Journal of College of Education for pure sciences(JCEPS)
Web Site: http://eps.utq.edu.iq/ Email: eps_tqr@yahoo.com
Volume 7, Number 2, May 2017

مقاومة بكتريا Klebsiella pneumoniae لبعض المضادات الحياتية والمعزولة من مستشفى مدينة الرميثة في محافظة المثنى

عبيـــــر محمـــــد علـــي جـــاسم

aliabeer297@gmail.com

كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة المثنى

الخلاصة:

جمعت تسعون عينة سريرية من مستشفى الرميثة العام في محافظة المثنى للفترة من آب إلى تشرين الأول 2016 , العينات كانت تتضمن 30 عينة إدرار و 30 مسحة جروح و7 مسحات من المهبل و 23عينة من الدم, وبعد أن أجريت عليها الفحوصات الز رعية والاختبارات الكيموحيوية لغرض تشخيص بكتريا Klebsiellapneumoniae , وبعد تشخيص هذه العزلات و التأكد منها اجري لها فحص الحساسية الدوائية تجاه 18 نوعاً من المضادات الحياتية و تبين أن 37 (41.1%)عزلة بكتيرية كانت مقاومة للسيفوكسيتين كانت موزعة على النحو التالي : 13(35.1%) عزلة من الإدرار , 10(27%) عزلة من الدم , 10(27%)عزلة من الجروح و 4(10.8%) من المهبل , ثم خضعت هذه العزلات المقاومة للسيفوكسيتين لاختبارات مظهرية مثل Modified three dimention test واختبار أقراص AmpC وكانت نتائج الاختبار ايجابية لجميع هذه العزلات 37(100%) , كما تم التحري عن أنزيمات البيتا لاكتاميز بواسطة تقنية PCR و وجد أن 30(33.3%) عزلة أظهرت تضخيم للمورث blaAmpCبعدها فحصت عزلات K. pneumoniae باستخدام تقنية Multiplex PCRأيضا لتحري عن blaACC و blaMox حيث وجد أن 14|30(46.7%) كانت حاملة للمورث blaMox و 2\30(6.7%) كانت حاملة للمورث blaACC , بينما العزلات المتبقية 14\30(46.7%) كانت محتوية على الهورثات الأخرى التابعة للAmpC مثل blaDHA و blaFox و blaEBC و blaCIT وكانت تتراوح نسبها كالتالي : 7(23.3%) , 4(13.3%), 1(3.3%) و 2(6.7%) على التوالي.

الكلمات المفتاحية : Klebsiella pneumoniae , blaACC , AmpCβ-lactamase

Journal of College of Education for pure sciences(JCEPS)
Web Site: http://eps.utq.edu.iq/ Email: eps_tqr@yahoo.com
Volume 7, Number 2, May 2017

Resistance *Klebsiella pneumoniae* bacteria for some antibiotics isolated from Al-Rumetha city Hospital in Al-Muthanaa Province

Abeer Mohameed ali
aliabeer297@gmail.com
College of Education for Pure Science , Department of Biology ,
University of Al-Muthanaa

Abstract :
In this current study, collected 90 clinical samples from general Al-Rumetha city Hospital in Al-Muthanaa Province during period from August to October 2016 , clinical samples were included;30 urine samples, 30 wound swaps , 7 vagina swaps and 23 blood samples, then subjected to cultural and biochemical tests for the purpose of diagnosisKlebsiella pneumoniae bacteria, and then tested against 18 antimicrobial agent and found that 37(41.1%) isolatewas resistant to cefoxitin as follows ; 13(35.1%) isolates from urine , 10(27%) isolates from blood, 10(27%) isolates from wounds and 4(10.8%) isolates from vagina , so as the cefoxitin resistance isolates subjected to Modified three dimention test and AmpC disk testas well as the previous two testes result were positive for all isolates37(100%) . It has also been investigating AmpC- β-lactamasesbyPCR technique , found that 30(33.3%) isolates showed that positive result for theblaAmpCgene after that the isolates examined by using Multiplex PCR technique for the detection of blaACCand blaMox genes . The results of Multiplex PCR were as follows ; 14(46.7%) isolate contained blaMox gene and 2(6.7%) isolate contained blaACC gene, While the remaining 14(46.7%) isolates containing other genes such as blaDHA,blaFox, blaEBCand blaCIT as follows ; 7(23.3%) , 4(13.3%), 1(3.3%) and 2(6.7%) respectively.

