

التحري عن انزيمات البيتالاكتيميز المستحثة في بكتريا الزائفة

الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من نماذج مرضية

مختلفة في مدينة كركوك

صلاح سلمان زين العابدين¹ ، زهراء عايد احمد²

^{1,2}قسم علوم الحياة / جامعة كركوك / كلية العلوم

¹Mts.m1963@gmail.com , ²soso-4394@yahoo.com

تاريخ قبول البحث : 2015 / 3 / 8

تاريخ استلام البحث : 2014 / 10 / 9

الملخص

تضمنت الدراسة جمع 50 عزلة لجرثومة الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* من نماذج سريرية مختلفة في مدينة كركوك . اظهرت جميع العزلات حساسية مطلقة لكل من المضادات الحيوية Amikacin و Tobromycin و Imipenem و Pipracillin و Aztreonam بنسبة 100 % . اما للمضاد Ciprofloxacin بلغت الحساسية 92% وللمضاد Carbenicillin فقد بلغت 90 % في حين كانت اقل نسبة حساسية هي للمضادين Cefixime و Gentamicin وبلغت 12% واوضحت الدراسة ان من بين هذه العزلات فقط ثلاثة عزلات كانت منتجة لانزيمات البيتالاكتيميز المستحثة .

الكلمات الدالة : الزائفة الزنجارية ، البيتالاكتيميز المستحثة

Detection of Inducible Betalactamase in *Pseudomonas aeruginosa* isolated from different clinical samples in Kirkuk City

Salah S. Zain alabidin¹ , Zahraa A. Ahmed²

^{1,2}Department of Biological / College of Science / University of Kirkuk

¹Mts.m1963@gmail.com , ²soso-4394@yahoo.com

Received date : 9 / 10 / 2014

Accepted date : 8 / 3 / 2015

ABSTRACT

The study include isolation of 50 Pseudomonas aeruginosa from different clinical samples in Kirkuk city. The results indicate that the all isolates showed sensitivity to (Amikacin, Tobromycin, Imipenem, Pepracillin, and Aztreonam) 100% and 92% to Ciprofloxacin and 90% to Carbenicillin . While the lowest sensitivity showed to be 12% against cefixim and Gentamicin. From these isolates only three showed to produce inducible beta lactamase .

Keyword : *pseudomonas aeruginosa , Inducible B-lactamase*

1. المقدمة (Introduction)

تكون جرثومة *Ps. aeruginosa* بشكل عصيات متحركة و توجد أما بشكل خلايا مفردة أو بشكل أزواج أو سلاسل، هوائية مجبرة Obligat aerobe، و تكون مستعمرات على وسط الاكار المغذي بعد 24 ساعة من النمو عند درجة 37 م° كبيرة و خشنة ومحدبة قليلا و يتميز الزرع برائحته العفنة [1]. تتميز البكتيريا بقدرتها على المعيشة في درجة الحرارة 42 م° والدرجة المثالية لها هي 37 م° كما انها تنمو في الاوساط الزرعية كافة دون الحاجة الى متطلبات غذائية

معقدة و في بعض الاحيان قد تعيش في الماء المقطر [2]. تستطيع ايضا العيش في مستويات منخفضة من الاوكسجين [3,2]. هذه الجرثومة تكون صبغة Pyocyanin التي تنتشر في الوسط الزراعي حيث تظهر المستعمرات بلون اخضر مزرق على وسط الاكار المغذي الصلب اما على وسط ماکونكي الصلب فتظهر شاحبة اللون وبعض مستعمراتها تكون محللة للدم تحلاً كاملاً Beta haemolysis على وسط اكار الدم . [4] وتتواجد هذه الجرثومة على السطوح الرطبة و تم العثور عليها على المعدات الطبية بما في ذلك معدات القسطرة و هذا ما يؤدي الى انتشار العدوى في المستشفيات [5]. ان هذه الجرثومة تحدث امراض عديدة يصعب القضاء عليها لكونها تمتلك مقاومة مرتفعة للمضادات الحيوية . [6] اذ تمتلك عدة آليات لهذه المقاومة مثل انتاج انزيمات البيتالاكتيميز واسعة الطيف و انزيمات البيتالاكتيميز المعدنية [7,8] اذ ان مقاومتها لمضادات الكاربابينيم ترتبط مع انتاجها لانزيمات البيتالاكتيميز المعدنية التي لها القدرة على تحليل هذه المضادات [9].

تتميز هذه الجرثومة بافرازها للانزيمات الخارجية والذيفانات التي تساعدها في ضرورتها اذ تقوم من خلالها بتحطيم الحواجز الفيزيائية وبالتالي تشارك في الغزو البكتيري [10] وتعد هذه الجرثومة مسببات مرضية انتهازية وتشكل خطرا حقيقيا للمرضى الراقدين في المستشفيات و خاصة مرضى السرطان و المصابين بالحروق و مرضى نقص المناعة و زراعة الاعضاء اذ تعتبر من الانواع البكتيرية المسببة للاصابة المكتسبة في المستشفيات. [11]

تعد انزيمات البيتالاكتيميز نوع AmpC مجموعة مهمة و واسعة الانتشار ولها القابلية على مقاومة مجاميع مضادات البيتالاكتام و لاتتأثر بمثبطات البيتالاكتيميز مثل الكلافولانيك والسالباكتام والتازوباكتام [12] و هذه الانزيمات المحفزة تكون بنوعين اما تكون ذات منشأ كروموسومي وهي محفزة او تكون ذات منشأ بلازميدي وفي كثير من الانواع البكتيرية نجد ان هذه الانزيمات تنتج بشكل طبيعي و بمستويات منخفضة جدا ولكنها نوعيا تتحفر بشكل كبير بوجود احد مضادات البيتالاكتام ومنها السيفوتاكسيم والسيفوكسيتين [13] وفي السنوات الاخيرة تم رصد انزيمات ال AmpC ذات منشأ بلازميدي وهناك اكثر من 20 انزيمًا مختلفًا من هذه الانزيمات ووجد بانها من اصل بلازميدي . [12] تنتج انزيمات ال AmpC المحفزة عادة من قبل انواع من الجراثيم السالبة لصبغة كرام ولكن مستوى انتاجها منخفضا ما لم يحفز بإحدى مضادات البيتالاكتام مثلا مضاد ال Cefoxitin [12] اذ ان تواجد احد المضادات التي تعمل على تحفيز انتاج انزيمات ال AmpC عدة مئات من المرات وان انزيمات ال AmpC الكروموسومية غالبا ما تكون محفزة في حين انزيمات

