وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية
كلية التربية
قسم علوم الحياة

دراسة مقاومة بكتريا الكليبسيلا الرئوية للمضادات الامينوكلايكوسايد

بحث تخرج من أعداد الطالبة (مريم رزاق جهاد)
بإشراف أ.د. أزهار نوري حسين

1440 هـ 2019م

أقرار المشرف

أشهد أن مشروع البحث المعنون (دراسة مقاومة بكتريا الكليبسيلا الرئوية للمضادات الأمينوكلايكوسايد)

أجري تحت أشرافي في قسم علوم الحياة ...

كلية التربية ... جامعة القادسية

وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس

في علوم الحياة .

التوقيع :

الأسم : أزهار نوري حسين

اللقب العلمي : أستاذ

التاريخ :   \ \ 2019

الأهـــداء

الى سيدنا ونبينا محمد والى اله الطيبين الطاهرين عليهم افضل الصلاة والسلام..... الى من حصد الاشواك ليمهد لي طريق العلم والمعرفه الى القلب الكبير ...... والدي اطال الله بقائة و البسه ثوب الصحة و العافية

الى من نذرت عمرهافي اداء رسالة صنعتها من اوراق الصبر وطرزتها في ظلام الدهر .... أمي الغالية أمد الله في عمرها بالطاعات

الـــــــــــــــــى الروح التي سكنت روحي ... زوجي

الـــــــــــــــى جزئي الذي لا يتجزئ ابنتي ....جنـــــــات

الى اخوتي و اخواتي وفقهم الله في مشوارهم الدراسي

الى كل من علمني حرفاً اصبح سنا برقةُ يضيء الطريق امامي .. . . اساتذتي وفقهم الله

الخلاصة

شخصت 10عزلات تابعه لبكتريا *klebsiella pneumoniae* بعد الحصول عليها من مختبرات كلية التقانة الاحيائية قسم التقانة الطبية .

وبعد اجراء سلسلة من الفحوصات التشخيصية اختبرت مقاومة العزلات البكتيرية ضد 5 انواع من مضادات الامينوكلايكوسيدات وأبدت العزلات مقاومة مختلفة

ضد هذه المجموعة المتضمنة

و Kanamycin وAmikacin وGentomycin
streptomycin و Tobramycin

إذ بلغت نسبة المقاومة 50% ، 40 %، 50%، 40%
, 60% وعلى التوالي .

المقدمة

بكتريا ال *klebsiella* هي عصيات غير متحركة - Non - motil rood shaped وسالبة لصبغه گرام gram negative bacilli مع وجود محفظة دائمية للمتعدد السكريدي Prominent poly sacchuride التي تظهر العينات المصبوغة بصبغة گرام ويعتمد التصنيف السيرولوجي على اختلاف التراكيب في الكبسولة الى النوع Poly saccharide k antigens والنوع Mucoid antigen , lipopoly saccharide O antigens ويوجد 77 من المستضد k antigens k و 9 انواع من المستضد O antigens O **(Farmer , 1999)** .

تعتبر بكتريا *klebsiella* احد انواع بكتريا النبيت الطبيعي Nourmal flora والمهمة لصحة القناة الهضمية ولوظائفها اذ توجد بكتريا klebsiella في الجهاز التنفسي والقناة البولية والامعاء للانسان والحيوان حيث يحتوي الجسم على الملايين من البكتيريا في القناة الهضمية بداية من القولون والامعاء الغليظة.

وتحصل الاصابة بالكليبسيلا في الاشخاص الذين لهم جهاز مناعي ضعيف مثل الاشخاص المصابين بالسكري diabetet والذين لديهم امراض رئوية مزمنة chronic dung disease قد تحصل الاصابة عند وجود المريض في المستشفى لسبب معين . وتعتبر هذه البكتريا ممرضه انتهازيه للانسان حيث تأتي بالدرجة الثانية بعد بكتريا E, coli في اصابات المسالك البولية . **(Eichoff , l972)**

يعود حدوث الاصابة بالبكتريا الكليبسيلا الرئوية الى عوامل الضراوة الجرثومية virulence factors وعدد الجراثيم المتواجدة في مكان الاصابة ومناعة الشخص المصاب. **(Atlas, 1994)** .