Keywords : Klebsiella pneumoniae , blaACC , AmpCβ-lactamase

1. المقدمة

بكتريا الكليبسيلا هي جنس تابع للعائلة المعوية ,عصوية سالبة لصبغة كرام غير مكونة للسبورات وغير متحركة , مكونة للمحفظة وهي تعتبر عامل مرضي انتهازي حيث لها القدرة على إحداثإصابات مختلفة مثل التهاب المجاري البولية UTI, تسمم الدم ,إصابات الجروح ,إصابة الجهاز التنفسي والإسهال وغيرها من الإصاباتالأخرى(Shubha(2002. ويعتبر العالم فريدلاندر هو أولمن عزل بكتريا Klebsiellapneumoniaeعام 1882 حيث تم عزلها من رئتين المرضى المتوفين بسبب ذات الرئة (1986Simoons- Smit.) من المعروف أن بكتريا الكليبسيلا هي من الأنواع البكتيرية المقاومة للمضادات الحياتية وتمتلك وسائل حماية مختلفة ضد أنواع كثيرة ومتنوعة من مضادات البيتا لاكتم مما زاد من فرص بقائها وصمودها ضد عمليات القضاء عليها ولهذا اعتبرت عامل ممرض شديد (2013Saeideet. al..)إن انتشار المقاومة للأدوية المتعددة بين البكتريا السالبة لصبغة كرام هي ازدادت بشكل ملحوظ في السنوات القليلة الماضية وخصوصا بعض السلالات المنتجة للأنزيم المحلل للامبيسيلين صنف C والذي يسمى بإنزيم AmpC والأنزيمالآخر هو أنزيم البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBL) (2009Jacoby)أن عمل أنزيمات البيتا لاكتاميزعادة مايكون مركزا على تحليل الأصرة بين ذرات الكاربون والنتروجين لحلقة البيتالاكتام، وتحويلها إلى مركبات غير فعاله (Mims et. al. (2004. ممكن أن تنتقل صفة إنتاج هذه الأنزيمات بين أنواع مختلفة من البكتريا عن طريق البلازميدات وهذا ما يجعل البكتريا مقاومة واشد امراضية Bagge et. al. (2004) ; Ma .et. al.(2005)

2.المواد وطرائق العمل :

2-1.جمع العيناتSamples collection :

جمعت تسعون عينة سريرية من مستشفى الرميثة العام في محافظة المثنى للفترة من آب إلى تشرين الأول 2016 , العينات كانت تتضمن 30 عينة إدرار و 30 مسحة جروح و7 مسحات من المهبل و 23عينة من الدم , زرعت العينات على وسط الماكونكي الصلب وحضنت بدرجة حرارة 37م^0 بعدها أجريت عليها الاختبارات الكيموحيوية طبقاً لما هو في (MacFaddin(2002 بعد ذلك أُكِدت بواسطة Kit (Bio-Mereix, France) Api-20E وحسب تعليمات الشركة المصنعة.