الـ AmpC ذات المنشأ البلازميدي غير محفزة [14] وان وجود السلالات البكتيرية الحاملة لأنزيم AmpC قد يؤدي الى فشل العلاج بالمضادات الحيوية المستعملة حالياً وخاصة تلك التي لها تأثير تحفيزي قوي وهذا ما يسبب فشل العلاج بتلك المضادات [13] و تمتاز هذه الانزيمات بكونها ضعيفة التثبيط بالكلافولونيت و تكون ذات اهمية سريرية ربما لأنها تكون مقاومة لمدى واسع من مضادات البييتالاكتام وغيرها [15] و ايضا يكون انتشار المقاومة لمضاد الـ Cefoxitin بين العزلات السريرية مختلفا من بلد الى اخر ومن مستشفى الى اخرى ومن مؤسسة صحية الى اخرى [16]. عليه استهدفت الدراسة التحري عن امتلاك الزوائف الزنجارية لانزيمات البييتالاكتاميز المستحثة.

2. المواد وطرائق العمل (Materials and Methods)

جمع العينات :

تم جمع 450 عينة من النماذج المرضية المختلفة و شملت الادرار والبراز و الدم وجروح العمليات والحروق و مسحات المهبل و الجهاز التنفسي العلوي من مستشفى ازادي التعليمي و مستشفى كركوك العام و مستشفى الاطفال للفترة من 2013/1/1 لغاية 2013/6/12.

زرع العينات :

تم زرع العينات على الاوساط الزرعية (اكار ماكونكي و اكار الدم) و ذلك لدراسة الصفات المظهرية للمستعمرات النامية و بغية الحصول على مستعمرات مفردة لغرض التشخيص

التشخيص :

تم التشخيص اعتمادا على الصفات المظهرية والاختبارات البايوكيميائية اعتمادا على مصادر التشخيص المعتمدة [17,18,19,20]. كما تم تأكيد التشخيص باستخدام نظام API E20

3. اختبار الحساسية للمضادات الحيوية (Antibiotics Sensitivity Test)

اجري اختبار حساسية العزلات الجرثومية للمضادات اعتماداً على طريقة (Kirby – Bauer method) القياسية

وحسب ما ورد في [21]

التحري عن انزيمات بيتالاكتيمز المستحثة :

استخدم في هذه التجربة المضاد الحيوي Cefoxitin حيث تم دراسة دور هذا المضاد في التأثير على مقاومة المضادات الحيوية الاخرى للجراثيم. اعتمادا على [22]. علما ان اقراص المضادات الحيوية المستخدمة في هذه التجربة منتجة من شركة Bioanalyse وبتركيز 30 مايكروغرام

وقد تمت التجربة حسب الخطوات الآتية:

1- حضر معلق البكتريا و نشر المزروع بوساطة المسحة القطنية cotton swab المعقمة على وسط اكار مولر هنتون بصورة كاملة ثم تركت الاطباق لمدة 10 دقائق لتجف

2- وضع قرص المضاد الحيوي cefoxitin في وسط الطبق .

3- وضع قرص من المضاد الحيوي cefotaxim في احد الجوانب على بعد 15 ملم .

4- وضع قرص المضاد الحيوي ceftazidim في الجانب الاخر من الطبق وايضا على بعد 15 ملم من المضاد cefoxitin و حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م لمدة 48 - 24 ساعة و ايضا طبقت التجربة بمسافة 20 ملم و 25 ملم بين اقراص المضادات الحيوية والمضاد الحيوي cefoxitin ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م لمدة 48 - 24 ساعة.

5- تم الاستدلال على النتيجة الموجبة من خلال ملاحظة تأثير المضاد الحيوي Cefoxitin على حساسية احد المضادات التالية Ceftriaxone و Cefotaxime و Ceftazidim او جميعها وظهور شكل D-shape .

4. النتائج (Results)

تم الحصول على 450 عينة من مصادر سريرية 270 عينة من الاناث وبنسبة 60 % و 180 عينة من الذكور وبنسبة 40% و من خلالها وجد ان 61 عينة و بنسبة 22.5 % كانت تمثل الحالات الموجبة للزرع الجرثومي من الاناث و 39 عينة وبنسبة 21.6 % مثلت الحالات الموجبة للزرع الجرثومي من الذكور . جدول (1)

جدول (1): الاعداد والنسب المئوية للعينات الموجبة حسب الجنس

النسبة المئوية	عدد الحالات الموجبة	النسبة المئوية	عدد الحالات	الجنس
% 22.5	61	% 60	270	الاناث
% 21.6	39	% 40	180	الذكور
% 22.22	100	% 100	450	المجموع

شخصت العزلات اعتمادا على المصادر المتبعة في التشخيص اضافة الى استخدام نظام API E20 لتأكيد

التشخيص ومن خلاله تم الحصول على 50 عزلة لبكتريا *Pseudomonas aruginosa* توزعت حسب العينات كما في

الجدول (2) .

جدول (2): توزيع العزلات حسب العينات

العينات		العينات		العينات		العينات		العينات		العينات البراز		العدد	العينات		
الاذن		الجروح		الحروق		المهبل		الدم		الادرار		الكلي			
%4	2	%12	6	%24	12	%2	1	%10	5	%12	6	%36	18	50	Pseudomonas aeruginosa

نسبة العزلات التي تم الحصول عليها من الذكور بلغت 32% بواقع 16 عزلة في حين تم الحصول 34 عزلة من

الاناث وبنسبة 68% . تبين من خلال النتائج ان 11 عزلة كانت في الفئة العمرية (21 - 25) في حين كانت اقل

نسبة هي عزلة واحدة عند الفئة العمرية (7 شهور - سنة) جدول (3)

جدول (3): توزيع العزلات حسب الفئات العمرية

Pseudomonas aeruginosa	الفئات العمرية
-	يوم - شهور
1	7 شهور - 1 سنة
-	2 سنة - سنوات
-	6 سنوات - 10 سنوات
-	11 سنة -- 15 سنة
10	16 سنة -- 20 سنة
11	21 سنة -- 25 سنة
6	26 سنة -- 30 سنة
3	31 سنة -- 35 سنة
2	36 سنة -- 40 سنة
7	41 سنة -- 45 سنة
10	46 سنة -- 50 سنة
-	51 سنة -- 55 سنة
-	56 سنة -- 60 سنة
-	61 سنة -- 65 سنة
50	المجموع الكلي

