مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 20 العدد 4 سنة 2015

عزل وتشخيص جرثومة*providenciarettgeri* من حالات سريرية مختلفة ودراسة مقاومتها للمضادات الحيوية

تاريخ الاستلام:2013/11/15 تاريخ القبول: 2014/1/21

أزهار نوري حسين أحلام علي صخي الغالبي*
كلية الصيدلة/ جامـــــعة القادسية قسم علوم الحياة/كلية التربية/جامعة القادسية

الخلاصة:

شُخِصت 11 عزلة عائدة لجرثومة *Providencia rettgeri* من بين 750 مسحة جُمِعت من وحدات العناية المركزة وردهات الحروق وصالات العمليات ووحدة الجراحة البرلية, كما أُخذت مسحات من الأجهزة والأدوات الطبية المستخدمة في مستشفيات مدينة الديوانية للفترة الممتدة من 2012/2/1 ولغاية 2013/3/1.

شُخصت العزلات بالإعتماد على الصفات الزرعية والمجهرية والإختبارات الكيموحيوية أضافةً إلى التشخيص بنظام الـ Vitek system.

أُختبرت مقاومة العزلات الجرثومية إتجاه 22 مضاداً حيوياً شائع الإستعمال لمعرفة مدى مقاومتها لتلك المضادات؛ إذ أبدت مقاومتها لـ:

1- مضـــادات مجموعــــة البيتالاكتــــام المُتضـــمنة البنســـلينات (Penicillin و Ampicillin و Amoxicillin و Pipracillin) بنسبة 100% والسيفالوسبورينات (Cefotaxime و Ceftazidime و Cefalothin) بنسبة (81.8 و 90.9 و 72.7)% على التوالي.
2- مضـــادات مجموعــة الأمينوكلايكوســيدات (Gentamicin و Streptomycin و Tobramycin و Amikacin) بنسبة (100 و 81 و 90.9 و 100)% على التوالي.
3- ومضـــادات مجموعــة الكوانيلينــات (Norflaxicin و Ciprofloxacin و Ndidixacin) بنسـبة (100 و 63.6 و 100)% على التوالي.
4- مضادي ألـ (Tetracyclin و Chloramphenicol) بنسبة (100 و 90.9)% على التوالي.
5- مضـــادات ألـــ (Erythromycin و Trimethprim و Nitrofurantion و Rifampcin) بنسـبة (81 و 63.6 و 90.9 و 72.7)% على التوالي.
6- مضاد ألـ Impinem بنسبة 0% مُبدية حساسية تامة (100%) لذلك المضاد.

كما حُدِدَ التركيز المثبط الأدنى لعدد من المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة ومنها: Cefatizidine و Cephalothine و Ampicilline و Amoxicillin ولتي أضهرت نمو المستعمرات في تراكيز عالية من المضادات الحيوية تراوحت بين (4 – 1024) مايكروغرام. مل-1.

الكلمات المفتاحية : السيفالوسبورينات, البنسلينات ,مضادات حيوية .

***البحث مستل من أطروحة دكتوراه للباحث الثاني**

Microbiology classification : QR75995

المقدمة Introduction

تنتمي جرثومة *Providucia rettgeri* إلى العائلة المعوية ضمن مجموعة Proteecae الواسعة الإنتشار في الطبيعة التي يمكن عزلها من مصادر عدة كالتربة والماء وبعض الحيوانات [1], فضلاً عن وجودها في بيئات المستشفيات [2]؛ لذا وصفت هذه الجرثومة بأنها أحدى ملوثات المستشفيات وأصبح وجودها مشكلة يعاني منها الكادر الطبي [3]. ويعد هذا النوع من الجراثيم الإنتهازية المسؤولة عن العديد من الإصابات مكتسبة من المستشفيات والتي تشمل إلتهابات المجاري البولية Urinary tract infections (UTI) ولا سيما مستخدمي القثطرة البولية والراقدين في وحدات العناية المركزية وإلتهابات الجروح Wound infection والحروق Burn [4] وتجرثم الدم Septicemia [5] وإسهال المسافرين [6], كما عُرفت بأنها المسبب الأول لمتلازمة البول الأرجواني Purple urine bag syndrome [7].

تمتاز جرثومة *P. rettgeri* بكونها متحركة سالبة لصبغة كرام ومنتجة لإنزيم اليوريز Urease والكاتليز Catalase وغير منتجة للأوكسيديز Oxidase, كما أنها لا تُحلل الدم وتستطيع الحصول على الحديد من خلال نظام السايدروفور Sidrophore [8]. تستهلك السترات كمصدر وحيد للكاربون والطاقة ولها قابلية النمو على الأوساط الزرعية البسيطة دون أن تخمر سكر اللاكتوز [5], كما تستطيع إزالة العناصر الثقيلة مثل الألمنيوم والنحاس [9], إضافةً إلى خضوعها لتصنيفاتٍ عديدة وأسمها السابق هو *Proteus rettgeri* [10].

أزدادت أهمية هذه الجرثومة بإعتبارها ممرضات مهمة للإنسان لذلك اتجهت أنظار الدراسات الحديثة صوبها؛ إذ نالت إهتمام عدد كبير من الباحثين ما أدى إلى جعلها هدفاً أساسياً للبحوث والدراسات التي أكدت على أنها من الممرضات الإنتهازية المسؤولة عن العديد من أحداث الإصابات المكتسبة في المستشفيات [11].

ترتبط إمراضية هذه الجراثيم بإمتلاكها العديد من عوامل الضراوة والتي تمكّنها من إحداث الإصابة منها إمتلاكها للمحفظة Capsule والسكر المتعدد الشحمي Lipopolysacchrid وعوامل الإلتصاق التي تساعد الجرثومة على الإلتصاق بالأسطح الحية وغير

مختلفة كالبلازميدات Plasmids والعناصر القافزة Transposons [15], وأن أغلب عزلات *P. rettgeri* تمتلك المورثات المشفرة لإنتاج إنزيمات المقاومة للمضادات الحيوية والتي يمكن لها أن تنتقل إلى أنواع جرثومية أخرى مما جعل منها ممرضاً مهماً في إصابات المستشفيات [2].