2-2. اختبار فحص الحساسية Antibiotic susceptibility test

اجري هذا الاختبار بطريقة انتشار الأقراص لكل من المضادات الحياتية التالية (الامبيسيلين µg25) , (اموكسيسيلين µg25) , (Amoxiclav µg30), (سيفترياكسون µg30) ,(سيفوتاكسيم µg30) , (سيفوكسيتين µg30), (سيفتازيديم µg30),(سيفيبيم µg30), (سيفيكسيم µg5),(كاربينسيلين100µg), (بيبراسيلين_تازوباكتام 10\100 µg) , (اميبينيم µg10),(ازتريونام µg30),(اميكاسين µg30),

(جنتامايسين 10µg), (سيبروفلوكساسين 5µg), (تتراسايكلين 30µg) ,(كوترايموكسازول 10µg), وفسرت النتائج بعد قياس أقطار التثبيط بالمسطرة وقورنت مع النسب القياسية المذكورة في CLSI (2010),العزلات التي أظهرت مقاومة للسيفوكسيتين اعتبرت أنها منتجة لأنزيمات(AmpC β-lactamase 2003) Coudron .

2-3.التحري عن إنتاج أنزيماتAmpC بيتا لاكتاميز

2-3-1.اختبارModified three dimention test

أنجز هذا الاختبار في المختبر طبقا لما جاء به Manchanda and Singh(2003) و (Parveenetal.2010)حيث زرعت البكتريا على أطباق مولر هنتوناكاروحضنت لمدة 24 ساعة بعد ذلك نقل النمو البكتيري الحديث النمو إلى Eppendorf tube حيث قيس وزنها قبل وبعد نقل النمو البكتيري لمعرفة وزن النمو المنقول ولغرض الحصول على وزن (10-15) ملغرام منه .عُلّقت الكتلة البكتيرية بماء الببتون ودُورت بواسطة المنبذه بقوة 300 دورة / دقيقه لمدة 15دقيقة، حضر المستخلص الإنزيمي بواسطة الإذابة والتجميد (Freezing-thawing) 10مرات،ثم زرعت بكتريا E. coli القياسية (ATCC 25922) على أطباق مولر هنتون اكار و وضع قرصالسيفوكسيتين في مركز الطبق ثم عملت شقوق بشكل خطوط مستقيمة بطول 3سم على سطح الوسط الصلب وعلى بعد 3ملم من قرص السيفوكسيتينكما تم عمل حفرة بنهاية كل شق وقد وضع حوالي 30مايكروليتر من الإنزيم المستخلص في داخل كل حفرة وكل عزله على حدة. بعد ذلك حضنت الأطباق بدرجة 37 م ولمدة 24 ساعة . واعتبرت العزلات منتجة لأنزيم AmpC إذا أظهرت اختزالا واضحا في منطقة التثبيط حول قرص السيفوكسيتين أما العزلات التي لم تظهر اختزالا واضحا في منطقة التثبيط فقد اعتبرت غير منتجة للأنزيمات .

2-3-2.إختبار AmpC disk test

اجري هذا الاختبار طبقاً لما جاء به Parveenet al.(2010) و(2009) .Basaket al وذلك لمعرفة فيما إذا كان الأنزيم بلازميدي المنشا او غير ذلك حيث اختبرت جميع العزلات التي أعطت النتيجة الايجابية بطريقة Modified three dimention حيث زرعت بكتريا E.coli ATCC2522 على أطباق حاوية على وسط مولر هنتون اكار وبعد ذلك أخذتأقراص معقمة 6ملم من ورق الترشيح ثم رطبت بالمحلول الملحي الفسلجي 20 مايكروليتر ولقحت هذه الأقراص بالعزلات البكتيرية المراد اختبارها , بعد ذلك وضعت هذه الأقراص على سطح الوسط الصلب بجانب قرص السيفوكسيتين وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة 24ساعة, أن ظهور الانحراف في منطقة التثبيط بالقرب من القرص الملقح بالبكتريا قيد الدراسة هو معيار للنتيجة الموجبة أما فيما عداها فهي نتيجة سلبية للاختبار .

2-4. التحري الجزيئي عن AmpCβ -lactamase

2-4-1.عزل DNA من البكتريا :

تم عزل DNA بواسطة كت استخلاص Genomic DNA Mini Kit واتبعت حسب تعليمات الشركة المصنعة المذكورة (Geneaid, korea).