تم دراسة حساسية جميع العزلات لـ (20) مضادا حيويا من مجاميع المضادات الحيوية المختلفة و الاكثر شيوعا

واستخداما :

ان جميع عزلات *Pseudomonas aeruginosa* ابدت حساسية مطلقة لكل من المضادات الحيوية Amikacin

و Tobromycin و Imipenem و Pipracillin و Aztreonam بنسبة 100 % . اما للمضاد

Ciprofloxacin بلغت الحساسية 92% وللمضاد Carbenicillin فقد بلغت 90 % . في حين كانت اقل نسبة حساسية

هي للمضادين Cefixime و Gentamicin وبلغت 12% جدول (4)

جدول(4): مقاومة جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* للمضادات الحيوية

CN	TOB	AM	AX	CFM	PY	Cep	RA	CIP	DA	AZM	PI	T	L	K	AK	IPM	CTR	CAZ	CTX	العزلات
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	S	R	Ps1
R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	S	R	Ps2
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps3
R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps4
S	S	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps5
S	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps6
S	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps7
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	Ps8
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	Ps9
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	Ps10
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps11
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps12
R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps13
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps14
R	S	R	R	I	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps15
R	S	R	R	I	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	R	Ps16



R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	Ps17
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	Ps18
R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	S	S	Pu19
R	S	R	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	Pu20
R	S	R	R	I	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S	Pu21
R	S	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	Pu22
R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	Pu23
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	Pu24
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	PB25
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	PB26
R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	PB27
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	PB28
S	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	PB29
R	S	R	R	I	S	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	S	S	R	R	pV30
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	pw31
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	Pw32
S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	Pw33
S	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	Pw34
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	Pw35
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R	R	R	Pw36
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	PE37
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	pE38
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	pR39
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	pR40
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	R	pR41
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	pR42

R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	pR43
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	PR44
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	pR45
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	R	pR46
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	pR47
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	pR48
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	pR49
R	S	R	R	R	S	R	R	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	R	R	pR50

, Aztreonam CFM =AZM,Amoxacillin=AX, Ampicillin=AM, Carbencillin = PY, Pipracillin = PI,

, Ceftriaxone = CTR Rifampin=RA ,Clindamycin=DA ,Cefixime = Clindamycin=DA

,Lincomycin=L,Tetracycline=T, , Rifampin=RA ,Cefotaxim = CTX , Imipenem=IMP,

,Gentamicin = CN ,Kanamycin = K ,Amikacin = AK, Tobromycin=TobCiprofloxacin = CIP

Ceftazidim = CAZ

U = U ، Tonsils اللوزتين = T *Pseudomonas aeruginosa* جرثومة = p

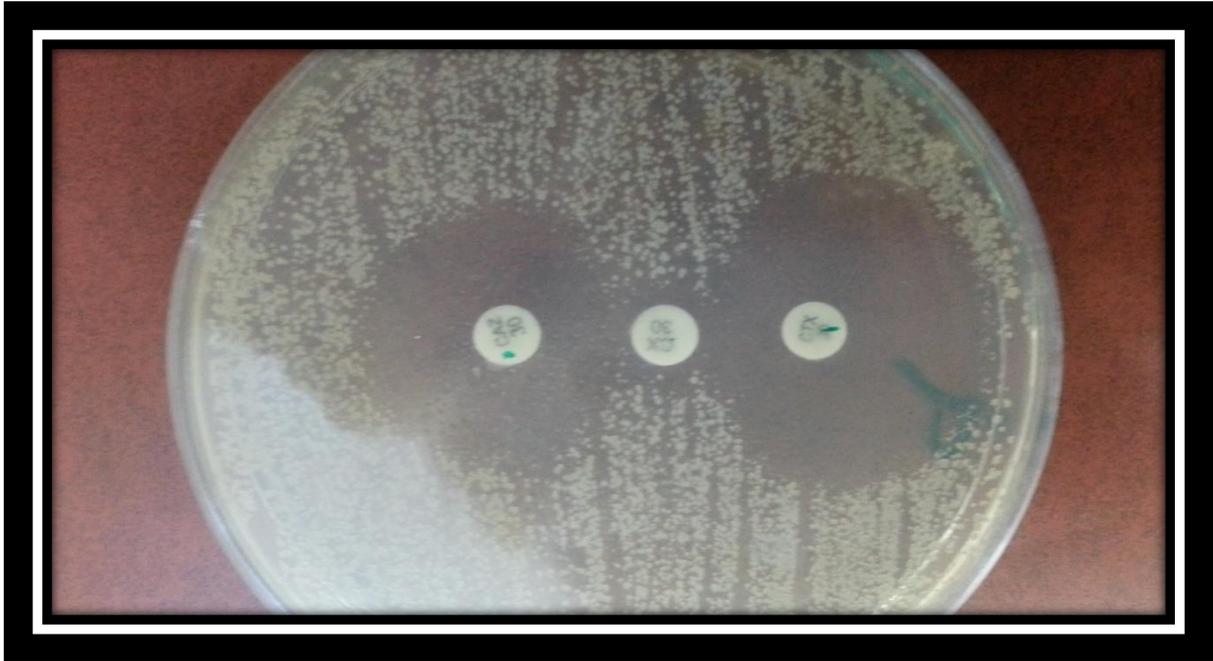
Ear الى عينات الاذن =E , Urine الى عينات الادرار

Blood الى عينات الدم = B , Burn الى عينات الحروق = R , Wound الى عينات الجروح = W