تمتلك بكتريا الكليبسيلا بعض الخصائص التي تؤهلها للأستيطان والدخول الى الأنسجة ومنها المحفظة capsules التي تساهم في عملية الالتصاق وتساعد على تخليص البكتريا من البلعمة ، والاهداب fimbria الموجودة على سطحها لتتمكن من الالتصاق بالخلايا الطلائية للعائل .
(Prescott et al , 1990).

كما توجد عوامل اخرى تدعم بقاء هذه البكتيريا وتنافسها مع الميكروبات الاخرى مثل انتاج بعض انواع الإنزيمات كانتاج البيكتريوسين **(Riely , 1998)**

و أنزيمات اليوريز والهيمولايسين **(Baron et al , 1994)** .

وانتاجها لمركبات الـsidrophores كالـAerobactin الذي يساعدها في عملية أنتزاع الحديد الذي يحتاج إليه في نموها وتكاثرها من العائل **(crosa, 1989)** .

حيث تقوم بكتريا الكليبسيلا بتكوين محفظة كبير من متعدد السكريات المحب للماء Hydrophilicl. **(Allen et al , 1987)**

كما اشار الباحث أن للمحفظة دور مهم في احداث مرض ذات الرئة وان السلالات التي لاتحتوي على محفظة تكون قليلة الظراوة **(Atla, 1994)** ان انتاج البكتروسين من قبل بكتريا الـklebsiella يشترك في عدد من الصفات العامة منها انها بروتينات ذات وزن جزئي عالٍ لها القابليه على قتل السلالات القريبة منها سواء كانت اجناس اوانواع ان هذه البروتينات ذات الأوزان الجزئية العاليه تدخل الى داخل الخلية عن طريق مستقبلات سطحية خارجية وتستعمل قناة ذات نفاذية للأيونات في الغشاء الخلوي يؤدي الى قتل البكتريا أو انها تعمل على تقطيع DNA في عدة اماكن غير متخصصة اوانها تعمل على تنشيط عملية تخليق البروتينات عن طريق احداث انشطار معين في 16 S,rRNA

(Riley , 1998)

تعتبر بكتريا الكليبسيلا هي المسبب الرئسي لالتهابات المسالك البولية ويحدث التهاب المسالك البولية في الأشخاص الذين يعانون من مشاكل في القناة البولية مثل بعض التشوهات الخلفية كوجود ضيق في مجرى البول اوعائق مثل الحصى والاورام مما يؤدي الى ركود الادرار وبالتالي يشجع نمو الجراثيم والتصاقها بالخلايا الطلائيةوحدوث الاحالة **(pingl, 1984)**

تمتاز البكتريا الكليبسيلا بمقاومتها العالية للمضادات الحياتية ومنها مضادات الأمينوكلايكوسايد ذات الاهمية السريرية والتأثير القاتل للبكتريا معاً ومنها Kanamycin; Amkacin; Neomycin; streptomycin; Gentamicn

تشترك هذه المضادات في الخواص التركيبة والفعالية الحركية والدوائية. تعمل هذه المضادات على تثبيط تخليق البروتين وذلك عن طريق ارتباطها بالوحدة الرايبوسومية الصغيرة (30S) وتثبيط معقد البداية (Intiation complex) في عملية تخليق البروتين مما تؤدي ذلك الى حدوث خطأ في قراءة mRNA, ومن ثم يؤدي الى انتاج بروتين غير فعال ، أي لاتتكون اواصر ببتيدية **(mandell et al , 2015)**

تقاوم البكتريا هذه المجموعة من المضادات من خلال انتاجها للانزيمات التي تحور الموقع الفعال للمضاد الحياتي ومن هذه الأنزيمات هي AcetyltransFerase; phosphotransferase; kinase; Nucleotidtransferase

التي تعمل على تحور الموقع الهدف لهذا المضادات الحياتية وكذلك تعمل على تحوير جزئية المضاد الحياتي مما يؤدي الى عدم قدرة المضاد على الأرتباط بالرايبوسوم وفقدان فعاليتيه

(Ramirez and Tolmasky ; 2010) .