الهدف من الدراسة The aim of study

2- دراسة نمط المقاومة الجرثومية لعزلات *P. rettgeri* إتجاه عددٍ من المضادات الحيوية.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

لمدة 24 ساعة، ثم حُفظت في درجة حرارة 4°م، وكُررت عملية الحفظ لتجديد حيوية العُزلات وتجنُب حدوث التلوث.

- الحفظ طويل الأمد: أُلقحت الأنابيب الحاوية على الوسط المُغذي السائل المُدعَّم بالكليسرول بتركيز 15% بالجراثيم المدروسة وحفظت في درجة -20°م [20].

5- التحري عن مقاومة جرثومة *P. rettgeri* للمضادات الحيوية (طريقة أقراص فحص الحساسية):

أعتمدت الطريقة الواردة في [21] و[22] بتلقيح أنبوبة إختبار حاوية على 5 مل من الوسط المغذي السائل بـ (2- 4) مستعمرة من جرثومة *P. rettgeri*, بعدها حضنت بدرجة حرارة 37م° لمدة 8 ساعات ثم حُفظ النمو الحاصل بإستعمال محلول ملحي وقورن مع أنبوبة ماكفرلاند 0.5 القياسية. نُشر المستنبت الجرثومي على وسط مولر هنتون الصلب بطريقة التخطيط ثم وُزعت أقراص المضادات الحيوية على سطح الوسط وحضنت الإطباق بدرجة حرارة 37 م° لمدة 13 ساعة وسجلت النتائج إعتماداً على قطر منطقة التثبيط المكونة حول القرص وقورنت مع القيم القياسية المذكورة في [22].

6- قياس التركيز المثبط الأدنى للمضاد الحيوي Determination of minimal inhibitory concentrations of antibiotic: إتبعت طريقة التخفيف المتسلسلة المضاعفة لعدد من المضادات الحيوية وفقا لما ورد في [22]؛ إذ حضرت تراكيز متسلسلة متضاعفة من المضادات الحيوية تراوحت تراكيزها من (4- 1024) مايكروغرام. مل$^{-1}$ وحضر وسط مولر هنتون الصلب في قناني زجاجية نظيفة بمقدار 20 مل لكل قنينة بعدها عقمت بالموصدة وحُفظت بدرجة 50 °م. أضيف المضاد الحيوي للأوساط ورجت جيداً بعدها صُبت في إطباق معقمة وحفظت في درجة حرارة 4 °م لحين الإستعمال كما حضرت التخافيف لمزارع الجراثيم بعمر (24 – 48) ساعة بإستعمال المحلول الفسلجي ولقحت الأطباق الحاوية على التراكيز المختلفة من المضادات الحيوية بـ5 مايكرولتر من التخافيف الخاص بالجراثيم وتُركت في درجة حرارة المختبر لحين جفاف القطرات ثم نُقلت الإطباق ووضعت في الحاضنة بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة.

الحية [12] هي حوامل الحديد بالإضافة إلى قابليتها على إنتاج الإنزيمات المختلفة كأنزيمات البيتالاكتام [13], لذا

تكمن أهمية النوع *P. rettgeri* بمقاومتهِ العالية لمتقدمة للمضادات الحيوية ومنها مضادات البيتالاكتام والأمينوكلايكوسيدات ومجموعة الكوانيلون [14], ويعزى ذلك إلى محتواها الوراثي من عناصر وراثية

1- عزل وتشخيص جرثومة *P. rettgeri* من حالات سريرية مختلفة.

1- جمع العينات Collection of samples:

جمعت 750 مسحة بتأريخ 2011/11/20 ولغاية 2012/12/12 شملت: 190 مسحة من عينات الإدرار و200 مسحة من الجروح و70 مسحة من الحروق أخذت من المرضى الراقدين في مستشفى الديوانية التعليمي ومستشفى الولادة والأطفال في مدينة الديوانية ولمختلف الفئات العمرية ولكلا الجنسين إضافةً إلى 290 مسحة أُخذت من الأجهزة والمواد الطبية.

2- زرع العينات Culture of samples:

بعد أخذ المسحات من مصادرها المختلفة (عينات الإدرار,الجروح والحروق,الأجهزه والمواد الطبيه) تم نقلها إلى المختبر مباشرةً, زُرعت النماذج بطريقة التخطيط على أطباق كلٍ من: وسط أگار الدم Blood agar الذي بوساطتهِ ثُبّتت الصفات الشكلية للمستعمرات النامية وألوانها وإنتاجها لإنزيم الهيمولايسين ووسط أگار الماكونكي Macconkey agar الذي يُعتبر وسطاً تفريقياً تنمو عليه مستعمرات الجراثيم السالبة لصبغة گرام فقط. حُضنت الأطباق بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة كما تم حضن الأطباق التي لم يظهر فيها نمو خلال 24 ساعة لمدة 24 ساعة أخرى قبل إعتبارها نتيجة سالبة. كما شُخصت بعض الأنواع الجرثومية بوساطة نظام ألـ Vitek compact2 system الذي يُعد من الأنظمة التشخيصية الحديثة والسريعة في التشخيص الجرثومي, إذ يعطي نتائج تصل دقتها إلى 99%. ولغرض التأكد من العزلات الجرثومية إستُخدمَ النظام أعلاه وحسب تعليمات الشركة المجهزة لهُ.

3- الصفات الكيموحيوية Biochemical characters

أجريت مجموعة من الإختبارات الكيموحيوية اللازمة لتشخيص العزلات الجرثومية المدروسة, وكالآتي:

- إختبارات ألـ Ureas test وIndol test وCitrate utilization [17].
- إختبارات ألـ Catalase test و 0xidase test [18].
- إختبار ألـ Methyl rad و-Voges Proskauer[19].