2-4-2.التحري عن مورثاتblaACC و blaMox

استخدمت تقنية Multiplex PCR لتحري عن المورثين blaACC و blaMox وباستخدام بادئات خاصة جدول رقم (1) , وحُضر مزيج PCR حسب ما جاء في تعليمات الشركة المصنعة (Bioneer, korea)

حيث أن حجم خليط تفاعل Polymerase Chain Reactions يتكون من µl 20 الحجم الكلي ويتكون من 5µl مستخلص DNA القالب و µl 5لل AccuPower ® PCR PreMixلشركة (Bioneer) و10µl/ pico لكل باديء, وقد تم نبذ مكونات المزيج في جهاز الطرد المركزي لمدة 5 ثواني وبعدها وضع مزيج سلسلة تفاعل أنزيم البلمرة في جهاز PCR بعد ضبط ظروف سلسلة تفاعل أنزيم البلمرة من درجات الحرارة وعدد الدورات جدول رقم (2) .

جدول(1): يبين بادئات DNA المستخدمة في التحري عن المورثين blaACC و blaMoxفي بكتريا K. pneumonia

Primers name	Gene	Oligosequence (5′-3′)	Product size (bp)
ACC-F ACC-R	blaACC	F:AAC AGC CTC AGC AGC CGG TTA R: TTC GCC GCA ATC ATC CCT AGC	346
MOX-F MOX-R	blaMOX	F:GCT GCT CAA GGA GCA CAG GAT R: CAC ATT GAC ATA GGT GTG GTG C	520
Refrence: Perez-Perez and Hnson (2002)			

جدول(2): يبين الظروف المستخدمة في جهاز PCR

عدد الدورات	درجة الحرارة (سليزية / الوقت)					
	شروط الدورات					
	الاستطالة النهائية	الاستطالة	التثبيت	المسخ	المسخ الاولي	اسم الجين
25	5/72دقيقة	1/72دقيقة	30/61ثانية	95/ثانية	2/95دقيقة	blaACC
25	5/72دقيقة	1/72دقيقة	30/61ثانية	95/ثانية	2/95دقيقة	blaMOX

3.النتائج

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن 37(41.1%) كانت عزلات K. pneumonia من مجموع العزلات السريرية الكلية والبالغ عددها 90 عزلة كانت مقاومة للمضاد الحيوي السيفوكستين بعد أن تم فحص جميع هذه العزلات باستخدام قرص السيفوكستين لمعرفة السلالات المقاومة, وقد اعتبرت هذه السلالات المقاومة للسيفوكستين بأنها منتجة لأنزيم AmpC β –lactamase وكانت موزعة بالشكل التالي : 13(35.1%) من

الإدرار , 10(27%) من الدم , 10(27%) من الجروح , 4(10.8%) من المهبل وكما موضح في جدول رقم (3) . أن جميع هذه العزلات37عزلة K. pneumonia كانت مقاومة للسيفوكسيتين والتي افترض مختبرياً أنها منتجة لأنزيمات AmpC β –lactamase اجري عليها اختبارات تأكيدية مثل اختبار Modified three dimensional test و اختبار أقراص AmpC قد أظهرت أن هنالك انحراف واضح بقطر التثبيط تجاه قرص السيفوكسيتين قد لوحظ في جميع العزلات التي اجري عليها الاختبارين والتي كانت جميعها مقاومة للسيفوكسيتين

.