Vaginal الى عينات المسحات المهبلية = V , Stool الى عينات البراز = S

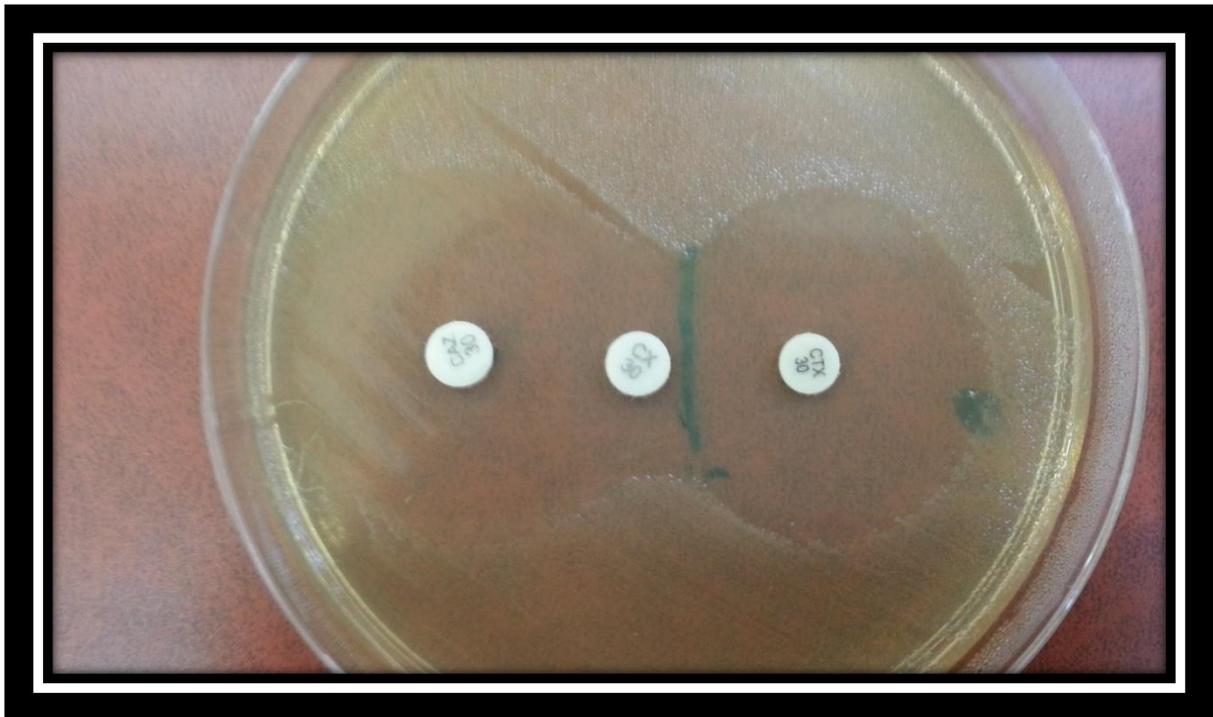
تم الحصول على ثلاث عزلات فقط لجرثومة *Pseudomonas aeruginosa* منتجة لأنزيمات البيبتالاكتيميز

المستحثة وكما هي موضحة في الاشكال : (4),(3),(2)



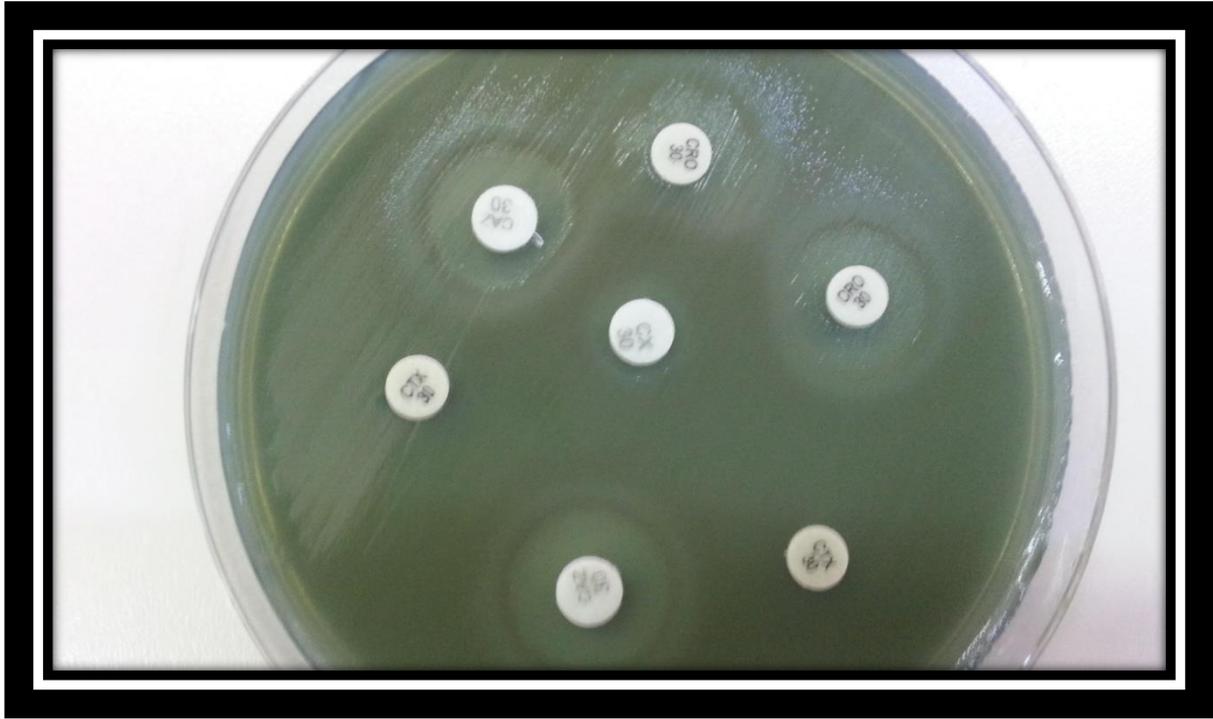
شكل (1): انتاج انزيمات البيتالاكتيميز المستحثة في جهة طرف قرص المضاد CTX و القرص CAZ في جرثومة

Pseudomonas aeruginosa



شكل (2): انتاج انزيمات البيتالاكتيميز المستحثة في الجزء المؤشر عليه باللون الاخضر في جرثومة *Pseudomonas*

aeruginosa



شكل (3): انتاج انزيمات البييتالاكتيميز المستحثة عند قرص المضاد CAZ في جرثومة *Pseudomonas aeruginosa*

5. المناقشة (Discussion)