4- حفظ وإدامة العزلات Preservation and maintenance of isolates:

- الحفظ قصير الأمد: أُلقحت الأنابيب الحاوية على الوسط المُغذي الصلب المائل بالجراثيم المراد حفظها وحُضِنت بدرجة حرارة 37°م

النتائج والمناقشة Results and Discussion:

الجراحة البولية والأجهزة والمستلزمات الطبية المستخدمة في المستشفى وكما موضح في جدول (1) الذي يُظهر نتائج العزل للنوع المذكور, إذ أن أعلى نسبة عزل تم الحصول عليها كانت من عينات الإدرار التي بلغت 2.10% تلتها إصابات الحروق والأجهزة والمستلزمات الطبية بنسبة (1.60 و 1.30)% على التوالي, أما العينات الجروح فبلغت نسبتها 1.00%.

جدول (1): توزيع عزلات النوع *P. rettgeri* حسب نوع المسحة ونسبتها المئوية.

المسحات	عدد المسحات	عدد عزلات *P. rettgeri*	النسبة المئوية (%)
الإدرار	190	4	2.10
الحروق	70	1	1.42
الجروح	200	2	1.00
الأجهزة والمستلزمات الطبية	290	4	1.37
المجموع الكلي	750	11	1.46

1- العزل والتشخيص Isolation and Identification:

عُزلت وشُخِصت 11 عزلة (1.46%) عائدة للنوع *P. rettgeri* من مجموع 750 مسحة مختلفة جُمِعت من المرضى الراقدين في مستشفيات مدينة الديوانية. أُخِذت المسحات من وحدات العناية المركزة وردهات الحروق ووحدات العمليات الجراحية ووحدات

الحواف ذات لون أبيض حليبي على الوسط المغذي الصلب [24]، أما على وسط أگار الماكونكي فكانت مستعمرات مدورة شاحبة اللون لعدم قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز الموجود ضمن مكونات الوسط. وظهرت على وسط أگار الدم مستعمرات مدورة غير محللة للدم وغير مكونة لظاهرة العج مع وجود رائحة تشبة رائحة الفاكهة الناضجة.

شُخِصت عزلات النوع المدروس تشخيصاً أولياً بالإعتماد على الصفات المظهرية الزرعية والمجهرية والإختبارات الكيموحيوية [23] وجهاز الفاتيك Vitek كتشخيصاً نهائياً للعزلات.

أظهرت نتائج الزرع المختبري (جدول: 2) وجود مستعمرات مدورة محدبة قليلاً ناعمة منتظمة

جدول (2): نتائج الإختبارات الكيموحيويه للنوع *P. rettgeri*.

الإختبار	النتيجة
صبغة كرام Gram stain	-
فحص الحركة Motiltiy	+
تحلل اليوريا Urea hydrolysis	+
النمو على وسط KCN	+
فحص الكاتاليز Catalase	+
فحص الأوكسيديز Oxidase	-
إستهلاك السترات Citate utilization	+
إنتاج الأندول Indol production	+
أحمر المثيل Methyl red	+
نزع مجموعة الأمين Deaminase	+
الفينايل النين Deaminase test	+
فوكس بروسكاور Voges proskaure	-
إنتاج غاز H_2S	-
إسالة الجيلاتين Gelatin hydrolysis	-
إنتاج حامض من سكر المالنوز Mannose	+
تخمر سكر اللاكتوز Lactose fimentation	-

شفافة تحيط بالخلايا مما يدل على وجود المحفظة الجرثومية.

عند مقارنة نسبة العزل المستحصلة من دراستنا (1.46%) نجدها مقاربة لما هو مسجَّل في بعض بلدان العالم؛ إذ جاءت مطابقة لما توصَّل إليه [25] من عزل هذه الجرثومة بنسبة 1.5% في مستشفيات مدينة Okirawa اليابانية وسجَّل [3] في إحدى

وفيما يخص الفحص المجهري فظهرت الخلايا المصبوغة بصبغة گرام على شكل عُصيات صغيرة مفردة وردية اللون (سالبة لصبغة گرام), كما بينت النتائج أن النوع *P. rettgeri* لا يكوّن سبورات، أما الشريحة المصبوغة بالحبر الهندي فلوحظ وجود هالة

الخاصة، وفي تركيا إستطاع [23] أن يحصل على نسبة عزل 0.43% من عينات الحروق، أما [29] فحصل على نسبة عزل أعلى من نسبة الدراسة الحالية بلغت 3.09% من العينات المأخوذة من غرف العناية المركزة في مستشفيات مدينة Ramachndara الهندية.

2- مقاومة عزلات *P. rettgeri* للمضادات الحيوية:

VEB-1 و OXA-10) بالإضافة إلى وجود الإنزيمات الأساسية (TEM و SHV و CTX).

وبالرجوع إلى جدول (3) ظهر أن عزلات *P. rettgeri* أبدت حساسية تامة (100%) إتجاه مضاد Imipenem العائد لمجموعة مضادات الكاربانيم, وأشيرَ إلى ذلك في دراساتٍ عِدة حيث جاءت نتائجنا مطابقة لما توصل إليه [34] بعد أن أظهرت عزلاتهم حساسية 100% إتجاه مضاد Imipenem كما ذكر [35] أن جميع عزلات *P. rettgeri* أبدت حساسية تامة إتجاه ذلك المضاد، وكانت النتائج متفقة أيضاً مع ما توصل إليه [29] على حساسية تامة لعزلاتهم إتجاه مضاد Imipenem ومن خلال الدراسة التي قام بها [36] ظهر أن جميع عزلات *P. rettgeri* أبدت مقاومة عالية إتجاه مضادات البيتالاكتام ما عدا مضاد Imipenem وإختلفت النتائج مع ما توصل إليه [37] الذين قاومت عزلاتهم مضادات مجموعة مينوكلاكوسيدات التي شملت مضاد Gentamicin و Sreptomycin و Tobramycin و Amikacin بنسب بلغت (100 و 81 و 90.9 و 100)% على التوالي, وتعد هذه النسب مقاربة لما توصل إليه [38] و [36] إذ حصلو على نسب مقاومة عالية إتجاه مضادات الأمينوكلايكوسيدات كما حصل [30] و [39] على مقاومة تامة (100%) إتجاه مضاد Gentamicin ولم تتفق النتائج مع نتائج [40] خصوص مضاد Tobramycin الذي أظهرت لهُ عزلات *P. rettgeri* حساسية عالية.