جدول(3): توزيع عزلات K. pneumonia المقاومة للسيفوكسيتين بين العزلات السريرية المختلفة

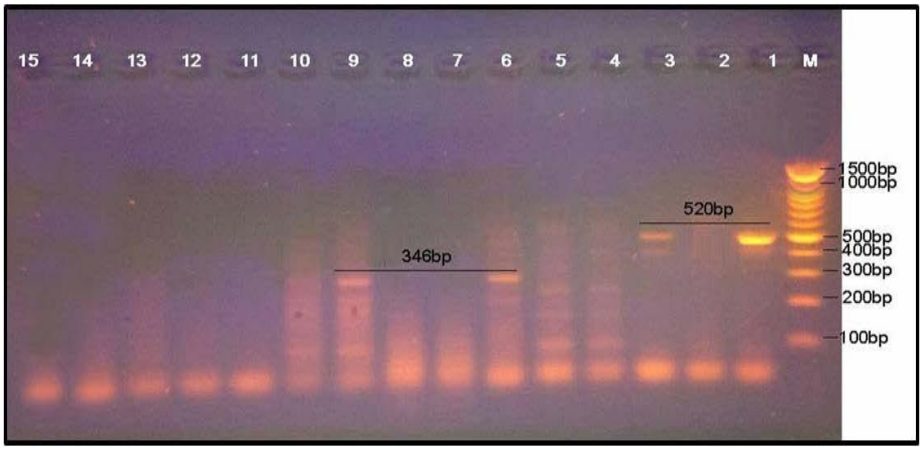
Sample	No. of observed cells	No. of expected cells	Residual	Test statistics		
				Chi-Square	df	Asym.Sig
Urine	13	9.3	3.8	4.622[a]	3	.202
Blood	10	9.3	.8			
Wounds	10	9.3	.8			
Other	4	9.3	-5.3			
Total	37					
Positive	**No. of observed cells**	**No. of expected cells**	**Residual**			
Positive	37	37.0	.0			
Total	37[b]					

a - هو المتغير الثابت , b - القيمة المتوقعة للاحتمالية $P \leq 0.05$,القيمة الاصغر والمتوقعة للتكرار هي 9.3

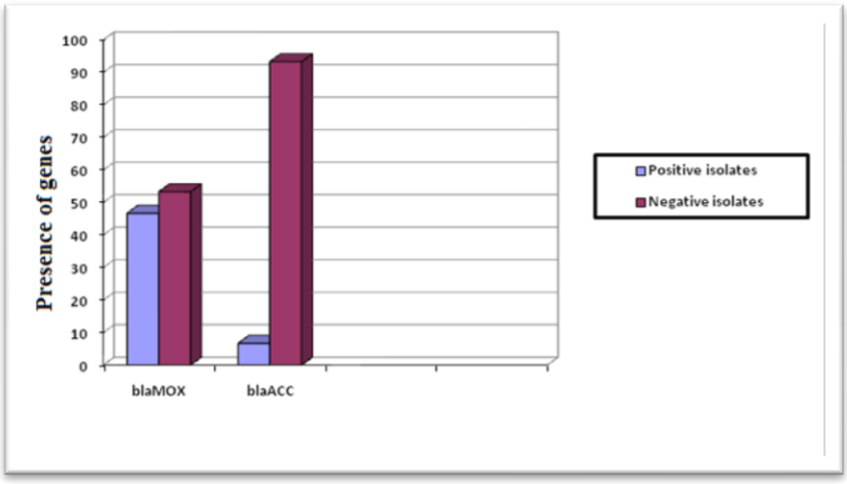
أما بالنسبة للتحري الجزيئي عن مورثات AmpCالبلازميدية المنشا فقد استخدمت تقنية PCR لتحري عن المورث blaAmpC في جميع العزلات السريرية والبالغ عددها 90 عزلة باستخدام بادئات خاصة , حيث وجد أن 30(33.33%) عزلة K. pneumoniae من بين 90 عزلة كانت حاملة لمورث AmpC العام , بعدها فحصت عزلات K. pneumoniae باستخدام تقنية Multiplex PCRأيضا لتحري عن blaACC و blaMox حيث وجد أن 14|30(46.7%) كانت حاملة للمورث blaMox و 2\30(6.7%) كانت حاملة للمورث blaACC حسب ما موضح في شكل رقم (1) و شكل رقم (2) , بينما العزلات المتبقية 14\30(46.7%) كانت محتوية على المورثاتالأخرى التابعة AmpC مثل blaDHA و blaFox و blaEBC و blaCIT وكانت تتراوح نسبها كالتالي : 7(23.3%) , 4(13.3%), 1(3.3%) و 2(6.7%) على التوالي , علما أن جميع هذه العزلات كانت مقاومة (100%) لكل من المضادات الحياتية التالية :

