P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2015 ,(9), (3) :36-43
(JUAPS) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة
Open Access

عزل وتشخيص بكتريا *Pseudomonas* من التربة ومن حالات اصابة مختلفة و دراسة حساسيتها للمضادات الحيوية

إشراق عبد الرزاق صالح   مثنى بديع فرحان   علي حازم عبد الكريم

كلية العلوم / جامعة الانبار
كلية التربية للبنات / جامعة الانبار

معلومات البحث:
تاريخ التسليم: ٢٠١٣/٠٠/٠٠
تاريخ القبول: ٢٠١٤/٥/٦
تاريخ النشر: / / ٢٠٢٢

DOI: 10.37652/juaps.2015.127586

الكلمات المفتاحية:
عزل، تشخيص،
Pseudomonas،
التربة،
حالات مرضية،
مضادات الحيوية.

الخلاصة:

تم جمع ٨٥ عينة لغرض التحري عن بكتريا *Pseudomonas spp.* ودراسة مقاومتها للمضادات الحيوية. وقد شملت العينات (18عينة من التهابات الجروح، 21عينة حروق، 23عينة التهاب الأذن الوسطى، 6من التهاب المجاري البولية و3 عينة قشع) بالاضافة الى 14 عينة من التربة. وشُخصت هذه الحالات باستخدام الفحوصات الزرعية والكيموحيوية، وايضاً تم التشخيص باستخدام اختبار نظام API 20E. وبينت النتائج اعلى نسبة عزل لبكتريا *Pseudomonas spp* كانت للحروق والاذن بنسبة 23% وشملت الانواع التابعة لجنس *Pseudomonas sp.* التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة بكتريا 49 *Pseudomonas aeruginosa* (94.2%) تليها 2 *Pseudomonas fluorescens* (3.8%)، 1 *Pseudomonas oryzihabitans* (1.9%). فُحصت مقاومة عزلات *Pseudomonas spp.* تجاه 10 انواع من المضادات الحيوية، واظهرت العزلات اعلى حساسية لمضادات Imipinem، Ciprofloxacin، Amikacin وبنسبة 98.1 % و92.3% و90.4% على التوالي. وسجلت اعلى نسبة مقاومة لجميع العزلات كانت لمضاد Cefotaxime وبنسبة 88.5%.

المقدمة

بكتريا *Pseudomonas* سالبة لصبغة كرام تعود لعائلة Pseudomonadaceae، هوائية اجبارية، متحركة، حيث يستخدم المصطلح Pseudomonad بدقة لوصف البكتريا الهوائية السالبة لكرام والغير مكونة للسبورات (1). تنتشر هذه البكتريا بشكل واسع في الطبيعة بما في ذلك التربة والمياه العذبة وايضا تم عزلها من الادوات الطبية والعديد من اجسام الكائنات الحية، وقد يعزى سبب ذلك قدرتها على استهلاك العديد من المركبات العضوية البسيطة والمعقدة، تنمو هذه البكتريا في درجة حرارة (4–42) °م، وpH بين 8–4 (٢).

تنتشر هذه البكتريا بشكل واسع في الطبيعة خاصة في البيئات الرطبة، حيث تعتبر *Pseudomonas aeruginosa* من الممرضات الرائدة و المسببة لعدوى المستشفيات خاصة في وحدات العناية المركزة intensive care units (ICU (٣).

* Corresponding author at: College of Science / University of Anbar . E-mail address:

وقد ذكر حديثا تفشي تجرثم الدم ببكتريا *P. fluorescens* لمرضى السرطان حيث تنقل بواسطة حقن الهيبارين للمرضى(4). وكما ذكر (5) وجود *Pseudomonas oryzihabitans* في مواقع مختلفة داخل المستشفيات، كاجهزة علاج الجهاز التنفسي، ومياه الصرف الصحي، بالاضافة الى وجودها في الشاش المعقم حيث تسبب pseudobacteremia خاصة لمرضى نقص المناعة. وكما تعد بكتريا *P.aeruginosa* ألاكثر مقاومة للعلاج بالمضادات الحيوية، بسبب امتلاكها وفرة منخفضة من البورينات الغير متخصصة non– specific porins، مع العديد من آليات تدفق الادوية او المضادات الحيوية للخارج(6) drug efflux . وقد ذكر ايضا ان النفاذية المنخفضة لقناة البورين هي العامل الرئيسي الذي يعزز أنواع أخرى من آليات المقاومة وغالبا ما يخلق المقاومة للأدوية المتعددة القوية للممرض pathogen داخل المستشفيات(7). حيث ان هنالك مساران ضروريان لامتصاص المضادات الحيوية من قبل الغشاء الخارجي outer membrane : مسار بوساطة الدهون للمضادات الحيوية الكارهة

