (5th ed) Philadelphia. Churcill Living ston , 62:p773-805

**Mims , C. Playfair, J. ; Roitt , I. ; Wekelin, D. ; Williams ; RJ Anederson ; R.M(1993)** . medical microbiology mosby. London.

**Reinhard Funfstuck ;Vndinott; and kurt , G. Naber . (2006).** International Journal of Antimicrobial agent. 28(supplement 1) : 72-77

**Meryeir , M. (2000)** . U.T.I . The textbook of medical microbiology 9 third . , London . p:124-150

**Nikido , H. (1989)** . Outer membrane barriers as amechanisms of antimicrobial resistance . J. antimicrob . Agents chemother . g33 : 1831-1836

**Brooks, G. F. ; Butel , J. S. & More S. A. (1998)** : Jauuets, Melnic and adelbergs medical microbiology . Churchill living stone.

**البديري ز ثائر دعيشيش (٢٠١٠)** . دراسة بكتريلوجية ووراثية لبعض البكتريا المرافقة لخمج السبيل التنفسي في مدينة الديوانية . رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة القادسية . العراق

**زيدان ، اسراء علي (٢٠٠٧)** . دراسة بكتريلوجية ووراثية لبكتريا المكورات العنقودية المعزولة من عينات سريرية مختلفة ومقاومتها لمضاد الفانكومايسين . رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة بغداد . العراق

**الحميداوي . محمد سعود (٢٠٠٤)** . دراسة بكتريا السيدوموناس في عينات الحروق ومدى مقاومتها للمضادات الحيوية .رسالة ماجستير . كلية العلوم . جامعة بغداد . العراق

**المؤيد . سلام راهي & عاكف. علي سعيد (٢٠٠٣)** .عزل وتشخيص بكتريا Pseudomonas aerugenosa من عينات القشع ودراسة مقاومتها لبعض المضادات الحياتية