الامبيسيلين,الاموكسيسيلين,الكاربينسيلين,البيبراسيلين + تازوبيكتم ,الاجمنتين بالإضافة إلى ذلك , فان مقاومة

العزلات تجاه كل من جنتمايسين,الاميكاسيزو كوتريموكسازولكانت (88.9%) أما بالنسبة للعزلات المقاومة للمضاد الحيوي تتراسايكلين فكانت (86.7%) والمقاومة للمضاد الحيوي اميبينيم فكانت (4.4%) .



شكل (1) : الترحيل الكهربائي لمورث blaMox و blaAcc المتضاعف باستخدام تقنية PCR المتعدد لعزلات بكتريا K. pneumonia حيث المسار (M) هوDNA lader و المسار (1و3) يمثل عزلات الكليبسيلا التي أظهرت نتائج ايجابية للمورث blaMox (520 bp) أما المسار (6و9) يمثل عزلاتالكليبسيلا التي اظهرت نتائج ايجابية للمورث blaAcc (346bp) , أما بقية المسارات فتمثل العزلات التي أظهرت نتائج سلبية لكلا المورثين blaMox و blaAcc .



شكل (2) : توضح تواجد مورثات blaMox و blaAcc بين عزلاتK. pneumonia المقاومة للمضادات الحياتية و التي اظهرت نتائج ايجابية للمورث blaAmpC بواسطة تقنية PCR (n= 30).

4. المناقشة :

أن مورثات AmpCβ-lactamase البلازميدية المنشا هي واحدة من أكثر الأسباب المهمة التي أدت إلى شيوع السلالات المقاومة بمختلف أنحاء العالم في السنوات العشرة الماضية حيث أصبحت هذه السلالات مقاومة لكثير من المضادات الحياتية و هذا الأمر يولد مشكلة حقيقية لكونه يؤدي إلى اختزال فرص نجاح الخيارات العلاجية الفعالة(2009) et. al.. Li في العراق خصوصاً العديد من المختبرات السريرية لا يدركون

أهمية مورثاتAmpCβ-lactamase ولا كيفية التحري عنها مختبريا بالإضافةإلى افتقار المختبرات إلى العديد من المستلزمات الأساسية للحد من هذه المقاومة مماينتج عنها فشل المعالجة بالمضادات الحياتية وخصوصا المرضى الذين تلقوا مضادات حياتية غير مناسبة و شيوع السلالات المقاومة للأدوية المتعددة و تفشي مسببات الأمراض السالبة لصبغة كرام التي تتطلب جهود سيطرة مكلفة.

دراسات سابقة في كل من مدينتي النجف والحلة خلال الفترة من 2009الى 2010 أظهرت زيادة في المقاومة للسيفوكسيتين لدى كل من المسببات المرضية التالية : K. pneumonia,E.coli,P. aeruginosa;Al-Hilli(2010); Al-Muhannak(2010)andBelal(2010) Al-Hilali)2010).ففي هذه الدراسة استخدمت اختبارات مظهرية ذات دقة شديدة في الكشف عن أنزيمات AmpC مثل اختبار الأبعاد الثلاثة المحور MTDT واختبار أقراص AmpC حيث أن هذين الاختبارين من الممكن أن يعطيا نتيجة ايجابية كاذبة لكن من غير الممكن أن يعطيا نتيجة سالبة كاذبة كما أشار إليها Codron and Moland (2000),حيث اختبرت قابلية 37 عزلة K. pneumoniae المقاومة للسيفوكسيتين على إنتاج أنزيمات AmpCβ-lactamase بواسطة هذين الاختبارين وظهرت النتائج أن قابلية هذه العزلات (100%) على إنتاج أنزيمات AmpC,أن نتائج هذه الدراسة مماثلة لدراسة أخرى أجريت من قبل AdelandEl-Hady(2015) حيث وجد أن 50(33.8%) من عزلات K. pneumoniae و E. coli المقاومة للسيفوكسيتين كانت منتجة لأنزيمات AmpC بواسطة كل من اختبار الأبعاد الثلاثة المحور واختبار أقراص AmpC .