للماء، والبورينات العامة (الغير متخصصة) لانتشار المضادات الحيوية المحبة الماء (8). وان التغيرات التي تحصل في البورينات او غياب هذه البروتينات تقلل من وصول او اجتياز المضادات الحيوية القطبية عبر الغشاء الخارجي، وبالتالي يمكن أن تساهم في مقاومة المضادات الحيوية، وان انخفاض النفاذية يقلل من عبور المغذيات عبر الغشاء9. ويتبين من ذلك ان هناك نوعان من انظمة النقل المختلفة عبر الغشاء البكتيري– الدفق للداخل influx والضخ او الدفق للخارج efflux (10) مضادات β-Lactams هي صنف من المضادات الحيوية الرئيسية، التي تستخدم البورينات porins للمرور عبر حاجز الغشاء الخارجي للبكتيريا السالبة لكرام.(11) لقد اثبتت العديد من الدراسات وجود علاقة وثيقة بين بورين oprD لبكتريا *P.aeruginosa* ومضاد imipenem، حيث ان الحساسية لمضاد imipenem تكون بسبب وجود حلقاتloop 2 و 3 في تركيب هذا البورين التي تقوم بالارتباط مع المضاد وبالتالي امتصاصه من قبل(12) *P.aeruginosa*. ألامينوكلايكوسيدات aminoglycosides وكوليستين colistin لا تعبر الغشاء الخارجي عبر قنوات البورين(13). تكون المقاومة الذاتية والمتكيفة الأولية للأمينوكلايكوسيدات بسبب نظام التدفق المتعدد للأدوية MexXY في العزلات و المختبرات السريرية (14). واخيرا، ان البكتيريا المقاومة تتحكم بنفاذية اغشيتها كخط دفاع اول لحماية نفسها من المركبات السامة الخارجية مثل المضادات الحيوية والمبيدات الحيوية (15).

المواد وطرائق العمل:

جُمعت العينات من المرضى المصابين بالتهابات الجروح (18) والحروق (21) والتهاب الاذن الوسطى (23) والقشع (3) والتهاب المجاري البولية (6) من المرضى الوافدين الى مستشفى الرمادي العام للفترة من ٣ /٢٠١٥/٣ الى ٢٠١٥/٣/٢٩. بالاضافة الى 14 عينة اخذت من التربة من مناطق مختلفة لمدينة الرمادي.

أُجري فحص الصبغة التفريقية وهي صبغة كرام لملاحظة اللون والمظهر الخارجي للخلايا البكتيرية لعزلات الدراسة والتي يتم من خلالها التشخيص المجهري لبكتريا *Pseudomonas Sp.* اما اختباري الكاتليز والاوكسيديز فتم اجراءهما بحسب (16)وكما اجري اختبار نظام 20E API حسب توصيات الشركة المنتجة (bioMerieux)فحص الحساسية للمضادات الحيوية: تم استعمال طريقة Kirby Bauer المذكورة من قبل (17) للتعرف على مدى حساسية عزلات Pseudomonas sp التي تم الحصول عليها وقد استعملت مجموعة من أقراص المضادات الحيوية وتضمنت هذه المضادات: Gentamycin (GM) (10مايكروغرام)،Amikacin (AK) (30 مايكروغرام)، Netilimicin (NET)(30 مايكروغرام)،Imipenem (IPM) (10مايكروغرام)، Ciprofloxacin (CIP)(5 مايكروغرام)،CTX (Cefotaxime) (30 مايكروغرام)، Co-Trimoxazol (COT)(25 مايكروغرام)، Piperacillin (PI)(100 مايكروغرام)، Tetracycline (TE) (30 مايكروغرام)، Chloramphenicol (C) (30 مايكروغرام).

النتائج و المناقشة:

جُمعت (71) عينة مرضية شملت التهاب المجاري البولية ومسحات الجلد (الجروح، إلتهابات الحروق، التهابات الأذن) ومن كلا الجنسين الذين تراوحت اعمارهم ما بين (4-60) سنة في مستشفى الرمادي العام، بالاضافة الى (14) عزلة من التربة اخذت من المستشفى ومواقع اخرى لنفس المكان وكانت جميع عزلات Pseudomonas سالبة لصبغة كرام وموجبة للكاتليز و ايضا كانت جميع العزلات موجبة لاختبار الاوكسيديز، عدا عزلة واحدة تعود لبكتريا *Pseudomonas oryzihabitas* كانت سالبة لفحص الاوكسيديز وهذا يتفق مع نتائج (18) كذلك ذكروا انها سالبة للاوكسيديز.

ويتضح انتشار الإصابة ببكتريا *Pseudomonas* في مختلف الفئات العمرية مع اختلاف نسب توزيعها ولوحظ أن أعلى نسبة للإصابة ببكتريا *Pseudomonas*كانت في مرضى التهاب الاذن الذين كانوا باعمار اقل من ٢٠سنة، وايضا لوحظ عدم وجود تباين كبير في نسبة انتشار الإصابة بهذه البكتريا بين الذكور والإناث

تم اجراء فحص الحساسية لتحديد مدى حساسية ومقاومة عزلات بكتريا *Pseudomonas sp.* المعروفة بأمتلاكها مقاومة ذاتية ومكتسبة للعديد من الادوية المضادة للميكروبات التي يتم استخدامها على نطاق واسع(19) وعلاقة ذلك مظهريا بوجود او تركيز ونوع القنوات البروتينية (البورينات) الموجودة على الغشاء الخارجي لـ *Pseudomonas sp.* والمسؤولة عن الية التدفق الى الداخل influx للعديد من المركبات ومن ضمنها المضادات الحيوية مثل مضادات البيتا لاكتام كمضاد الاميبنيم ومضادات الفلوروكينولونات(20) .