اظهرت نتائج الدراسة الحالية انه تم الحصول على 50 عزلة لجرثومة *Pseudomonas aeruginosa* وبنسبة 36 % وبالرغم من ان دراسة [23] اشارت الى الحصول على نسبة اقل مما حصلنا عليه الا ان هذه النتيجة متوقعة كون عينات البراز المشمولة في هذه الدراسة هي لأطفال مصابين بالإسهال و بسبب كون هذه البكتريا من الانواع الانتهازية فربما كان سبب تردها هو اظهارها للقابلية الامراضية نتيجة لضعف المناعة بسبب حالة الاطفال الراقدين في المستشفى او نتيجة لحصول عدوى المستشفيات بهذه البكتريا. عزلت 6 عزلات لجرثومة *Pseudomonas aeruginosa* وبنسبة 12 % من الادرار وهذه النتائج مقارنة الى نتائج [24] الذي اشار الى ان نسبة هذه الجرثومة تكون اقل في اصابات المجاري البولية حيث تكون نسبتها 17%. إن سبب تواجد هذه الجراثيم في عينات الادرار بكونها تكون متجمعة على الإحليل و التي مصدرها الأمعاء ، تنمو وتتضاعف محدثة ما يسمى بالإلتهاب الإحليلي وبامكانها المغادرة إلى المثانة مسببة إلتهابها و عند عدم أخذ العلاج اللازم تصل إلى الحالب و منه إلى الكلية مسببة إلتهاب الكلية و حويضا . [25]

بينت النتائج انه تم الحصول على 5 عزلات *Pseudomonas aeruginosa* و بنسبة 10 % من نماذج الدم وهذه النتيجة تتفق مع دراسة [23] حيث حصلت في دراستها على هذه الجرثومة و بنسبة 9.62 % و ايضا مقارنة لدراسة [26] الذي عزل جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* من سوائل الجسم المختلفة بما فيها الدم وبلغت النسبة 11% في حين تم الحصول من عينات المسحات المهبلية على عزلة واحدة من *Pseudomonas aeruginosa* و بنسبة 2% علما انه في دراسة [27] بلغت نسبة عزل هذه الجرثومة 10.4 % . يرجع السبب في كون جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* هي من الفلورا الطبيعية للقناة الهضمية وبسبب الطبيعة التشريحية للمهبل اذ تكون فتحة المخرج قريبة من فتحة المهبل مما يزيد من نسبة انتقال هذه الجراثيم من موقعها الاصلي الى المهبل وتزداد نسبة الاصابة بالتهاب المهبل الجرثومي بعد استخدام العلاج بالمضادات الحيوية في عدد من الحالات المرضية وذلك لان المضادات الحيوية تقلل من التركيز الطبيعي لعصيات حامض اللاكتيك الذي يزيد من الاس الهيدروجيني للمهبل مما يعزز من تكاثر الاحياء المجهرية . [28]

بالنسبة لعزل جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* من عينات الجروح و الحروق فقد بلغت نسبتها 12% و 24% على التوالي و قد يكون السبب في ذلك هو ان هذه البكتريا واسعة الانتشار في التربة و المياه اضافة الى كونها من الجراثيم المنتشرة في المستشفيات و التي تسبب الالتهابات للمرضى الذين يعانون من نقص في دفاعات الجسم اضافة الى المرضى الراقدين في المستشفى لأكثر من اسبوع . و من جانب اخر تعتبر هذه الانواع من الجراثيم الانتهازية و التي تحتاج الى مغذيات بسيطة للنمو كما انها تتصف بمقاومتها للمطهرات و المضادات الحيوية وامتلاكها العديد من عوامل الضراوة [29] و ان النتيجة المتحصل عليها في الدراسة الحالية قريبة لما توصل اليه [30] والذي عزلها بنسبة 19.3 % . تم الحصول على عزلتين فقط لجرثومة *Pseudomonas aeruginosa* و بنسبة 4% وهي تتفق مع دراسة [31] الذي حصل على نسبة 3.33 % من مسحات الاذن . ان عزل هذه الجراثيم من الاذن قد يعود الى وجود عدد من العوامل التي تساعد على الاصابة بالالتهاب و منها اصابة القناة التنفسية العليا بالفايروسات الذي يؤدي الى انسداد قناة اوستاكي Eustachian Tube و بالتالي تجمع السوائل داخل الاذن [32]. كما ان حصول أي جرح صغير ناتج عن التنظيف المفرط لقناة الاذن و باستخدام الماسحة القطنية او أي اداة حادة يهيء الوضع للنمو البكتيري [33] اضافة لاستخدام سدادات الاذن و سماعات الاذن بصورة مستمرة يؤدي الى زيادة حصول الاصابة . [34]

تكون هذه الجرثومة مقاومة 100% لمضاد Ampicillin وسبب هذه المقاومة يعود لانتاج الجرثومة لانزيمات البيتا لاكتيميز ضد المضاد الحيوي الاميسيلين اذ ذكر (Cole) تكمن خطورة انتاجية هذا الانزيم كونها ترجع الى مقاومة كروموسومية او بلازميدية . [35]

بينت النتائج ايضا المقاومة المطلقة لمضاد ال Amoxicillin ونسبة 100 % وهذا مقارب لما توصل اليه الباحث [36] اذ كانت النسبة في دراسته 94.5 % بالنسبة لهذا المضاد ، بلغت نسبة المقاومة لل Kanamycin 100 % واختلقت مع ماتوصلت اليه الباحثة [23] لان النسبة بلغت 52 % .

اما بالنسبة لمضاد ال Rifampin فقد ابدت مقاومة مطلقة بلغت 100% وهي متفقة مع دراسة [37] اذ كانت النسبة 95 % الذي يثبط بناء RNA اذ يعمل على ايقاف الانزيم RNA polymerase للكائنات بدائية النواة ابتداءً من عملية الاستنساخ . [38]

بلغت نسبة حساسية الجرثومة لمضاد ال Ciprofloxacin 92 % واتفق مع دراسة [23] وينتمي هذا المضاد إلى مضادات Quinolones التي تكون قاتلة للاحياء المجهرية Bactericidal وتثبط بناء DNA إذ تثبط انزيم DNA gyrase الذي يعمل على فك ارتباط سلسلتي DNA [39] واتفقت نتيجة هذه الدراسة مع دراسات [42,41,40] الذين أكدوا على حساسية *P. aeruginosa* لمضاد Ciprofloxacin .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية حساسية عزلات *P. aeruginosa* للمضادين الحيويين Tobramycin و Amikacin و بنسبة 100 % . اذ ينتمي هذان المضادان إلى مجموعة Aminoglycosides التي هي عوامل قاتلة للاحياء المجهرية Bactericidal agents التي تثبط بناء البروتين البكتيري عن طريق الارتباط مع 30 S subunit للرابيوسوم البكتيري وهذه الريبوسومات المرتبطة مع الامينو كلايكوسايد تصبح غير ملائمة لترجمة mRNA اثناء بناء البروتين و بذلك فإنها تؤدي إلى موت الخلية كما ان Aminoglycosides تسبب قراءة خاطئة في الشفرة الوراثية مع انتاج بروتين غير حساس [39] . و اتفقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة [43] الذي اثبت حساسية *P. aeruginosa* لا Aminoglycosides لا Tobramycin و Amikacin . بلغت نسبة المقاومة لمضاد ال Cefixime في الدراسة الحالية 88 % وهذه النتيجة تتفق مع دراسة [37] الذي توصل الى نسبة 80 % .