ومن الاليات المقاومة الاخرى التي تمتلكها هذه البكتريا خارج الخلية وعدم وصوله الى موقع عمله هذه من الميكانيكيات الفعالة في مقاومة مضادات الامينوكلايكوسيدات

. (Magnet et al ; 2001)

من مضادات هذه المجموعة مضاد الجنتاميسين الذي يعتبر علاجاً للمشاكل البولية وهو من علاجات الخط الاول في هذا المجال ويكثر استخدامه كمضاد اولي ضد البكتريا المعوية

(Therapeutic Guidelines , 2010)

يوصف مضاد الجنتامايسين كخليط مع مضادات البيتالاكتام لتقليل نشوء المقاومة ضذ هذا المضاد الحياتي وتظهر له فعالية كبيرة عنده خلطة مع البنسلينات ضد بكتريا المتقلبات والزوائف والأنواع السالبة لصبغة غرام

(Katzung , 2001)

اما مضادالاميكاسين(Amikacin) فهو من المضادات شبه المصنعة والمشتقة من الكانامايسين ،فيستخدم في علاج الأخماج التي تسببها بكتريا *Enterobcter spp. , Proteus Spp. , E.coil* . المقاومة للأمينو كلايكوسيدات الأخرى وهو مقاوم لأكثر الأنزيمات المشفرة بالبلازميدات

. (plasmid-med iutlentyme)

(Tsadilova and labby , 2015)

المـــــــــواد و طـــــريقة الـعمـــــــــل

- **العزلات قيد الدراسة**

تم الحصول على عزلات بكتريا ***klebsiella ssp.*** من مختبرات كلية التقانة الاحيائية /قسم التقانه الطبية والبالغة عددها 10 عزلات.

وتتم التأكد من هذه العزلات باستخدام سلسله من الفحوصات الكيموحيوية والمتضمة جدول (1)

1- **الفحص المجهري /** تضمن اختبار الفحص المجهري للمستعمرات البكتريه بأخذ مسحة من هذه المستعمرات النامية على الأوساط الزرعية وتثبيتها و تصبيغها بصبغة غرام لملاحظة الشكل وتجمع الخلايا البكترية وتفاعلها مع الصبغه وفحصها تحت المجهر الضوئي**(forbes.et.al,2007)**

2- **اختبارالاندول Indol test** / لقح وسط ماء الببتون بالبكتريا المراد اختبارها ثم حضن الوسط بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعه وبعد ذلك اضيف بضع قطرات من كاشف كوفاكس (kovac`s reagent)الى الوسط وان ظهور حلقه حمراء اللون دلاله على ايجابية الاختبار . **(macf a ddin,2000)** .

3- **اختبار الاحمر المثيل methyl test** / لقحت الأنابيب الحاوية على الوسط الزراعي MR-VP media بالمزروع البكتري ، وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعه وبعد انتهاء مدة الحضن اضيفت 5 قطرات من كاشف احمر المثيل وان ظهور اللون الأحمر في الانبوبة تعد النتيجة موجبة ودلالة على انتاج الحامض ، في حين بقاء اللون الاصفر نتيجة سالبة **(collee et, al, 1996)**

4- اختبار استهلاك السترات citrate utilization test / استخدام هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتريا لاستهلاك السترات التي تعتبر مصدراً وحيداً للكاربون ، اذ تم تلقيح وسط simmo citrat agar المائل بالمستعمرات البكتريه المراد اختبارها وحضن بدرجة حرارة 37مْ ولمدة 24-48 ساعه . ان تحول لون الوسط من الاخضر الى الازرق دلاله على ايجابيه الفحص اي استهلاك البكتريا للسترات

. (winn .et . al; 2006).