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (JUAPS) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2015 ,(9), (3) :36-43

حددت حساسية العزلات البكتيرية تجاه المضادات الحيوية بحسب ما ورد في(21).

جدول (١): النسبة المئوية لحساسية بكتريا *Pseudomonas sp.* للمضادات الحيوية

مصدر العزلة	عدد العزلات	GM	AK	NET	IPM	CTX	CIP	PI	C	TE	COT
التهاب الحروق	12	66.7	83.3	66.7	100	25.0	83.3	50.0	83.3	41.7	16.7
التهاب الجروح	10	60.0	70.0	50.0	100.0	0.0	100	50.0	80.0	10.0	10.0
التهاب الأذن	12	91.7	100.0	91.7	100	8.3	91.7	83.3	75.0	25.0	25.0
التهاب المجاري البولية	6	66.7	100.0	50.0	100.0	16.7	83.3	66.7	100.0	16.7	50.0
القشع	1	100.0	100.0	100.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	0.0	0.0
الترية	11	100.0	100.0	100.0	90.0	9.1	100.0	90.0	100.0	63.6	90.0
المجموع الكلي	52	78.8	90.4	75.0	98.1	11.5	92.3	69.2	86.5	34.6	19.2

بالنسبة لالتهاب الحروق، لوحظ ان عزلات الحروق كانت حساسة 100% لمضاد Imipenem وهذا يتفق مع Japoni واخرون (22) حيث بينوا ان جميع بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من مرضى الحروق تكون حساسة لمضادات الكاربينيمات (imipenem, meropenem). وايضا وجد ان عزلات *Pseudomonas* كانت حساسة و بنسبة 83% لكلا من مضادات Amikacin و Ciprofloxacin وذلك يختلف مع ماذكره Tsakris واخرون (23) اظهروا ان بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* تمتلك مقاومة متعددة لمضاديamikacin و ciprofloxacin.

اما عزلات الجروح، فقد وجد ان بكتريا *P.aeruginosa* كانت حساسة 100% لمضادي Imipinem، Ciprofloxacin وفيما يخص المضاد الاخير فان نسبة الحساسية هذه اعلى بكثير من نتائج دراسة *(24)* في فرنسا. بينما نجد العكس بالنسبة لمضاد Cefotaxime حيث كانت *P.aeruginosa* مقاومة 100% لهذا المضاد، وذلك لايتفق مع ماذكره الباحثان (25)اذ اظهرا حساسية *P.aeruginosa* المعزولة من الجروح لمضاد Cefotaxime. واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (26) في الولايات المتحدة اذ بينوا حساسية *P.aeruginosa* لمضادات Ciprofloxacin، Gentamicin، Amikacin .

وفيما يخص التهاب الاذن Otitis media فقد بينت نتائج الدراسة الحالية زيادة الحساسية لمضادي Amikacin، Imipenem بنسبة 100% وكذلك مضادات Ciprofloxacin، Gentamicin،Netilimicin بنسبة 91.7% وهذا يتفق مع (27) اثبتوا حساسية *P. aeruginosa* لهذه المضادات.

بينما مضادي Co-trimaxazole، Tetracycline كانت نسبة المقاومة لهما 75% وجاءت هذه النتائج قريبة من دراسة Muluye (28) اذ بينوا حساسة *P. aeruginosa* لهذين المضادين. اما بالنسبة لمضادي Piperacillin، Chloramphenicol فقد كانت نسبة المقاومة 16.7% ، 25% على التوالي وهذه النتائج مقاربة لنتائج (29) حيث كانت عزلاتهم مقاومة بنسبة 21.9% لكلا المضادين.

كما ابدت عزلات *P.aeruginosa* قيد الدراسة المعزولة من التهابات المجاري البولية اعلى حساسية بنسبة 100 % لمضادي amikacin، imipinem واعلى مقاومة بنسبة 83.3% لمضادي cefotaxime، Tetracycline جدول (١)

و اظهرت العزلات قيد الدراسة حساسية عالية للجنتاميسن وبنسبة (78.8%) جدول (١) شكل (١) و بمقارنة نتيجة الدراسة الحالية مع نتائج دراسة محلية (30) الذين توصلوا الى أن جميع عزلات *P.aeruginosa* التي اخذت من المرضى الوافدين hospitalized patients لمستشفيات مختلفة في مدينة السليمانية كانت مقاومة 100% للجنتاميسين. و ربما يعود سبب الحساسية العالية لبكتريا *P.aeruginosa* للجنتاميسين لامتلاكها معدل منخفض من انظمة التدفق efflux pump، حيث وجد ان حذف الجين المسؤول عن ضخ المضادات للخارج MexXY يزيد من الحساسية للمضادات مثل erythromycin، gentamycin،MexXY-OprM اي ان له دور في مقاومة مضادات ألامينوكلايكوسيد (31)

و كما لوحظ ان مضاد Amikacin كان اكثر فعالية ضد *Pseudomonas. spp* من باقي مضادات الأمينوكلايكوسيد