دراسة أخرى أجريت من قبل الباحث Al-Shamarti (2010) حيث وجد أن 9 (20.9%) من بين 43عزلة Klebsiella Sp. كانت منتجة لأنزيمات AmpC بواسطة هذين الاختبارين, ومن سلبيات هذه الاختبارات المظهرية أنها لا تميز بين النتيجة الموجبة الناتجة عن أنزيمات AmpCالبلازميدية المنشا وأنزيماتAmpCالكروموسومية المنشا (Black et al (2005. كما استخدمت في الدراسة الحالية تقنية PCR المتعدد لغرض معرفة العائلة المحددة ضمن مورثات AmpCβ-lactamase في جميع العزلات السريرية والبالغ عددها 90 عزلة , حيث وجد أن 30(33.3%) فقط من العزلات الكلية كانت حاملة لمورثات AmpCβ-lactamaseالبلازميدية , وجميع هذه العزلات كانت مقاومة للمضاد الحيوي السيفوكسيتين وشخصت على أنها منتجة لأنزيمات AmpCβ-lactamase بواسطة الاختبارات المظهرية , وهذا يعتبر أول تقرير يبين الكشف عنK.pneumoniae المخبأة لمورث blaAmpC في مدينة السماوة , هذه الدراسة مشابهة إلى دراسة أخرىأجريت في مدينة النجف من قبل الباحث Al-Sehlawi(2012)حيث وجد (27.4%) من عزلاتK.pneumoniae كانت حاوية علىالمورث blaAmpC . كما اشار الباحث Brenwaldet al.(2005) ان 60 عزلة من بكتريا Ecoli و K.pneumonia كانت مقاومة للسيفوكسيتين فقط 14(23.3%) عزلة كانت حاملة لمورث blaAmpC.

دراسة أخرى في الصين أظهرت أن معدل شيوع مورثات AmpCβ-lactamase البلازميدية كان (10.1%) في عزلاتK. pneumoniae(Ding(2008 .et. al, من المعروف أن المورث المشفر لأنزيمات AmpCβ-lactamase يوجد عادة على كروموسومات العديد من البكتريا التابعة للعائلة المعوية وهذا المورث نفسه انتقل من الكروموسومات إلى بلازميدات العديد من البكتريا التي تفتقر لهذا النوع من المورثات التي تشفر أنزيمات البيتا والتابعة لنفس العائلة المعوية مثل K.pneumonia و Salmonella spp. و P.mirabilis مما

يكسبها المقاومة للعديد من المضادات الحياتية ذكر الباحث Paiet al. (2004) أن (50 %) من عزلات K.pneumonia اكتسبت المقاومة للسيفوكسيتين بواسطة مورثات blaAmpC البلازميدية المتحركة .

الدراسة الحالية وضحت أيضا أن العزلات المتبقية (18.9%) المقاومة للسيفوكسيتين والتي أعطت نتيجة موجبة لكل من الاختبارين MTDT و اختبار أقراص AmpCكانت غير حاملة لمورث blaAmpC ويعزى سبب مقاومتها للسيفوكسيتين إلى اختزال نفوذية الغشاء الخارجي بسبب الطفرات التي تحدث على المورث المشفرلمسامات الغشاء الخارجي مما يؤدي إلى فقدان او اختزال هذه المسامات وزيادة المقاومة للسيفوكسيتين Black et al.(2005), أيضا من أسباب المقاومة للسيفوكسيتين الأخرى هو إنتاج أنزيمات من نوع آخر مثل أنزيمات الكاربابينيميز وأنواع جديدة من صنف A بيتا لاكتاميز و أنزيمات الطيف الواسع Jacoby(ESBLs(2009و Corvece (2010).