5- اختيار فوكس – بروسكورvoges- proskaur /اجري الاختبار بتقليح الوسط الزراعيMR-VP بالمزروع البكتري ، وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24-48 ساعه بعد ذلك اضيف 0.5 مل من محلول الكاشف الفانفثول و 0.2 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم الى كل انبوبة مع التحريك الهادئ ثم ترك ساكناً لمدة 10-15 دقيقة.

ظهور اللون الرمادي دلاله على ايجابية لاختبار التي تشير إلى التحلل الجزئي للسكر وانتاج مركب Acetyl methyl carbonyl

.(collee et al.,1996)

اختبار مقاومة العزلات البكتريه للمضادات الحياتية
بطريقة الانتشار بالاقراص

اختبرت الحساسية الدوائية للعزلات البكتيرية بطريقة الاقراص اعتماداً على طريقة **Bauerو جماعته (1966)** ، اذ نقل 4-2 مستعمرة من بكتريا Klebsiella ssp. الى انبوبة اختبار حاوية على 5 مل من الوسط المغذي السائل ثم حضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 18 ساعه خفف النمو الحاصل باستعمال المحلول الملحي الفسلجي وقورن النمو مع انبوبة ماكفرلاند 0.5 القياسية ، وغمست المسحة القطنيه بالوسط الزرعي المخفف وتم نشر البكتريا على وسط مولرهنتون الصلب بطريقه التخطيط وبعدة اتجاهات للتاكد من نشر البكتريا المراد اختبار حساسيتها بالتساوي ، ثم وضعت اقراص المضادات الحياتية على سطح الوسط .وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 18 ساعه ، وسجلت النتائج اعتماداً على قياس قطر منطقه التثبيط المتكونة حول القرص ، وقورنت النتائج مع القيم القياسية المذكورة في

(CLSI, 2012).

النتـــائـــــج والمنــــاقشــــــه

تم الحصول على العزلات قيد الدراسة لبكتريا ***Klebsiella pneumonia*** من مختبرات التقانة الاحيائية / قسم التقانه الطبية والبالغه عددها 10 عزلات وتم التأكد منها باجراء سلسله من الفحوصات الكيموحيوية والمنضمة جدول (1) هذه النتيجة متفقة مع ماذكرة**(collee.et. al; I996)**

الاختبارات / البكتريا	صيغة غرام	الاندول	احمر المثيل	فوكس بروكسور	استعمالات السترات
Klebsiellaspp	–	+	–	+	+

واظهرت النتائج المبينة في جدول (2) ان 5 عزلات (50%) من بكتريا**klebsiella spp.** كانت مقاومة لمضاد ال**Gentomycin** تقترب من النسبة التي حصل عليها **ياسين (2005) وسلمان (2008)** والتي بلغت نسبة المقاومة لهذا المضاد 57% و 50% على التوالي في حين كانت دراسة كلا من Al- (2010) baytti**والعزاوي وجماعتة (2015)** فقد كانت نسبة المقاومة 90.9% و 83.8% على التوالي في حين سجل **الطائي (2002)**أدنى نسبه مقاومة هي 32% . ان مقاومة مضاد الجنتاميسين التي تبديها البكتريا السالبة لصبغة غرام بسبب وجود البلازميدات المشفرة الى الانزيمات المحورة للامينوكلايكوسيدات وكذلك سبب المقاومة المضاد الجنتاميسين هو وجود عناصر وراثية على كروموسوم الخلية البكترية تشفر لانزيمات مثبطة للمضاد حيث تعمل هذا الانزيمات على تحوير المجموعة الامينية او مجموعه الهايدوكسيلية لمضادات الامينوكلايكوسيدات او تكون المقاومة عن طريق تغير موقع ارتباط المضاد بالرايبوسومات اثناء عملية تخليق ابروتين من خلال حدوث طفرة في الوحدة الرايبوسومية **S 16**rDNA .