(Netilimicin،Gentamicin) المستخدمة في الدراسة الحالية شكل (٢)، حيث بلغت نسبة الحساسية الكلية لجميع العزلات (90.38%) جدول (١) وهذ النسبة للحساسية اعلى مما ورد في نتائج *(33)* الذي بين ان 78% من *Pseudomonas aeruginosa* حساسة لمضاد amikacin. وقد يكون سبب فعالية هذا المضاد لأحتوائه على مجموعة aminohydroxybutyryl، والتي تمنع الانزيمات المحورة للبكتريا بالارتباط بهذا المضاد amikacin في مواقع متعددة و دون التدخل مع الارتباط بالموقع A من الحمض النووي rRNA (34) اما بالنسبة لمضاد Netilimicin، كانت عزلات التربة وعزلة القشع حساسة 100% لهذا المضاد وكما سجلت عزلات التهاب الاذن حساسية عالية لهذا المضاد بنسبة 91.7% بينما عزلات الجروح، التهاب المجاري البولية، الحروق فكانت نسبة المقاومة 50% ، 50%، 33% على التوالي شكل (٣).

اما مضاد Imipenem، كانت نسبة حساسية العزلات قيد الدراسة 98.1% حيث ان جميع العزلات كانت حساسة لـ Imipenem عدا عزلة واحدة من التربة كانت مقاومة جدول (١) وشكل (4)، وتختلف هذه النتيجة مع دراسة قام بها (35) اذ اثبتوا ان جميع عزلات *P. aeruginosa* كانت مقاومة 100% لمضاد Imipenem . اما الباحثان (36) اثبتا ان عزلة *P. aeruginosa* المقاومة لمضادات Carbapenem تكون فاقدة لبورين oprD، بينما يحصل العكس في السلالة الحساسة لهذه المضادات. وان مستوى التعبير عن جين MexXY، الذي ينتمي إلى نظام الإفراز (الضخ) المتعدد -MexXY oprM، يزداد و بنسبة 102.5 أضعاف بالمقارنة مع السلالة الحساسة (37) وهذا يتفق مع نتائج اختبار حساسية المضادات في الدراسة الحالية وذلك لان اغلب العزلات كانت حساسة لمجموعة الأمينوكلايكوسيدات وبنفس الوقت حساسة لـ Imipenem وهذا ربما يدل عدم امتلاكها لجين الضخ MexXY- oprM او يتم التعبير عنه بشكل ضعيف حيث ان مقاومة مضادات الكاربابينيم carbapenem يكون بسبب انخفاض نفاذية الغشاء الخارجي (البورينات)، وزيادة انظمة الضخ، تغيير في البروتينات المرتبطة بالبنسلين، و الانزيمات المحللة للكاربينيم carbapenemase (38).

اما بالنسبة لمضادات الكينولونات، ومنها Ciprofloxacinفلقد بلغت نسبة حساسية جميع العزلات لهذا المضاد (92.6%) 50، بينما المقاومة (7.4%) 4 جدول (١) ، شكل (٥) وتقترب هذه النتائج مع ما توصل اليه الباحثين Kilian (and Lomholt 2003) حيث ذكروا ان مقاومة *P. aeruginosa* لمضاد Ciprofloxacin كانت (2.8%)3 من بين 106 عزلة، وبينوا ايضا ان مقاومة *P. aeruginosa* لمضاد Ciprofloxacin تكون نادرة. لقد وجد ان أدوية الفلوروكينولونات FQs تنشط نظام الضخ MexXY-OprM، مما يؤدي الى مقاومة *P. aeruginosa* لمضادات الكاربابينيمات (39.)

ولوحظ من نتائج الحساسية للدراسة الحالية ان 92.6 % من العزلات كانت حساسة لمضاد ciprofloxacin، و 98.1 حساسة لـ Imipenem جدول(١) وقد يدل ذلك على ان مضاد ciprofloxacin لم يحفز انظمة الضخ ومن ضمنها MexEF-OprN، الذي يشارك في مقاومة ciprofloxacin وبالتالي لم يؤثر على بورين oprD لامتصاص Imipenem فكانت جميع العزلات عدا واحدة من عزلات التربة مقاومة Imipenem .

وقد اكد ايضا ان الفلوروكينولونات تحفز التعبير عن انظمة الافراز excretion pump system مما يجعل البكتريا مقاومة لمضاد ciprofloxacin، والاخير يقلل من تعبير oprD2، مما يؤدي الى مقاومة.(40) Imipenem .

ومن مجموعة البنسلينات اليوريديا (piperacillin) وجد ان مقاومة البكتريا لهذا المضاد كانت بنسبة 30.8%، حيث سجلت اعلى نسبة مقاومة لعزلات الحروق والجروح شكل (٧) .

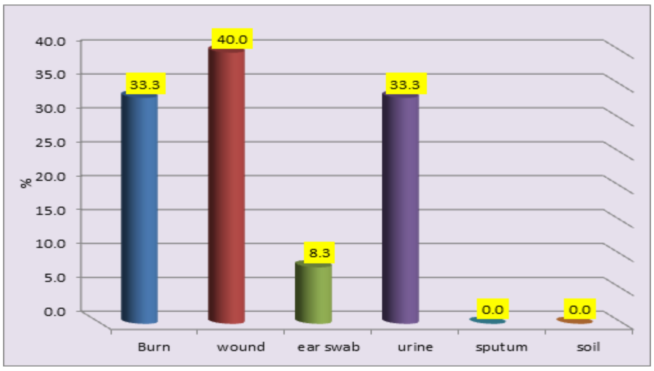
اما بالنسبة لمضاد Cefotaxime، وجد ان حساسية جميع العزلات لهذا المضاد كانت بنسبة 11.5% جدول (١) اي ان العزلات كانت تمتلك مقاومة عالية شكل (٦) وهذا يختلف مع نتائج (41) حيث بين ان مقاومة *P. aeruginosa* تكون قليلة لهذا المضاد وذكر بانه مضاد جيد ضد*P. aeruginosa* .