أخذت المقاومة للمضادات الحيوية بالتزايد ولا سيما في السنوات الأخيرة [41] ويعزى سببها إلى إنتاج الإنزيمات من العزلات المقاومة لها والتي تعمل على تحوير المضادات الحيوية وبالتالي تفقدها فعاليتها, وقد تكون نتيجة فقدان بروتينات الغشاء الخارجي مما يقلل من نفاذية المضاد إلى داخل الخلية [42], كما يعود سبب المقاومة العالية التي تبديها الجراثيم السالبة إتجاه مضادات الأمينوكلايكوسيدات المُشفر لها من قبل عدد من المورثات المحمولة على البلازميد أو الترانسبوزون.

المستشفيات البرازيلية نسبة عزل بلغت 6.1% وهي مقاربة لنتائج الدراسة الحالية. كما تمكَّنَ [26] من عزل هذه الجرثومة بنسبة 1.7% من إلتهابات الحروق.

أما في جنوب الهند فسجَّلَ [27] نسبة عزل أقل من الدراسة الحالية حيث بلغت 0.42% من مجموع 750 عينة مختلفة لمرضى راقدين في وحدات العناية

أختُبرت الحساسية الدوائية لجميع عزلات النوع *P. rettgeri* المدروسة بإستخدام عدد من المضادات الحيوية المختلفة بهدف توحيد تأثير تلك المضادات على جميع العزلات بغض النظر عن مصدر العزل؛ وذلك لمعرفة مدى المقاومة التي يُبديها النوع *P. rettgeri* للمضادات الحيوية وخطورة إنتشار تلك المقاومة التي قد تمتد لتشمل عدداً واسعاً من المضادات الحيوية.

أظهرت النتائج المبينة في جدول (3) أنَّ جميع العزلات الجرثومية قاومت مضادات البيتالاكتام المتمثلة بمجموعة البنسلينات والسيفالوسبورينات؛ إذ أبدت عزلاتنا مقاومة تامة بلغت 100% إتجاه مضاد Penicillin و Ampicillin و Amoxicillin و Piperacillin، أما مجموعة السيفالوسبورينات المتمثلة بمضاد Cefotaxime و Cephalothin و Ceftazidime فكانت نسب المقاومة لها (81 و 90.9 و 72.7)% على التوالي.

أما مضاد Aztreonam من مجموعة مضادات المونوباكتام فبلغت نسبة المقاومة لهُ 72.7%, وأنَّ إرتفاع نسبة المقاومة لمضادات البيتالاكتام أكدتها العديد من الدراسات إذ وجد [30] أن جميع عزلاتهم أبدت مقاومة تامة بلغت 100% إتجاه مضادات البيتالاكتام وأكد ذلك [11]. كما أن لجرثومة *P. rettgeri* القابلية على إنتاج أنواع مختلفة من إنزيمات البيتالاكتام, فقد ذكر [31] أن جميع العزلات التي حصلوا عليها كانت مُنتِجة لهذه الإنزيمات والتي يشفر لها من قِبل محددات وراثية محمولة على الكروموسوم أو البلازميد أو على الترانسبوزون؛ إذ وجد [32] أن المقاومة العالية التي أبدتها العزلات إتجاه مضاد Ceftazidime تُحفز لها مورثة (*bla-MP-1*) المحمولة على الأنتكرون. ولاحظ [33] أن عزلات *P. rettgeri* قاومت مضادات لسيفالوسبورينات من خلال إنتاج إنزيمات (PER-1) الواسعة الطيف, وفي الدراسة التي أجراها [34] ظهر لديه أن جميع عزلات *P. rettgeri* قاومت مضادات السيفالوسبورينات من الجيل الثاني والرابع من خلال إنتاجها ثلاث أنواع من الإنزيمات هي (CMY و

جدول (3): النسبة المئوية لعزلات *P. rettgeri* المقاومة والحساسة للمضادالت الحيوية.

ت	المضادات الحيوية	العزلات المقاومة		العزلات الحساسة	
		العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
1	Penicillin	11	100	0	%0
2	Ampicillin	11	100	0	%0
3	Amoxicilin	11	100	0	%0
4	Piperacillin	11	100	0	%0
5	Cefotaxim	9	81	2	%18
6	Cephalothin	10	90.9	1	%9
7	Ceftazidime	8	72.7	3	%27.2
8	Aztreonam	8	72.7	3	%27.2
9	Imipenem	0	0	11	%100
10	Gentamicin	11	100	0	%0
11	Streptomycin	9	81	2	%18
12	Tobramycin	10	90.9	1	%9
13	Amikacin	11	100	0	%0
14	Norfloxacin	11	100	0	%0
15	Ciprofloxicin	7	63.7	4	%36.3
16	Nalidx acide	11	100	0	%0
17	Rifampcin	9	81	2	%18
18	Tetracyclin	11	100	0	%0
19	Chloramphenicol	10	90.9	1	%9
20	Erythromycin	7	63.7	4	%36.3
21	Trimethoprim	10	90.9	1	%9
22	Nitrofurantion	8	72.7	3	%27.2

(cassetteالموجودة على الأنتكرون من الصنف-1 (Intigrone class-1) [45].