وقد يكون سبب الأختلاف في هذه النسب هو الاستخدام الواسع لمضاد الجنتاميسين في المستشفيات التي اصبحت بيئة ملائمة لظهور الاحياء المجهرية المقاومه لمضاد الجنتاميسين **(Fernandes et al. ;2003)**

اما بالنسبة لمضاد Amikacin تبين ان عزلات بكتريا *kelbsiella ssp*. قد أبدت مقاومة متوسطة إذ بلغت نسبة المقاومة 40%وكانت هذة النتيجة مقاربة الى ماتوصل الية **العزاوي وجماعته(2015)** اذ بلغت نسبة المقاومة 43.2% في حين اختلفت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل الية **(Gafil and Jaloob ; 2012)** اذ بلغت نسبه المقاومة 100% في حيث كانت دراسة **الجناحي (2013)** بينت بان جميع عزلات بكتريا السالبة لصيغه غرام اظهرت عدم مقاومتها اتجاه هذا المضاد. إذ أن المقاومة التي تمتلكها هذه البكتريا ضد مجموعة من المضادات الحياتية للامينوكلايكوسيدات ناتجة من التغير الذي يحدث في الوحدة الرايبوسومية 30S التي يرتبط بها المضاد ويؤدي هذا التغير الى نقصان ألفة المضاد لها ومن ثم يؤدي الى مقاومة الخليه البكتيرية **(Fluit et al ; 2001).**

ابدت عزلات بكتريا*Klebsiella spp.* *مقاومة بلغت 60%* في حين بلغت نسبة مقاومةTobramycin 40% ومقاومةkanamycin 50% . تعد نسبة مقاومة streptomycin مقاربة لما توصل الية **Gad وجماعتة (2011)** اذ بلغت نسبة المقاومة لها (75%) وبين ان نسبة المقاومة لمضاد kanamycin (50%) وهي مطابقة من نسبة المقاومة في الدراسة الحالية . ان انتاج الانزيمات التي تعمل على تحليل المضاد في البكتريا السالبة لصبغة غرام ,اضافة الى اسباب المقاومة العالية ضد هذه المضادات تقع ضمن عمليات الاستنساخ للموقع الهدف على الرايبوسوم بحيث يصبح المضاد لايميل الى الارتباط بالموقع الهدف او عن طريق تقليل تركيز المضاد داخل الخلية الهدف وهذا اما ان يكون عن طريق تقليل تركيز المضاد داخل الخلايا بسبب تقليل في نفاذية الغشاء الخارجي للخلية البكتيرية اوعن طريق امتلاكها الية الدفق الفعال.

ويمكن تفسير نسب المقاومة التي ابدتها عزلات بكتريا ***klebsiella*** spp. لمضادات الامينوكلايكوسيدات في الدراسة الحالية الى زيادة الاستخدام العشوائي للمضادات الحياتية.وكذلك استخدام جرع تحت العلاجية مما يؤدي ذلك نشوء العزلات الطافرة الى جانب ذلك انتاج الانزيمات المحورة للامينوكلايكوسيدات (AMES)والتي قد تكون جيناتها المشفرة لهذه الانزيمات محمولة على البلازميد اوعلى الكرموسوم **(Aghazadehetal.,2014).** ان المقاومة المعتدلة التي ابدتها العزلات الكليبسيلا اتجاة هذه المجموعة من المضادات دفعت الناس الى استعمال مضادات الامينوكلايكوسيد في العلاج لجودة عملها وتوفرها ورخص ثمنها .