اظهرت جميع العزلات حساسية للكلورمفينيكول وبنسبة 86.5% جدول (١) و شكل (٨)، وتتفق هذه النتائج مع الدراسة التي قام بها الباحثان (42) اذ بينوا حساسية *P. aeruginosa* للكلورمفينكول. و بالنسبة لمضاد التتراسايكلين فقد كانت نسبة الحساسية لجميع العزلات 34.6% جدول (١) شكل (٩)، اي يمتلك مقاومة اعلى من ما توصل اليه (43) اذ بين ان نسبة المقاومة لهذا المضاد لعزلات *Pseudomonas spp* 67% .

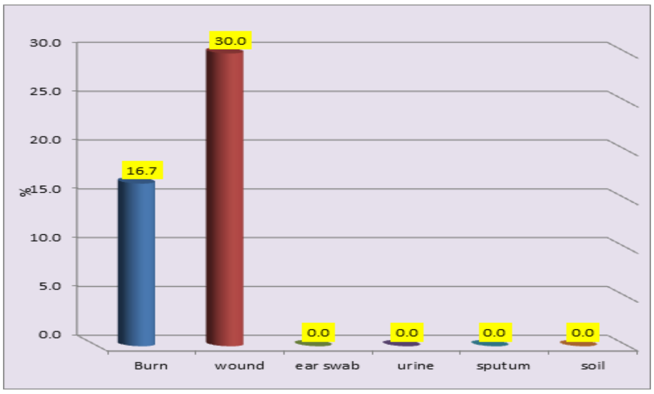
اما بالنسبة لمضاد Co-trimoxazole فان نسبة الحساسية لجميع العزلات 19.2% جدول (١) و شكل (10)، وهذه النتائج تتفق

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (JUAPS) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2015 ,(9), (3) :36-43

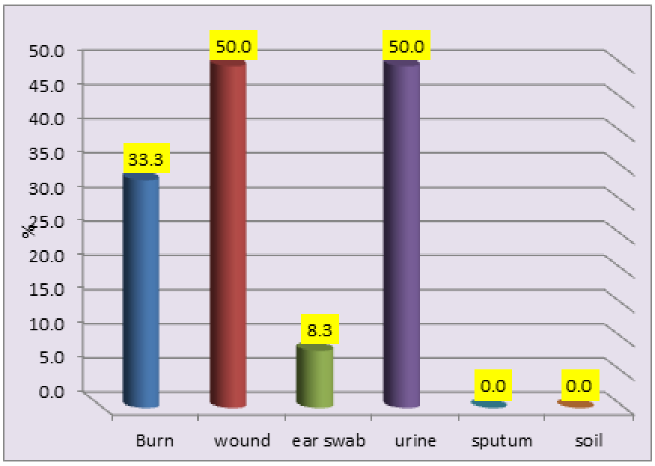
مع (15) حيث ذكر مقاومة *P. aeruginosa* لمضادات السلفوناميد Sulfonamides.



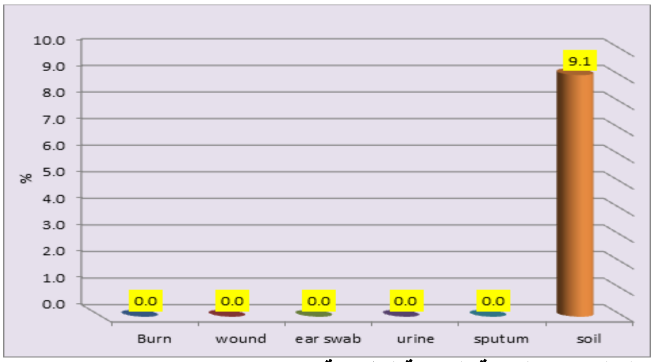
شكل (1): النسبة المئوية لمقاومة مضاد الجنتاميسين (GM) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp.*



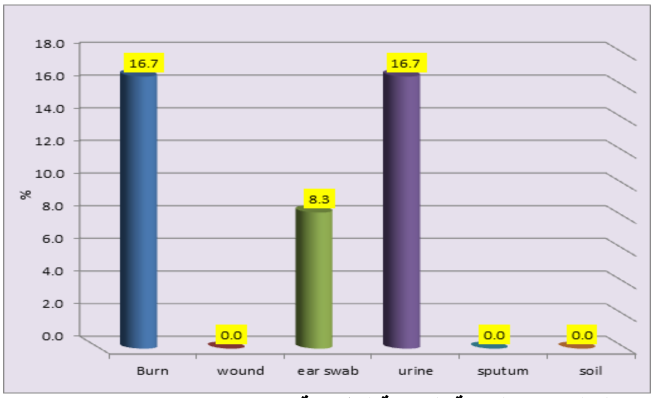
شكل (2): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Amikacin) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp.*