كما اعطت عزلات *P. aeruginosa* مقاومة و بنسبة 88 % الحويبة Gentamicin ان مقاومة هذه الجرثومة لهذا المضاد الذي هو من نوع Aminoglycosides تحدث بوساطة انتاج انزيمات محورة لا Aminoglycosides مثل Acetyltransferases و phosphotransferases ، فضلاً عن الانخفاض في نفاذية الغشاء الخارجي للجرثومة . [45,44] بالرغم من ذلك ان هذه النتيجة غير متوافقة مع دراسة [46] التي كانت فيها المقاومة لهذا المضاد هي 18% . ان سبب المقاومة لا oxytetracyclin والتي بلغت 60% ناتج من فشل الدواء من الوصول إلى التركيز المثبط داخل البكتريا وهذا ناتج من العمليات المشفرة من قبل البلازميد التي اما ان تختزل من امتصاص الدواء أو تسهل نقله بعيدا عن الخلية . [47] جاءت هذه النتائج مطابقة مع دراسات محلية وعالمية كدراسة [46] التي بينت ان عزلات *P. aeruginosa* المعزولة من مواقع اصابات مختلفة في الانسان كانت حساسة لا carbenicillin بنسبة 79 % و هي متفقة مع نتائج الدراسة الحالية التي ابدت حساسية 90 % لا carbenicillin . ايضا اتفقت مع نتيجة دراسة [48] حيث كانت نسبة الحساسية لهذا المضاد 100% و اكدت دراسة الباحث [49] ان هذا المضاد ومعه بعض المضادات الاخرى التي ابدت حساسية مطلقة قادرة على القضاء على البكتريا رغم المقاومة التي تبديها في بعض الاحيان .

اتفقت الدراسة الحالية مع دراسات العديد من الباحثين [50,51,19,52,17] التي أشارت إلى ان عزلات *P. aeruginosa* حساسة لكل من Tobramycin و Ciprofloxacin و Amikacin و متباينة المقاومة لكل من Carbenicillin و Ceftazidim و مقاومة لكل من المضادين الحيويين Kanamycin و Gentamicin . بالنسبة للحساسية المطلقة لمضاد الPipracillin ايضا اتفقت مع دراسة [48] الذي اكدت نتائجه حساسية جرثومة الزائفة الزنجارية وهي متفقة مع نتائج الدراسة الحالية التي توصلت الى الحساسية المطلقة التي ابدتها الجرثومة لهذا المضاد . اظهرت النتائج ان المقاومة لمضاد ال Ceftriaxone بلغت 30% وهي تتفق مع ما حصل عليه الباحث [53] لان نسبة المقاومة في دراسته بلغت 45% [52] .

بينما بلغت المقاومة لمضاد Cefotaxime 86 % و يتفق بذلك مع الباحث [36] اذ بلغت نسبة المقاومة لنفس المضاد 86.5% . يعود السبب إلى ذلك في ان المقاومة العالية تجاه مجموعة مضادات السيفالوسبورينات قد تعود إلى كثرة إستخدامها ، وهذا الإستخدام غير المتقن بشكل متكرر و بجرع غير صحيحة ساعد البكتريا على تطوير آليات مقاومة مختلفة تجاه هذه المضادات .

تم الحصول على 3 عزلات من جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* منتجة لانزيمات البيبتالاكتيميز المستحثة وهي نتيجة مقارنة لنتيجة الباحث [36] الذي حصل على 4 عزلات موجبة كانت منتجة لهذه الانزيمات اذ ان الجراثيم المعوية تعمل على رفع مستوى انتاج هذه الانزيمات ويعود السبب الى حدوث الطفرات و تطوير المقاومة للعلاج [53] فان ازدياد المقاومة لمضاد ال Cefoxitin يعود الى انتاج انزيمات ال AmpC المحفزة وقد تكون هذه الانزيمات مكتسبة اذ لوحظت بشكل رئيسي في الجراثيم المعوية اذ اكد وجود انزيمات ال AmpC المكتسبة باستخدام تقنية PCR. اظهرت الكثير من الدراسات ان اختبار اقراص AmpC دقيق في الكشف عن انزيمات البيبتالاكتيميز المستحثة بلازميدية الصنع في العائلة المعوية [54] و ان هذا الاختبار من الاختبارات السريعة والدقيقة في الكشف عن العزلات الحاملة لانزيمات ال AmpC و من الممكن استعماله في الفحوصات الروتينية التي تجري في المختبرات السريرية في العراق [55] وقد اظهرت نتائج عدة دراسات ان العزلات المقاومة لمضاد ال Cefoxitin هذا يعني امتلاكها لانزيمات ال AmpC اما عند عدم امتلاكها لهذه الانزيمات الكروموسومية المحفزة فهذا يدل على كون الانزيم قد يكون من النوع الذي يتوسطه البلازميد . [56]

المصادر (Reference)

- [1] G.F.Brooks , K.C.Carroll , J.S.Butel and S.A. Morse.jawetz , Melnick ,and Adelbergs . *Medical microbiology*.24thed. McGraw – Hill. USA.(2007).
- [2] K.Todar . *Pseudomonas aeruginosa.University of Wisconsin– Madison* , Department of Bacteriology.(2004).
- [3] C.K.Stover , X.Q.Pham ,A.L. Erwin ,S.D. Mizoguchi ,P. Warrenner and M.J.Hickey. *Complete genome sequence of Pseudomonas aeruginosa PAO1*, an opportunistic pathogen. ;(2000). 406:959–964.
- [4] J.C.Sherrie,K.J. Ryan and C.G. Ray.Medical Microbiolog 5th .*Lange Medical books* .McGraw–Hill Co. Inc .U.S.A.(2010).
- [5] A.Y.Itah and J.P.Essien . *Growth Profile and Hydrocarbonoclastic Potential of Microorganisms Isolated from Tarballs in the Bight of Bonny , Nigeria*. World



Journal of Microbiology and Biotechnology.(2005). 21 (6–7): 1317–22.
doi:10.1007/s11274-004-6694-z.