جدول (2)حساسية عزلات بكتريا الكليبسيلا لمضادات الميتوكلايكوسيدات

streptomycin	Tobramycin	Kanamycin	Amikacin	Gentomyqin	المضادات / العزلات
S	R	R	S	S	K1
R	R	R	R	S	K2
R	S	S	S	R	K3
R	R	S	S	S	K4
R	S	R	S	R	K5
S	S	S	R	R	K6
R	R	S	S	S	K7
S	S	R	R	R	K8
S	S	R	S	S	K9
R	S	S	R	R	K10
60%	40%	50%	40%	50%	النسبةالمئوية

S : Sensitive حساسية

R : Resistance مقاومة

المصـــــــادر العـــربيــــــــة

1- الجناصي ، مروة راهي عبد المنعم (2013) لبكتريا protens mirbilis المسببة لالتهاب المجاري البوليه في الاطفال . رساله ماجستير ، كلية التربية. جامعة القادسية

2- -سلمان ، افاق رشيد (2008). قوعه بعض انواع المتقلبات proteus sppالمعزولة من شمع الاذن الوسطى في بعقوبه وضواحيها ، رسالة ماجستير ، كلية العلوم ، جامعة ديالى

3- -الطائي ، كرامة تحرير احمد (2002) . دراسة تصنيفية وجزيئية لبعض عوامل الضراوة للبكتريا الممرضه proteus mirabilis رساله ماجستير كلية العلوم. جامعة بغداد. العراق

4- العزاوي ، عدنان نعمة عبدالرضا والطائي ، هادي رحمن رشيد والرجب ، ابراهيم عدنان محمود (2015) . دراسه بكتريولوجيه لبكتريا proteus mirabilisالمعزولة من اصابات سريرية مختلفة في مدينة المقدادية. مجلة ديالى للعلوم الصرفه .11(2)

5- ياسين ، نجلاء نبهان (2005). دراسة تاثير الاوزون المذاب في الماء على بكتريا proteus mirabilisالمعزولة من المصابين لجروح وحروق مختلفه وعلى عمليه شفاء الحيوانات المختبرية المصابة بالبكتريا نفسها . رساله ماجستير ، كلية علوم جامعة بغداد. العراق.

المصـــــادر الانكلـــــــيزيـــــــة

1- martin, w.J., p., k.w.Yu, and Martin.W.J.P.K.W.Yu.and J.A.washington.(1971).Epidemiological significance of klebsiella pneumoniae-a3 month study. Mayo c. in. Proc. (46:785-793.3) selden, R., S.Lee, W.LL. Wang, J.V. Bennett and T.C.Eichoff. 1971. NoSocomial klebsiella infection : intestinal colonization as resevior . Ann. Intern. Med. 74: 657.664

2- pingle, A.(1984).UTI. In: Jiusain, I.(Ed.) Tropical vrology and renal disease . churchil- livingston, Iidin burgh p:13

3-prescott,L.M., Harley, J.p and klein, D.A.(1990). Microbiology. 1st ed. Wm. C.Brown publishers

4-Bamirez, M.S. and Tolmasky, M. E.(2010). Aminoglycoside mod –ifying enzymes . Drug

5-Riely, M.R.(1998).molecular mechanisms of bacteriocin evolution Ann. Rev. Genet. 32: 255-278.

6 -The rapeutic Guidelines (2010).Antibiotic, 14 edn. Mel bourne: Tnerapeutic Guidelines

7-Tsodikova ,S.G.and labby , k.J.(2015). Mechanisms of resistance to aminoglycoid anti biotics: over view and perspectives .J.is the Royal Soci. Of chem., vol. 19, pp: 43.58.

8-Allen .P;Hart,C.A.and. sauders, J,R(1987)Isolation from klebsiclla and characterization of two regents that activate

cdonic acid capsular biosynthesis in Escherichia coli :. j. General microbiol.; 13:331-340.

9- At las; R.M(1994).principles of microbiology.
1 st ed .mosby year book :Inc .p:888.

10-Aghazadeh`.,M.;Hojabri, Z. ;Mahdian; R.Nahaei; M.R.;Rahmati,M.; Hojabri; T.;and pajand ;O.(2014).Role of efflux pumps: Mex AB-opr M and Mex XY(-oprA) ; Amp C Cephalosporinase and oprDporin in non –metallo –B- lactamase producing Pseudomonas
aeruginosa isolated from cystic fibrosis and burn patients. Infeciton ; Genetics and Evolution ;vol 24 , pp :187-192.