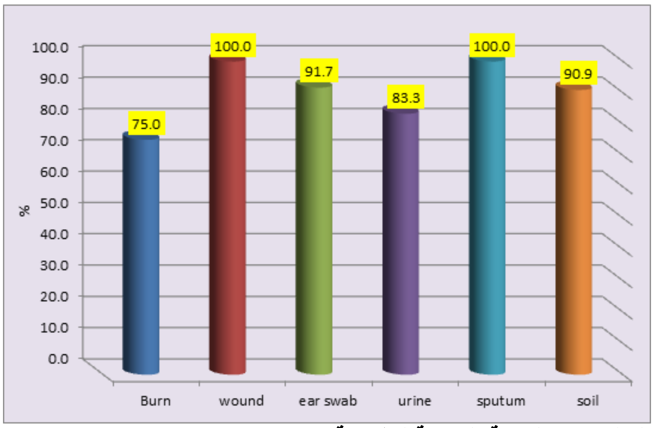
شكل (3): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Netilimicin) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*



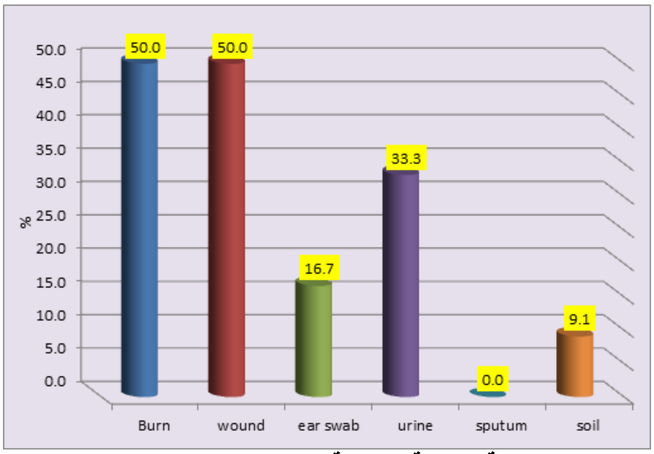
شكل (4): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Imipenem) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp.*



شكل (5): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (ciprofloxacin) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*

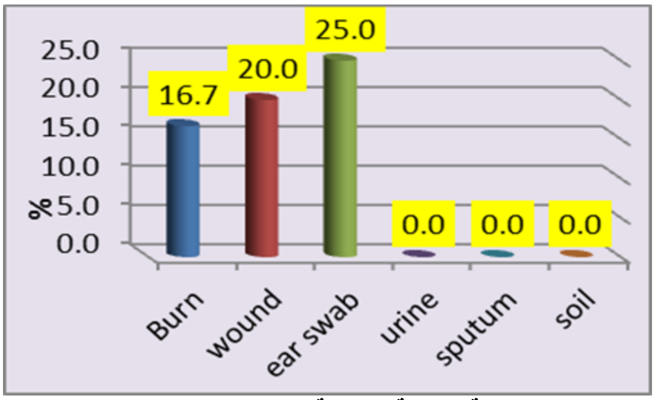


شكل (6): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Cefotaxime) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*

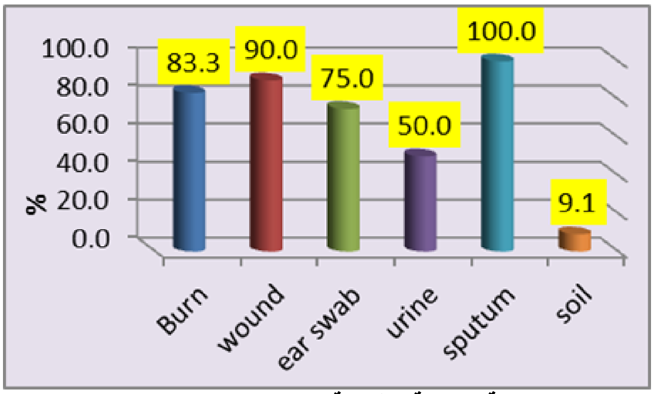


شكل (7): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (piperacillin) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*