[6] EBM.Breidenstein, C. De la Fuente –Nuñez and REW. Hancock. *Pseudomonas aeruginosa: all roads lead to resistance*. Trends Microbiol .(2011)19 : 419 – 426 .

[7] T.T.Tan.Future.*threat of gram–negative resistance in Singapore*. Ann Acad Med Singapore . (2008).37:884–890.

[8] D.E.Xavier, R.C.Picão ,R. Girardello, L.C.Fehlberg and A.C.Gales. *Efflux pumps expression and its association with porin downregulation and b–lactamase production among Pseudomonas aeruginosa causing bloodstream infections in Brazil* . BMC Microbial .(2010) .10 – 217.

[9] A.Sánchez, S.Salso, E.Culebras and J.J.Picazo. *Resistencia a carbapenemes por metaloenzimas en aislamientos clínicos de Pseudomonas aeruginosa* .(2004) 17 : 336 – 340 .

[10] J.P.Heale, A.J.Pollard, K.Crookall, R.W.Stokes, D.Simpson, D.P.Speert, A.Tsang and M. Bonnie .*Two distinct receptors mediate nonopsonic phagocytosis of different strains of Pseudomonas aeruginosa*. J. Infect.(2001). Dis. 183(8): 1–15.

[11] D.Greenwood, R.Finch, P.Davey and M. Wilcox .*Antimicrobial chemotherapy* . Oxford University Press, NewYork.(2007).

[12] J.A.Jacoby and K. Bush . *Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended–Spectrum and Inhibitor Resistant β – Lactamases*. <http://www.lahey.org/Studies/>.(2009).

[13] S.Aroraand M. Bal . *AmpC β –lactamases producing isolates from Kolkatta hospital* . India J. Med. Res.(2005) 122:242–333.

[14] A.Philippon, G.Arletand G.A. Jacoby .*Plasmid – determined AmpC–type beta–lactamases*. Antimicrob. Agents Chemother. (2002).46 (1): 1–11.
doi:10.1128/AAC.46.1.1–11.2002. PMC 126993. PMID 11751104.

- [15] A.J.Schmidtke and N.D.Hanson. **Model system to evaluate the effect of ampD mutations on AmpC-mediated β -lactam resistance.** Antimicrob. Agents Chemother. (2006).50: 2030 – 2037.
- [16] D. Xi-wei, X , D.Fang, S.Wen-qi, L. Ping, Y.Sang-jie, Y.Yong-hong, and S.Xu-zhuang. **Characterization of multidrug resistant and metallo β -lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa isolates from pediatric clinic in China.** Chin. (2008). Med. J. 121: 1611-1616.
- [17] B.A.Forbes , D.F.Sahm and A.S. Weissfeld. **Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology** . 12th ed. Mosby. Inc. St. Louis. USA .(2007). Pp:166 – 167
- [18] C.R. Mahon ,D.C. Lehman , and G.Manuselis. **Text book ofdiagnostic microbiology** . (2007). 3th. ed. , Saunders , Elsevier.
- [19] J.G.Collee , A.G.Fraser, B.P.Marmion and A.Simmons. **Mackie and McCartney's Particle Medical Microbiology** . 14th ed . Churchill Livingston .USA. (1996) .Pp:166 – 170 : 838 – 839 .
- [20] J.F. MacFaddin.**Biochemical test for identification of medical bacteria** .Lippincott Williams and Wilkins . Philadelphia ,USA . (2000).
- [21] A.E.Brown .**Benson`s Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiology**.(2007) 10thed., P. 102-263. McGraw-Hill comp. Inc., USA.
- [22] G.B. David and A.J.Jeffrey .**Role of Cefoxitin – Inducible B-lactamase in acase of Break through Bacterimia**. Journal of Clinical Microbiology,(1980) . p.517-520.
- [23] كوكب إدريس محمود حسين، المشهداني.(2004): **دراسة تشخيصية و امراضية لجرثومة الزائفة الزنجارية المعزولة من مصادر مختلفة في مدينة الموصل**. اطروحة دكتوراه.جامعة الموصل.
- [24] A.Nihad,M. Wa'ad and A. Sheelan. **Prevalence and Antibiogram Profile of P.aeruginosa Isolated from Patients Attending STH At Tikrit city**. The Medical Journal of Tikrit University.(2008). 8 : 61 – 67 .

[25] A.B.Wolfson . *Harwood – Nuss Clinical Practice of Emergency Medicine* . 5th ed . Wolters Kluwer / Lippincott . Williams and Wilkins . Philadelphia . USA. (2009). P: 639–642.

[26] ليلى عبد الكريم، الامير. (2000) *دراسة جزيئية عن عوامل الضراوة لجراثيم Pseudomonas aeruginosa* اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة بغداد .

[27] رنا خالد احمد غائب، الطريا. (2002) *تأثير بعض المستخلصات النباتية في نمو جراثيم Proteus mirabilis و Pseudomonas aeruginosa المعزولتين من مناطق مختلفة من جسم الانسان* . رسالة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل .

[28] J.Virella. *Microbiology and Infectious Disease* . 3rd ed Williams and Wilkins, Mass Publishing Co. USA.(1997). PP.159–162.

[29] E.W.Koneman,S.D.Allen,W.M.Janda,P.C.Schreckenberger and W.C.J.Winn. *Color Atlas and Text book of Diagnostic Microbiology* .6th ed.Lippincott William and Wilkins. Philadelphia.USA.(2006).

[30] B.Z.Sarsoor . *The Microbial Pattern of the Burned Wound*.M.ch. Thesis. University. Alexandria .Fac.Medicine.(1980).

[31] بيداء حسين علوان، السامرائي.(2001): *دراسة بعض العوامل المؤثرة على عملية التصاق بكتريا Pseudomonas aeruginosa* . رسالة ماجستير . كلية العلوم . الجامعة المستنصرية.