11- Al-baytti; S. A. K(2010).A bacteriological and genetic studies of proteus ssp.caused urinary tract in fection in Tikrt district. Thesis .vniyersity of Tikrit.

12- Bouer; A.W.;Kirby `W.M.M; Sheris, J.C and Truck ,M.(1966).Antiotic susceptility testing by astandardized sigle disk method .AM. J .Clin .pathol ; vol .45,pp :493-496

13- Baron. E.J; peterson ,L.R .and finegold S.M.(1994).Bailey and scotts Diagnostic Microbiology .9th ed .mosby year book Inc.P958.

14 CLSI, clincical and laboratory standards in stitute .(2012):perfor -mance. Standards for anti mlcrobial susceptility testing .20th in formation al supplement .M100-s22.;wayne,pa; 32(3).

15- Collee ,J.C.;Farser ,A.G.;Marmiam, B.P and Simmon, S.A.(1996).-Mackie and McCartney ;practicCal Medical Microbiology. 24th ed .The churchill Livingstone .Inc. USA.

16- Eickhoff ,T.C.(1972).klebsilla pneumoniae ifection : areview with refernc to the water -borne epidemiologic significance of k.pneumoniae Presence in the natural environment – nqtional counil of the paper Industry for Air and stream Improvement ,Inc. Technical Bulletin no. 254 ,New york , N.y.

17 -Farmer J.J.(1999).Enterobacteriacea: Introduction and identification in: murray PR, Baron, EJ, pfaller MA. eds. Manual of clinical microbiology. 7th ed .washington . Dc. American society for microbiology, : 438-47.

18- Flute , A.C, visser m m.roundschmitsf.j.(2001) Molecular detecation of ontimecrobiaersistanceclin . microbiol – Rev-vol 41,p.p 836-871

19- Forbes, B.A., sahm, D.f. and weissfeld, A.S.(2007) Diagnostic microbiology. 12th ed. Bailey and scotts. Mosby Elsevier. China.,pp: 93-247.

20-Gad, G.F., Mohamed ,H.A.and Ashour, H.M.(2011). Amino - glycosider resistance rates, phenotypes, and mechanisms

21- Gerlach, G.F., clegg, S.and Allen, B.L.(1989). Identification and characterization of genes encoding the type 3 and type 1 fimbria adhesins of klebsiella pneumoniae . J. Bacteriol., 171(3).1260-1270.

22- katZung, B.G.(2001).Basic and clinical pharmacology . 8th ed. New york, Lange medical Books. Mc Graw - Hill medical publishing division. 1217.

23- jaloob A.A and Gafil , F.A (2012) Effect of some antibiotics on aerobic pathogenic bacteria causing otitis media and urinary tract infection in ALmonathera city in Iraq : A comparative in vitro study Q.M.J.VD.8(13) , PP:156-168.

24- Macfaddin , J.F (2000) Biochemical tests for identification of medical Bacteria . 3rded . Lippincott Williams and wilkins , USA.

25- Magent,S, courvalin ,P, and Lambert T(2001) Resistancel – Nodulation – cell Division – type efflux pump In-Ved in Aminogly – coside Resistance in Alcintobacter baumannii strain BM 4454 Anti mcrop Agents chemother .
vol.45(12) , pp:3375 – 3380

26- Mandell , GL: Bennett JE . Dolin ,R.M.Douglas and Bennctts (2015) . principles and practice of infections diseases 7th edn . philadiphia , PA. Churchill Livingstone \ Elsevier

27- winn , J.W, Allen , S, Janda , w., koneman, E. , Procop ,G. , schreckenberger , P and woods, G. (2006) koneman"s color Atlas and text book of Diagnostic Microbiology 6th ed , Lippincott raven Publishers . Philadelphia,PP: 239-270.USA.