وفيما يخص مضاد Tetracycline فأظهرت النتائج أن عزلاتنا المحلية أبدت مقاومة تامة لهُ (100%) وتعد هذه النتيجة مطابقة لنتائج دراساتٍ عِدة منها دراسة [30] و [38] و [39] و [46] و [46] الذين قاومت عزلاتهم (*P. rettgeri*) بشكلٍ تامٍ (100%) إتجاه ذلك المضاد. وذكر [48] أن المقاومة لمضاد التتراسايكلين يُشفر لها من مورثة 393 *tet*. وبالنسبة لمضاد الكلورامفينيكول Chloramphenicol فكانت نسبة مقاومة العزلات لهُ هي 90.9 % وإتفقت هذه النسبة مع ما توصل إليه [30] من نسبة مقاومة بلغت 90% ولاحظ أيضاً [39] أن عزلات *P. rettgeri* قاومت المضاد المذكور بنسبة 100% من خلال أنظمة الدفق التي تُشفر لها مورثة *F10* المحمولة على البلازميدات, ومن خلال دراسة [49] ظهرَ أن جميع عزلات *P. rettgeri* تحمل مورثات (FEXB و CML و FOLR و FEXA و CFR) المسؤولة عن مقاومة مضاد الكلورامفينيكول.

أما مضادا الريفامبسين Rifampicin والترامیثوبرایم Trimethprim فقاومتهما عزلاتنا بنسب بلغت (100 و 90.9)% على التوالي, وهذه النتائج جاءت مقاربة لما توصل إليه [36]. وفيما يخص مضاد Nitrofurantion الذي قاومتهُ عزلاتنا بنسبة 72.7%.

وبالنظر إلى جدول (3) يظهر أن مضادات مجموعة الكوانيلون Quinolone المتمثلة بمضاد Norflaxacin و Ciprofloxacin و Nalidix acidكانت نسب المقاومة لها هي (90.9 و 63.6 و 100)% على التوالي, وجاءت النتائج متفقة مع ما توصل إليه [30] من نسب مقاومة بلغت (100 و 60 و 100)% إتجاه المضادات المذكورة أعلاه وعلى التوالي, كما أظهرت عزلات *P. rettgeri* لدى [39] مقاومة تامة بلغت 100% إتجاه مضادي Ciprofloxacin و Nalidix acid وأن المقاومة لهذين المضادين تحدث بعد التعرض لهما من خلال طفرات كروموسومية تؤدي إلى تغير موقع الهدف المتمثل بإنزيم DNA gyrase الذي يعمل على إلتفاف شريط ألـ DNA. كما ذكرَ [43] أن المقاومة لمضادات الكوانيلون تُشفّر لها مورثة بلازميدية *qnr* وأن أغلب عزلات جنس Providencia المنتجة لإنزيمات البيتالاكتام تملك مورثة المقاومة *qnr* المحمولة على بلازميد إقتراني [44].

كما بينت النتائج الواردة بالجدول المذكور أعلاه أن مضادات مجموعة الماكروليدات Macrolidis المتمثلة بمضاد Erythromycin أظهرت عزلاتنا المحلية مقاومة له بلغت 63.6% وكانت متفقة مع ما توصل إليه [40], ويُعزى سبب المقاومة هذه إلى إمتلاك جرثومة *P. rettgeri* مورثة كاسيت (ereA gene

3- تحديد التركيز المثبط الأدنى (MIC):

وصلت إلى أضعاف نقطة التوقف إذ تراوحت قيم ألـ MIC لهذه المضادات بين (64-1024) و (32-1024) و (8-1024) و (8-512) مايكروغرام. مل$^{-1}$ على التوالي. واتفقت النتائج في إرتفاع قيم ألـ MIC لمضادات البيتالاكتام مع ما توصل إليه [53] و [11] من قيم عالية للـ MIC من خلال نمو عزلاتهم في تراكيز عالية من المضادات المذكورة أعلاه.

أما مضادات مجموعة ينوكلايكوسيدات المتمثلة بمضادي Gentamicin و Tobramycin فتراوحت قيم ألـ MIC لها ما بين (32-1024) و (2-512) مايكرو غرام. مل$^{-1}$ على التوالي. وجاءت هذه النتائج مقاربة لما توصل إليه [54] من أن قيم ألـ MIC لمضادي Gentamicin و Tobramycin تفوقت على نقطة التوقف في حين إختلفت النتائج بالنسبة لمضاد Gentamicin, وحصل [12] على قيم MIC (4>) مايكروغرام. مل$^{-1}$.

وبالنسبة لمضاد Ciprofloxacin الذي يعود إلى مجموعة الكوانيلون فأظهرت العزلات المدروسة قيماً للـ MIC تراوحت بين (2-512) مايكروغرام. مل$^{-1}$ وبذلك تكون نتائجنا مقاربة لما توصل إليه [54] من قيماً للـ MIC بلغت (64>) مايكروغرام. مل$^{-1}$, وحصل [48] على قيماً للـ MIC بلغت (32>) مايكروغرام. مل$^{-1}$. مقارنة بالمضادات الأخرى التي إتسمت بإرتفاع قيم ألـ MIC لها.

وتراوحت قيم MIC لمضاد Nitrofurantion مابين (8-512) مايكروغرام. مل$^{-1}$ وبالرجوع إلى الجدول يظهر أن العزلات أبدت مقاومة شديدة من خلال نموها في تراكيز بلغت أضعاف نقطة التوقف ما عدا عزلة واحدة نمت بتركيز أقل من نقطة التوقف.

حُدِدَ التركيز المثبط الأدنى لـ 10 مضادات حيوية من تلك المستعملة في فحص الحساسية ولجميع العزلات المدروسة بالإعتماد على نقطة التوقف المثبتة من [49] كأساس لحساب الإستجابة بإعتبارها تُمثل التركيز الأدنى للمضاد الحيوي الذي يثبط النمو الجرثومي ويوفر أعلى حدٍ من المعالجة, كما تعد العزلة حساسة عندما يكون مقدار ألـ MIC أقل من نقطة التوقف المحسوبة.

وإستُخدمت في تحديد التركيز المثبط الأدنى للعزلات المدروسة طريقة التراكيز المضاعفة المتسلسلة على وسط مولر هنتون الصلب؛ إذ يعد من الأوساط المفضلة لإجراء هذا الإختبار كونه يحتوي على كمية قليلة من كلوريد الصوديوم ونسبة قليلة من أيونات الكالسيوم والمغنيسيوم والتي يمكن أن تؤثر في المضادات الحيوية [51]. ولاحظ [52] أنَّ قيم ألـ MIC تتأثر بحجم اللقاح بالإضافة إلى طبقة الجدار الخلوي وعدد القنوات ووجود المحفظة.