[32] S.Stool , C.Johnsonand A. Stark .*Diagnostic and Management of OM pediatr* .(1998). in review 19 (12) :1–7 .

[33] O.Handzel and Halperin.*Necrotizing(Malignant)otitis Externa ,American Family physician*. (2003). J.68(2) :309–321.

[34] N.D.Chohan , J.V.Cray , P.H.Johnson ,J.P. Kowalak, J.E.Mills and T.Point .*Handbook of Infection Diseases Sprighouse Co.USA*.(2001)

[35] St.Cole and MH .*Nicolas.β–lactamase resistance mechanisms in gram negative bacteria*.Microbiological Sciences .(1986).1:334–39.

- [36] الهام جواد، كاظم. (2010): التحري عن انزيمات *AmpC* بيتالاكتيميز في العزلات السريرية لبكتريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* في مستشفيات مدينة النجف . مجلة جامعة الكوفة . كلية الطب | جامعة الكوفة.
- [37] سناء مهدي، عريبي (2010): مقاومة جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من اصابات سريرية مختلفة لبعض المضادات الحيوية . مجلة علوم ذي قار . المجلد 2 العدد 3.
- [38] E.W.Nester, C.E.Roberts, N.N.Pearsall, D.G.Anderson, and M.T.Nester. **Microbiology a Human Perspective**. 2nd ed., WCB / McGraw–Hill Companies, Inc., USA.(1998).
- [39] P.R.Murray,J.O. Baron,M.A. Pfaller,F.C. Tenover and R.H.Yolken. **Manual of Clinical Microbiology**. 7th ed ., American Society for Microbiology Press,Washington, (1999).D.C., PP. 517–527 , 1474–1525.
- [40] A.Hostacka and V. Majtan . **Influence on Pseudomonas elastase, proteinase and alginate by supra–inhibitory and supra–subinhibitory concentrations of quinolones**. Microbios, (1996) .87: 141–147.
- [41] A. Hostacka . **Postantibiotic effect and virulence factors depression induced by ciprofloxacin and by aminoglycosides in clinical isolate of Pseudomonas aeruginosa**. Zbl. Bakt., 1996. 283: 322–327.
- [42] A.Hostacka. **In vitro post antibiotic effect of imipenem and enoxacin alone and in combination against Pseudomonas aeruginosa**. Pharmazie, (1997a). 52: 544–546.
- [43] B.F.Woolfrey, R.T. Lally, M.N. Ederer and C.O. Quall. **Evaluation of the automicrobic system for susceptibility testing of Pseudomonas aeruginosa to gentamicin, tobramycin and amikacin**. J.Clin.Microbiol.(1984).19(4)502–505.
- [44] A.U.Gerber, A.P.Vastola, J. Brandel and W.Graig . **Selection of aminoglycoside – resistant variants of Pseudomonas aeruginosa in an in vivo model**. J. Infect.(1982). Dis. 146(5): 691 – 697.

[45] E.L.A.Macfarlane, A.Kwasnicka, M.M.Ochsand R.E.W.Hancock. ***PhoP–PhoQ homologues in Pseudomonas aeruginosa regulate expression of the outer–membrane protein OprH and polymyxin B resistance.*** Molecular Microbiology.(1999). 34(2): 305–316.

[46] ندى فاضل، الراوي . (1999) : دراسة تشخيصية و فسلجية لعدد من الاجناس التابعة لمجموعة الجراثيم العسوية السالبة غير المخمرة . اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم ، جامعة الموصل .

[47] W.Levinson and E. Jawetz. ***Medical Microbiologyand Immunlogy Examination and Board Review*** . 6th ed., Lange Medical Books. McGraw–Hill. New York.(2000)

[48] انمار احمد داؤد، الطائي . (2008) : **كفاءة الملتقم البكتيري الخاص في علاج تلوث الحروق ببكتريا Pseudomonas aeruginosa** . مجلة علوم تكريت . مجلد 13 عدد 2.

[49] J.M. Davis and G.T. Shires. ***Principles and Management of Surgical Infections*** .J.B. Lippincott Co, Philadelphia .(1991).

[50] M.S.Mayo, W.L.Cook, R.L.Schlitzer, M.A.Ward, L.A.Wilsonand D.G.Ahearn . ***Antibiograms , serotypes and plasmid profiles of Pseudomonas aeruginosa with corneal ulcers and contact lens wear.*** J. Clin . Microbiol.(1986). 24(3): 372 – 376.

[51] M.Millesimo , G.D.Intinis, M.G.Chirillo, T.Musso and D. Savoia, ***Pseudomonas aeruginosa clinical isolates: Serotypes, resistance phenotypes and plasmid profiles.*** European Journal of Epidemiology. (1996).12: 123–129.

[52] بديع شرف الدين عزيز، النقيب.(2008): **العوامل المؤثرة في التوصيف الإنزيمي والقابلية الالتصاقية ومقاومة المضادات الحياتية للزوائف الزنجارية المعزولة من التهاب المجاري البولية** . أطروحة دكتوراه كلية العلوم . الجامعة المستنصرية .

[53] A.Becerio and G. Bou .Class C B–lactamases : ***an increasing problem worldwide*** .Rev Med Microbiol.() 15:141 – 152 .

- [54] J.A.Black, E.S.Moland and K.S.Thomson. *AmpC disc test for detection of plasmid-mediated AmpC β - lactamases in Enterobacteriaceae lacking chromosomal AmpC β -lactamases.*J.Clin.Microbiol.(2005).43:3110–3113
- [55] M.Shahid and A.Malik . *Multidrug resistant Pseudomonas aeruginosa strains harboring R-Plasmid and AmpC- lactamases isolated from hospitalized burn patients in a tertiary care hospital of North India.* FEMS Microbiol Lett (2003) .228(2): 181-186.
- [56] E.S.Moland, J.A.Black, A.Hossain, N.D.Hanson, K.S.Thomson and S. Pottumarthy .*Discovery of CTX-M-like extended- spectrum β -lactamases in Escherichia coli isolates from five US States.* Antimicrob. Agents Chemother. (2003).47: 2382 – 2383.

المؤلف

زهراء عايد أحمد : حاصلة على شهادة البكالوريوس علوم الحياة / للعام الدراسي 2010-
2011 من جامعة كركوك، وحاليا طالبة ماجستير في كلية العلوم / جامعة كركوك / أحياء
مجهرية.