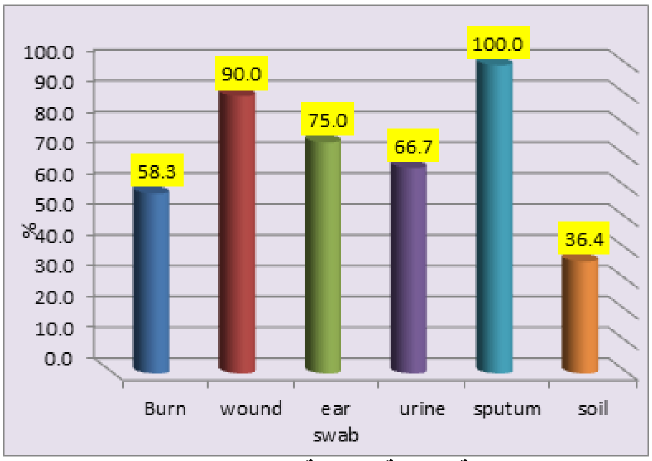
3. Moore E. R. B.; Tindall B. J.; Santos V. A. P. M. D; Pieper D.H.; Ramos J-L; Palleroni N.J.(2006). Nonmedical: Pseudomonas. Prokaryotes 6:646–703
4. Blanc, D. S.; Francioli, P. and Zanetti, G.(2007). Molecular Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa in the Intensive Care Units – A Review. The Open Microbiology Journal, 1, 8-11
5. Gershman M. D., et al. 2008. Multistate outbreak of Pseudomonas fluorescens bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy. Clin. Infect. Dis.47:1372–1379.
6. Woo, K-S; Choi, J-L; Kim, B-R; Kim, J-E; Kim, K-H; Kim, J-M; and Han, J-Y. (2014). Outbreak of Pseudomonas Oryzihabitans Pseudobacteremia Related to Contaminated Equipment in an Emergency Room of a Tertiary Hospital in Korea. Infect Chemother;46(1):42-44.
7. Pagès, Jean-Marie; James, Chloë E; and Winterhalter, Mathias. (2008).The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. naTuRE REvIEws | microbiology, vOl, 6. P: 893-903.
8. Sugawara, E.; Nagano, K.; and Nikaido, H.(2011). Alternative folding pathways of the major porin OprF of Pseudomonas aeruginosa. FEBS Journal 279, p: 910–918
9. James, C. E.; Mahendran, K. R.; Molitor, A.; Bolla, J-M.; Bessonov, A. N. et al. (2009). How β-Lactam Antibiotics Enter Bacteria: A Dialogue with the Porins. PLoS ONE 4(5): e5453.
10. Delcour, A. H.(2009). Outer membrane permeability and antibiotic resistance. Biochim Biophys Acta;1794(5):808-16.
11. Ferenci, T. and Phan, K.(2015). How Porin Heterogeneity and Trade-Offs Affect the Antibiotic Susceptibility of Gram-Negative Bacteria. Genes 2015, 6, 1113-1124
12. Nikaido, H. and Rosenberg, E. Y. (1983) Porin channels in Escherichia coli: studies with liposomes reconstituted from purified proteins. J Bacteriol;153:241–252.
13. Kobayashi, Y.; Takahashi, I.; and Nakae, T.(1982). Diffusion of beta-lactam antibiotics through liposome membranes containing purified porins. Antimicrob Agents Chemother;22:775–780.
14. Ochs MM, Bains M, Hancock REW. (2000). Role of putative loops 2 and 3 in imipenem passage through the specific porin OprD of Pseudomonas



شكل (8): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Cloramphenicol)
ومصادر عزلات *Pseudomonas sp*



شكل (9): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Tetracyclin) ومصادر
عزلات *Pseudomonas spp*



شكل (10): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Co-trimoxazole)
ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*

المصادر:

1. Ferguson,D.(2007). A study of clinical strains of Pseudomonas aeruginosa and the investigation of antibiotic resistance mechanisms in the multidrug resistant strain PA13. School of Biotechnology and National Institute for Cellular Biotechnology, Dublin City University, Dublin 9, Ireland
2. Franzetti L and Scarpellini M (2007). Characterisation of Pseudomonas spp. isolated from foods. Annals of Microbiology. 57(1): 39-47.

Time-resolved interaction of single antibiotic molecules with bacterial pores. PNAS _ vol. 99 _ no. 15 _ 9789–9794.

27. Terzi H. A.; Kulah C.; Atasoy A. R.; and Ciftci I. H.(2015). Investigation of OprD Porin Protein Levels in Carbapenem-Resistant Pseudomonas aeruginosa Isolates. Jundishapur J Microbiol. 8(12): e25952.
28. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. NCCLS: Wayne PA;2014. M2-A6.
29. Japoni A, Alborzi A, Kalani M, Nasiri J, Hayati M, Farshad S. (2006). Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against Pseudomonas aeruginosa isolated from burn patients in the South of Iran. Burns;32:343-7.
30. Tsakris A, Pournaras S, Woodford N, Palepou MF, Babini GS, Douboyas J, Livermore DM.(2000). Outbreak of infections caused by Pseudomonas aeruginosa producing VIM-1 carbapenemase in Greece. J Clin Microbiol, 38:1290-2.
31. Bertrand X, Thouverej M, Patry C, Balvay P, Talon D. (2001). P.aeruginosa: Antibiotic susceptibility and genotypic characterization of strains isolated in the intensive care unit. Clin Microbiol Infect;7:706-8.
32. Manikandan, C. and Amsath, A.(2013). Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from wound infection patients in Pattukkottai, Tamilnadu, India. Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci 2(6): 195-203
33. Karlowsky JA, Draghi DC. Jones ME, Thornsherry C, Friedland IR, Saham DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of P. aeruginosa and Acinetobacter baumannii from hospitalized patients in the United states, 1998 to 2001. Antimicrob Agents Chemother 2003;47:1681-8.
34. Rashid, H.; Zeb, M.; Jamal, Q.; Waqar, M ; Farooqi, B. J. and Majid, A.(2014). Frequency and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Pseudomonas aeruginosa in Ear Swabs. World Applied Sciences Journal 30 (7): 812-817.
35. Mansoor, T.; Musani, M. A.; Khalid, G. and Kamal, M. (2009). PSEUDOMONAS AERUGINOSA IN CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA: SENSITIVITY SPECTRUM AGAINST VARIOUS ANTIBIOTICS IN

aeruginosa. Antimicrob. Agents Chemother. 44:1983–1985.