تشير النتائج الواردة في جدول (4) إلى قيم ومديات ألـ MIC للمضادات المستخدمة في هذه الدراسة وأظهرت عزلاتنا مقاومة شديدة لمضادات البيتالاكتام المتمثلة بمضاد Ceftazidine و Cephalothin و Ampcillin و Amoxcillin وذلك بنموها بتراكيز أما مضاد Erythromycin فتراوحت قيم ألـ MIC لـه بين (2 – 512) مايكروغرام. مل$^{-1}$ وبهذا تكون نتائجنا متفقة مع ما توصل إليه [48] من قيماً للـ MIC بلغت (512>) مايكروغرام. مل$^{-1}$.

يتضح من النتائج المدونة في الجدول أن أغلب العزلات الجرثومية أبدت مقاومة منخفضة إتجاه ضادي ألـ Ciprofloxacin و Erythromycin

جدول (4): التركيز المثبط الأدنى للمضادات الحيوية المستخدمة ضد العزلات الجرثومية لـ*P. rettgeri*.

ت	المضاد الحيوي	نقطة التوقف	قيم التركيز المثبط الأدنى لنمو العزلات (مايكروغرام. مل$^{-1}$)										
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
1	Ampicillin	>32	1024	1024	512	64	512	1024	1024	128	1024	64	512
2	Amoxicillin	>4	1024	1024	512	512	512	1024	1024	512	512	132	512
3	Cefalothin	>16	512	1024	512	8	512	1024	512	1024	512	128	512
4	Ceftazidime	>32	64	8	128	128	16	512	128	64	128	8	128
5	Gentamycin	>16	1024	124	512	128	512	1024	1024	512	128	32	1024
6	Tobramycin	>8	512	512	1024	2	512	512	512	128	128	64	128
7	Ciprofloxacin	>2	2	64	32	2	126	512	32	32	2	2	128
8	Rifampicin	>4	512	512	128	64	512	128	64	32	1024	32	512
9	Tetracyclin	>16	512	512	512	1024	512	1024	512	512	128	64	1027
10	Chloramphenicol	>16	128	128	512	64	512	1024	512	128	128	8	512
11	Erythromycin	>8	64	4	64	2	256	512	128	8	64	2	32
12	Nitrofurantion	>16	64	512	128	8	64	512	128	128	512	32	512

المصادر References:

1-O'Soge, O.; Agiardino, M.; clranova, I.; Lpearson, J. C. and Roberts, M. (2009). Low prevalence of antibioticresistance gram-negative bacteria isolated from rural south western Ugandan groundwater. Water SA. 35(3)..

2-Shiroto, K.; Ishii, Y.; Kimur, S.; Alba, J.; Watanabe, K.; Matsushima, Y. and Yamaguchi, K. (2005). Metalo B- lactamase IMP-l in *Providencia rettgeri*: from tow different hospitals in Japan. J. Medical Microbiology. 54:1065 – 1070.

3-Dropa, M.; Bailsalobre, L. C.; Mamizuka, M.; Cassettari, V. C.; Santos, S. R.; Matte, C. R. and Matte, G. H. (2009). Extended–spectrum Beta–lactamases among Enterobacteriaceae isolated in Apublic Hospital in Brazil. Rev. J. Med. Trop. S. Paul., 51(4): 203 – 209.

4-Lautenbach, E. (2002). Providencia infiction. Emedicine. 134- Lee, G. and Hong, H. (2011). Xantho granulomatous pyelonephritis with nephrocutaneous fistula due to *Providencia rettgeri* infection. J. Med. Mmicrobiol., Vol. (60), PP: 1050 – 1052.

5-Manos, J. and Belas, R. (2006). The genera proteus, providncia and Morganclla in M Dworken, S.; Falkow, E.; Rosenberg, K. H.; Schleifer, E. and Stacken, B. (Eds), Prokaryotes, Springer, Singapore, Vol. (6), PP: 245 – 269.

6-Yoh, M.; Matsumyama, J.; Ohnishi, M.; Takagi, K.; Miyagi, H.; Mori, K.; Park, K.; Ono, T. and Honda, T. (2005). Importance of providencia Species as a major Causes of trovellers diarrhea. J. Med. Microbiol., 54: 1077 – 1082.

7-Chung, S. D.; Liao, C. H. and Sun, H. D. (2008). Purple urine bag syndrome with acidic urine. J. infect. Diseases, 526 -527.

8-Rollin, D. M. and Joseph, S. (2000). BSCL424 pathogenic microbiology – Enterobacteriaceae summary.

9-Abo-Amer, A. E.; Ramadan, A. B.; Abo – state, A. and Ahmed, H. E. (2012). Biosorption of aluminum, cobalt and copper

ions by *Providercia rettgeri* isolated from waste water. J. Basic Microbiol., 1(2): 282 – 287.

10-O'hara, C. M.; Brenner, F. W. and Miller, J. M. (2000). Classification, identification and clinical significance of proteus, providencia and morganella. Clin. Microbiol. Rev., 13: 534 – 546.

11-Barl, P.; Bedenic, B.; Sardelic, S.; Uzunovic, S.; Vranes, J. and Plecko, V. (2012). Spread of CTX-M-15 Positive *Providencia* spp. Causing urinary tract infections at the University hospital split in croatia Med. Glasnik, Vol. (9), PP: 317 – 324.

12-Broomfield. R. J.; Morgan. S. D.; Khan. A. and Stickler, F. (2009). Crystalline bacterial biofilm formation on urinary catheters by urease producing urinary tract pathogens: a simple method of control. J. Med. Microbiol., 58: 1367 – 1375.

13-Castanheira, M.; Deshpande, M. and Loeffelholz, R. (2009). Novel PER- variant beta- lactamase identified in providenc rettgeri strain from the united states. 19th European congress of vlinical microbiology and infections Diseases.

