



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية - كلية العلوم
قسم علوم الحياة

**دراسة وصفية وجزيئية لجرثومة *Providencia* المعزولة
من مصادر مختلفة في محافظة الديوانية و مقاومتها
لمضادات حيوية مختلفة .**

رسالة مُقدمة إلى
مجلس كُلية العلوم – جامعة القادسية
وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة/ أحياء مجهرية

من قبل

راوية حسين علي الحداد
(بكالوريوس علوم حياة/كلية العلوم /جامعة القادسية /2015)

بإشراف

أ.م.د. فراس سرحان عبد المياحي

حزيران 2018 م

شوال 1439هـ

الخلاصة

استهدفت هذه الدراسة عزل وتشخيص بكتريا *Providencia spp.* من مصادر متنوعة في محافظة الديوانية , إذ جمعت 1209 عينة تضمنت جمع 791 عينة سريرية (قشع 305 عينة, حروق 245 عينة , إدرار 174 عينة , براز 37 عينة , جروح 30 عينة), و 288 عينة بيئية (فضلات الطيور 116 عينة , مياه ملوثة 107 عينة , مياه شرب الأبقار 33 عينة , تربة 32 عينة) , و 130 عينة لحوم (اسماك 53 عينة , لحوم أبقار 42 عينة , لحوم دجاج 35 عينة) للفترة من شهر تشرين الأول 2016 إلى شهر كانون الأول 2017.

أثبتت نتائج الزرع المختبري والفحص المجهرى والاختبارات الكيموحيوية والتشخيص التأكيدى باستخدام نظام API-20E system ونظام Vitek 2 system , و التشخيص النهائى باستعمال مورثة *16S rRNA gene* التشخيصية عائدة 18 عزلة لبكتريا *Providencia spp.* (10 عزلات للنوع *P.alcalifaciens* , 8 عزلات للنوع *P.rettgeri*).

أجرى اختبار الحساسية الدوائية لجميع العزلات في الدراسة الحالية تجاه 31 مضادا حيويا والعائدة لـ 12 صنف من أصناف المضادات الحيوية وكانت العزلات التي قاومت مضادا واحداً من ثلاث أصناف على الأقل من المضادات الحيوية عدت من البكتريا ذات المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية (MDR). إذ أبدت العزلات أعلى نسبة مقاومة 100 % لمضاد Nitrofurantoin يليه المضادات Ampicillin و Azthromycin بنسبة 94.4% لكل منهما ثم مضاد Amoxicillin / clavulanic acid بنسبة 72.2% , كما بلغت نسبة المقاومة الجرثومية (44.4% , 38.9% , 33.3% , 33.3% , 22.2% , 16.7% , 11.1% , 11.1%) لمضادات Piperacillin / Tigecycline , Tetracycline , Ampicillin/sulbactam , Cephalexin , tazobactam , Nalidixic acid , Cefuroxime و Trimethoprim على التوالي , وسجلت مضادات Imipenem, Cefotaxime و Trimethoprim -Sulfamethaxazole نسبة مقاومة بلغت 5.6% لكل منها, في حين أبدت البكتريا حساسية تامة بنسبة 100% لكل من مضادات Cefexime , Ceftriaxon , Meropenem , Azteronam , Amikacin , Gentamicin , Tobramycin , Ciprofloxacin , Norfloxacin و Chloramphenicol أما مضادات Levofloxacin, Cefepime , Ceftazidime , Cefoxitin , Ticarcillin / clavulanic acid و Ofloxacin فكانت البكتريا حساسة لها بنسبة 88.9% , 61.1% , 94.4% , 94.4% , 94.4% و 88.9% على التوالي .

وكانت هنالك فروق في نسب المقاومة لعدد من المضادات الحيوية إذ كانت نسب المقاومة التي أبدتها البكتريا تجاه مضادات Cefuroxime , Cefoxitin , Amoxicillin/clavulanic acid ,

Cefepime و Levofloxacin , Ciprofloxacin قد بلغت 72.2% , 0% , 11.1% , 0% , 0% و 0% على التوالي بالاعتماد على CLSI-2017 , بينما بلغت النسب 83.3% , 44.4% , 16.7% , 16.7% , 11.1% و 5.6% لنفس المضادات و على التوالي بالاعتماد على EUCAST-2017 .
أخضعت العزلات المشخصة للتحري عن قابليتها على إنتاج إنزيمات البيتا-لاكتاميز مظهريا إذ تم التحري عن إنتاج إنزيمات البيتا-لاكتاميز واسعة الطيف ESBLs باستعمال طريقة الأقراس المتاخمة و بلغت نسبة إنتاجها 66.7% , أما قابليتها على إنتاج إنزيمات البيتا-لاكتاميز نوع AmpC فتم التحري عنها بطريقتين : التحري الأولي للـ Cefoxitin و التحري التأكيدي Ceftazidime-Imipenem Antagonism Test (CIAT) وكانت نسبة إنتاجها 44.4% و 37.5% على التوالي .

و جرى التحري عن إنتاج إنزيمات البيتا-لاكتاميز المعدنية (Metallo beta -lactamases) بطريقة Imipenem-EDTA و قد تبين أن 80% من هذه العزلات كانت منتجة لهذه الإنزيمات كما استعمل اختبارا هودج المحور Modified Hodge Test و Disc Potentiation Test إلا أنهما لم يعطيا نتيجة ايجابية .

تم التحري عن بعض جينات المقاومة للمضادات الحيوية بين عزلات *Providencia spp.* في الدراسة الحالية جزئياً باستعمال تقنية (PCR) وظهر أن العزلات كانت حاملة لكل من مورثات *bla_{CTX-M}* و *bla_{OXA}* و *bla_{SHV}* وبنسبة 77.8% , 50% و 5.6% على التوالي , فيما خلت من مورثات *bla_{PER}* , *bla_{TEM}* و *bla_{NDM}* , و مورثة *qnr* المشفرة لمقاومة مضادات الكوينولون .
خُلت نتائج الشجرة الوراثية باستعمال برنامج MEGA 6 وباختيار طريقة (Neighbor-Joining Method) لعزلات *Providencia spp.* المشخصة بواسطة تقنية (PCR) بالاعتماد على مورثة *16S rRNA gene* و بحجم 546 زوج قاعدي وقد كانت نسبة المطابقة عالية بين الأنواع المحلية المشمولة بالدراسة الحالية مع نظيراتها المسجلة عالميا في المركز الوطني لمعلومات التقنيات الإحيائية NCBI , وبينت الشجرة الوراثية وجود مجموعتين رئيسيتين الأولى تمثل السلالات العائدة للنوع *P. alcalifaciens* بينما الثانية تمثل السلالات العائدة للنوع *P. rettgeri* مع وجود مسافات تمثل البعد الوراثي بين الأنواع العائدة لجنس *Providencia spp.*