15. Trias, J.; Dufresne, J.; Levesque, R. C. & Nikaido, H. (1989). Decreased outer membrane permeability in imipenem-resistant mutants of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother 33, 1202–1206.
16. Lambert, P. A.(2002). Mechanisms of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. Journal of the Royal Society of Medicine 95, Suppl.41, 22–6.
17. Morita, Y., Tomida, J., and Kawamura, Y. (2012). Primary mechanisms mediating aminoglycoside resistance in the multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa clinical isolate PA7. Microbiology 158, 1071-1083
18. Masi, M. and Pagès, J-M. (2013). Structure, Function and Regulation of Outer Membrane Proteins Involved in Drug Transport in Enterobactericeae: the OmpF/C – TolC Case. The Open Microbiology Journal , 7, (Suppl 1-M2) 22-33.
19. Atlas, R.M. (1995). Principles of microbiology. (1st ed.). Mosby Year Book, Inc., Boston, Pp :111-510.
20. MacFaddin, J. F.(2000). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Philadelphia:Lippincott Williams and Wilkins; 2000. p. 363-7
21. Vandpitte, J.; Engback, K.; Piot, P. and Heuck, C.C.(1991). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. WHO., Geneva., PP: 78-110.
22. Bhatawadekar, S. M.(2013). Community-Acquired urinary tract Jun; J- Glob Infect Dis. pseudomonasApr oryzihabitanS . infection by 5(2): 82–84.
23. Kodama et al., (1985) “Two New pecies of Pseudomonas: P. oryzihabitans Isolated from Rice Paddy and Clinical Specimens and P. luteola Isolated from Clinical pecimens,” Int J yst acteriol 35: 467-474
24. Shen, J. L.; Fang, Y. J.(2015). Detection of drug-resistance mechanism of Pseudomonas aeruginosa developing from a sensitive strain to a persister during carbapenem treatment. Genetics and Molecular Research 14 (2): 6723-6732.
25. Strateva, T and Yordanov, D. (2009). Pseudomonas aeruginosa - a phenomenon of bacterial resistance. J Med Microbiol. 58 (Pt 9):1133–48.
26. Nestorovich E. M.; Danelon C.; Winterhalter M.; and Bezrukov S. M.(2002). Designed to penetrate:

40. Askoura, M.; Mottawea, W.; Abujamel, T. and Taher, I. (2011). Efflux pump inhibitors (EPIs) as new antimicrobial agents against Pseudomonas aeruginosa . Liby. J. Med. 6(6):5870-5878.
41. Kim, J.Y.; Park, Y.J.; Kwon, H.J.; Han, K.; Kang, M.W. and Woo, G.J. (2008). Occurrence and mechanisms of amikacin resistance and its association with b-lactamases in Pseudomonas aeruginosa: a Korean nationwide study. J Antimicrob Chemother. 62:47983
42. Kotra LP, Haddad J, Mobashery S (2000) Aminoglycosides: perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. Antimicrob Agents Chemother 44: 3249–3256.
43. Taneja N, Chatterjee S.S, Singh M, Singh S, Sharma M. (2010) Paediatric urinary tract infections in a tertiary care center from north India. Indian J Med Sci.;131:101-5.
KARACHI. J Ayub Med Coll Abbottabad;21(2).p. 120-3.
36. Muluye, D.; Wondimeneh, Y.; Ferede, G.; Moges, F.; and Nega, T.(2013). Bacterial isolates and drug susceptibility patterns of ear discharge from patients with ear infection at Gondar University Hospital, Northwest Ethiopia. BMC Ear, Nose and Throat Disorders 13:10 Page 5.
37. Ahmad, S.(2013). Antibiotics in chronic suppurative otitis media: A bacteriologic study. Egyptian Journal of Ear, Nose, Throat and Allied Sciences 14, 191–194.
38. Adel, K.K. and Sabiha, S.S.(2010). Genetic Site Determination of Antibiotic Resistance Genes in Pseudomonas aeruginosa by Genetic Transformation. British Journal of Pharmacology and Toxicology 1(2): 85-89.
39. Nemat-Gorgani N .(2009). Detecting mutations related to antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa. Department of Biological Sciences, San Jose State University SJSU ScholarWorks.

Isolation and Identification of *Pseudomonas* from Soil and different cases and study of susceptibility to antibiotics

Ishraq A. Salih Muthana B. Farhan Ali H. Abdulkareem

E.mail:

85 samples were collected to investigate Pseudomonas sp. bacteria and study their resistance to antibiotics. The samples were included (18 specimen of wounds, 21 of burns, 23 specimen otitis media, 6 of urine tract infact, 3 of sputum) and soil samples . These cases were diagnosed using cultural and biochemical tests, the diagnosis was confirmed using the API 20E system. The results showed high isolation from burns and otitis media (23%) . The species was obtained Pseudomonas aeruginosa 49 (94.2%) followed by the bacteria Pseudomonas fluorescens 2 (3.8%), Pseudomonas oryzihabitans 1 (1.9%). Resistance of Pseudomonas sp. isolates to antibiotics were examined to 10 antibiotics, and isolates showed highest sensitivity to antibiotics Imipinem, Ciprofloxacin, Amikacin 98.1% and 92.3% and 90.4%, respectively. Isolates were showed high resistant (88.5%) to Cefotaxime .