14-Sabtcheva, S.; Kantardjiev, Lazarova, G. and Kaku, M. (2008). Identication of SHV-2, TEM-3, TEM-15, CTX-M-3, CTX-M.15 and PER-1 Extended- Spectrum Beta-lactamases in Chromosomal AMPC-Producing Enterobacteriaceae Isolates form Cancer Patients in Bulgaria. J. Trakia Sciences. Vol. (6), No.4, PP: 9 – 13.

15- Galac, M. R. and Lazzaro, B. P. (2011). Comparativc pathology of bacteria in the genus Drovidcncia to a natural host. Prosophila melanog aster.

16-Frtische, T. R.; Swobda, S. E.; Olson, B. J.; Moor, F. M. and Novicki, T. J. (2011). Evaluation of the sensititre ARISZX and vitek 2 Automated systems for identif cation of bacterial pathogens recovered from veterinary specimens. Marsh field labs LACROSSE. Univ. Wisconsin.

17- Macfaddin, J. F. (2000). Biochemical Tests for ldentification of Medical Bacteria. 3rded. Lippincott Williams and wilkins, USA.

18- Baron, E. J.;Change, R. S.; Haward, D. H.; Miller, J. N. and Turner J. A.(1994). Medical Microbiology: ashort course 2nd ed . Mosby company.USA.

19- Colle, J. G.; Fraser, A. G.; Marmiam, B. P. and Simmon, S. A.(1996). Mackie and Mccarthey practical Medical Microbiology.24th ed.The Churchill Livingstone.Inc.U.S.A.

20- World Health organization (WHO). (1978). Technique for the detection of B- lactamase production strain of *Neisseria gonorrhoeae* . 616:137 – 143.

21- Brook, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A.(1998). Jawets.Melnck and Adellberge Medical Microbiology.21st ed.Appelon and Lange.Asimon and Schusterco.California.

22-CLSI, Clinical and laboratory staudsrds institute (2010). Performance standards for antimicrobial susceptibility lesting. Twelfth in formation Supplemement.

23-Khan, F.; Rizvi, M.; Shukla, and Malik, A. (2011). A noval approach for identification of members of Enterobacteriaceae isdated from clinical samples. J. Biol. Med., 3(2): 313 – 319.

24-Zhang, L.; Yuanshen, Z; Tzng, L. and Zhu, F. (2013). Isolation and ldentification of Pathogen, *Providencia rettgeri* in *Bombyx mori.* J. Bacteriol. Res., 5(2): 22 – 28.

25-Hokama, S.; Toma, C.; Morozumi, M. and Ogawa, Y. (2005). Oxalate degrading *Providencia rettgeri* isolated from human stools. Int. J. Urology, 12: 533 – 538.

26-Jefferson, L, S.; Macedo, S.; Simone, C. R.; Castro, C. (2003). Sepsisin burned patients. Med. Tropical, 36(6): 647 – 652.

27-Mohamudha, P. R.; Harish, B. N. and Parija, S. C. (2010). AMPC Beta-lactamase among gram negative clinical isolates from A Trtiary hospital. South India. Brazilian J. Microbiol., 4: 596 – 602.

28-Arslan, E.; Dalay, C.; Yavuz, M.; Gocenler, L. and Acarturk, S. (1999). Gram Negative Bacterial Surveillance in Burn Patients. Annuals of Burns and fire Disasters, Vol. (5), N.(2), PP: 140 – 143.

29-Vinoth, J.; Begum, E. S.; Kumar, R. S.; Ramesh, S. (2012). Phenotypic detection and antibiogram of AMPC beta – lactamases producing tribe proteeae in a tertiary care hospital. J. Pharmacol. Clin. Res., 5(4):

30-Tilahun, B.; Worku, B.; Tachbele, E; Kloos, H. and Legesse, W. (2012). High load of multi-drug resistant nosocomial neonstal pathogens carried by cockroaches in aneonatal intensive care unit at Tikur Anbessa specialized hospital, Addis Ababa, Ethiopia. J. Antimicrobial Resistance.

31-Halevi, S. G.; Hindigeh, M. X.; Azar, R.; Castanheira. A. (2013). Isolation of gentically not related bla ndm-1 positive *Providencia rettgeri* in lsrel. J. Clin. Microbiol.

32- Tortora, G. J.; Funke, B. R. and Case, L. (2004). Microbiology. An Interoduction., 8th ed. Pearson Eduction (8): 223 - 243.

33-Bahar, G.; Erac, A. and Gulay, Z. (2004). PER-1 production in urinary isolate of *Proidencia rettgeri*. J. Chemother., Vol. (16), N. (4), PP: 343 – 346.

34-Aibinu, I. E.; Pfeifer, F. O.; Odugbemi, W. K. and Ghebremedhin, B. (2011). Emergence of B-lactamases oxA- 10, VEB- land CMY in *Providencia* spp. from Nigeria. J. Antimicrobial Chemother., Vol.(66), N.(8), PP: 1931 – 1932.

35- Sekar, S.; Amudhan, A.; Kamainathan, S.; Balaraman, S.(2012). Increasing Prevalence of New delhi metallo-betalactamase in Enterobacteroiaceae.22nd European congress of clinical microbiology and infectious disease.

36-Kim, J.; Kim, S.; Lee, H. W. and Seol, S. Y. (2011). Providencia isolates carrying BLA (PER-1) and bla (VLM-2) Genes: biofilm–forming capacity and biofilm inhibitory concentration for carbapenem autibotics. J. Microbiol., 49(3): 512 – 515.

37- Cho, H. J. L.; Lim, S.j.;Chun, S. Y.; Rark, K. O.and Eom, J. S. (2010). Acase of providencia rettgeri sepsis in apatient with cervical cord injury. J. infect chemo the.42 (6) : 428 – 430.

38- السعدي, كوكب عبد الله (2005) . دراسة بكتريولوجية ووراثية لبعض أنواع Providencia المعزولة في كربلاء. رسالة ماجستير. كلية التربية. جامعة كربلاء.

39-Kamga, H. L.; Assob, J. C.; Nsagha, D. S.; Njunda, A. L. and Tchape, G. N. (2012). Epidemiol gicalstudies on proteeae isolates from clinical specimens in the laquintinie Hospital in microbial. 13(2): 112 – 120.

40-Kadavy, D.; Homby, J.; Haverkost, T. and Nickerson, K. (2000). Natural antibiotic resistance of

bacteria isolated from larvae of the oil fly, *Helaeomyia petroli*. Appl. Environ. Microbiol., 66(11): 4615 – 4619.

41-Pallett, A. and Hand, K. (2010). Complicated urinary tract infections: practical solutions for the treatment of multi resistant gram-negative bacteria. J. Antimicrob. Chemother., 65(3): 25 – 33.

42-Mims, C.; Dockrell, H. M.; Goering, R. V.; Roitt, I.; Wakelin, D. and Znckerman, M. (2004). Medieal Microbiology. 3rd ed. Mosby Comp. U.S.A.

43-Nordmann, P. and Poirel, L. (2005). Emergence of plasmid – mediated resistance to quinolones in enterbacteriaceae. J. Antimicrobial Chemother., 56: 463 – 469.

44-Arpin, C.; Thabet, H.; Yassine, A.; Messdi, A.; Dubois, V,; Ander, C. and Quentin, C. (2012). Evolution of an lacompatibility group Inc A/C plasmid harboring bla CMY-16 and gnr A6 genes and its transfer through three clones of providencia stuarti during a two–year outbreak in a tunisian burn unit.J. Antimicrobial agents and Chemother., 56(3):1342 – 1349.

45-Plante, I.; Centron, D. and Roy, P. (2003). An integron cassette encoding erythromycin esterase, ere (A), from Providencia stuarti. J.Antimicrobial Chemotherapy.51: 787 – 790.

46-Salakij, C.; Salak, J. J.; Chanhome, L. P.; Suthunmapinuntra, (2003). Hematological findings of *Providencia rettgeri* Bacteremia and Hepatozoon – Positive in Malayankrait. (Bungarus candidus). Veterinary Medicine, Kasetsart University, Thailand, PP: 49 – 50.

47-Cheong, C.; Lee, C. and Zuki, Z. (2010). Arare infection following snakebite. J. Malaysian Orthopedic, 4(1): 53 – 55.

48-Adelowo, O. O. and Fagade, O. E. (2009). The tetracycline resistance gene tet 39 is present in both gram negative and gram positive bacteria from a polluted river south western. Appl. Microbiol., 48(2): 167 – 172.

49-Li, J.; Shao, B.; Shen. J.; Wang, S. and Wu, (2013). Occunce of Chloramphenicol- resistance genes as environmental pollutants from swine feedlots. Environ. Sci. Technol., 47(6): 2892 – 2897.

50-NCCLS, National committee for clinical laboratory standards (2003). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. Twelfth information supplement. proved standard M: 100 – 513, Wayne. Pa.

51-Stocks, I. and Wiedemann, B. (1998). Natural antibiotics suscebility of *Provedencia stuartii*, *P. rettgeri, P. alcalifdciens* and *P. rustigianii* strain. J. Med Microbiol. 47(7) : 629 – 642.

52- Nikaido, H. (1989). Outer membrane barriers as amechanisms of antimicrobial resistance. J. Antimicrobiol. Agents chemother., 33:1831 – 1836.

53-Lee, H. W.; Kang, H. Y.; Shin, K. and Kim, J. (2007). Maltidrug resistant providencia isolates carrying blapER-1, blavlm-2 and arm A. J. Microbiol., 45(3): 272 – 274.

54-Shin, K. S.; Son, B. R. and Kim, J. (2006). Pandrug-resistant *Providencia rettgeri* producing PEP-l extended-spectrum beta-lactamase and Vlm-2 metallo-bata-lactamase. 16th European congress of clinical microbiology and infections Dis. Nice, France.

Isolation and diagnosis of *Providencia rettgeri* from different clinical cases and study antibiotics – resistant

Received:15/11/2013 **accepted:21/1/2014**

Asst. Prof. Dr. Hussein, A. N.
Collage of Pharm./ Al-Qadisiya Univ.

M. AL-qalebi, A. A.*
Dept. Biol./ College of Edu.
Al-Qadisiya Univ.

Abstract:

11 isolates were diagnosed followed to *Providencia rettgeri* of 750 swab collected from intensive care units and burns lobbies and operation room and Urosurgery unit ,also took swabs of medical devices and instruments used in hospitals in the city of Diwaniya, for the period from 1/2/2012 to 3/1/2013. Isolates were diagnosed depending on the microscopic and cultured characteristic directed and biochemical tests as well as the vitek system.

Tested isolates were resistant direction 22 antibiotic commonly used to determine the resistance to these antibiotics as shown resistance to:

1- ß–lactamase antibiotics contained penicillins (Penicillin , Ampicillin , Amoxicillin and Pipracillin) by 100% and cephalosporins (Cefotaxime, Ceftazidime and Cefalothin) by (81.8, 90.9 and 72.7) %respectively .
2- Aminoglygocides antibiotics (Gentamicin, Streptomycin, Tobramycin and Amikacin) by (100, 81, 90.9 and 100) % respectively.
3- Cholinergic antibiotics (Norflaxicin, Ciprofloxacin, and Ndidixacin) by (100, 63.6 and 100)% respectively.
4- (Tetracyclin and Chloramphenicol) by (100, 90.9) % respectively.
5- (Erythromycin, Trimethprim, Nitrofurantion and Rifampcin) by (81, 63.6, 90.9 and 72.7)% respectively.
6- Isolaties showed full sensitivity to Impinem (100%).

Select the minimum inhibitory concentration for a number of antibiotics used (Cefatizidine, Cephalothine, Ampicilline and Amoxicillin) which colonies has grown in high concentrations of them micrograms (4-1024) µg. ml^{-1}.

Keyword: penicillins , Cefotaxime , Cephalothine.
Microbiology classification : QR75995

***The Research is apart of on M.Sc. thesis in the case of the Second researcher**