و هذه تعد مشكلة خطيرة بسبب انتشار المسببات المرضية المقاومة للأدوية المتعددة في بعض مستشفيات مدينة السماوةمما يؤدي إلى أخطاء تشخيصية واحتمال فشل العلاجات المتوفرة. أن نتائج الدراسة الحالية بينت أيضا بواسطة تقنية PCR المتعدد أن 14(46.7%) فقط من بين 30 عزلة أعطت نتائج تضخيم للمورثblaMox وكما موضح في شكلرقم (1) , أنأنزيم Mox سُجِلَ بشكل رئيسي وبنسب عالية في اليابان وفرنسا غير أن مصدره غير معروف ويتضمن عدة أنواع منها-Mox-1,Mox-2,CMY-1,CMY-8,CMY (11) وسمي هذا الأنزيمMox نسبة إلى مقاومته إلى المضاد الحياتي (موكسالاكتم)Jacoby(2004) , علما أن المورث blaMox في هذه الدراسة كان هو السائد في التواجد بين عزلاتالكليبسيلا , كما أشارت الدراسة الحالية أن2 (6.7 %) عزلاتأعطت نتائج تضخيم للمورث blaACC وكما موضح في شكل رقم (1) و شكل رقم (2) .

دراسة أخرى قام بها الباحث Parveenet al.(2012)وجد أن المورثين DHA و CIT هما الأكثر سيادة بين عزلات K. pneumonia يليها المورثين Mox و ACC , أما بالنسبة لنتائج Cocks and Vaughan (2009)وجد عزلة واحدة فقط (1.8%) من بين 57عزلة كانت حاملة للمورث ACC , دراسة أخرىأجريت في مصر أظهرتأن المورث blaMoxكان هو الأكثر سيادة بين كل العزلات البكتيرية المعوية المدروسة يليها المورث blaCITand Adel (2015) El-Hady, كما أشارت دراسة أخرى في العراق أجريت من قبل الباحث Al-Sehlawi(2012)أن جميع عزلات الكليبسيلا المدروسة لم تعطي ناتج تضخيم للمورث blaMox وهذا يدل على أن نسبة انتشار المورثات التي تمنح المقاومة للمضادات الحياتية تختلف من بلد إلىأخر ومن مؤسسة صحية إلى أخرى Fang et al.(2008)، وبناءا على هذه النتائج نحذر من الحالات الوبائية في المناطق الجغرافية المحلية بواسطة مورثات AmpCالبلازميدية بين عزلات K. pneumoniae, حيث من الممكن أن هذه المسببات المرضية التي تنتج أنزيمات البيتا لاكتم يمكنها أن تنتشر بسرعة فائقة بين أفراد المجتمع بسبب اخذ المضادات الحياتية دون وصفة طبية واستعمالها بشكل خاطئ,على الرغم من عدم وجود معلومات كافية حول نسب انتشار أنزيمات AmpC البيتا لاكتاميز في مستشفيات محافظة المثنى , حيث تعتبر هذه الدراسة هي أول دراسة حول نسب انتشار هذه المورثات التي تمنح المقاومة للمضادات الحياتية .

5.المصادر:

1-Al-Hilali,S.A.M.(2010).Occurrence and molecular characterization of enteropathogenic E.coli serotypes isolated from children wirhdiahrraeain Najaf.M.Sc. Thesis. College of Medecine. Kufa University.

2- **Al-Hilli**, Z.B. (2010). Dissemination of β-lactamases in Escherichia coli and Klebsiella spp. isolated from Merjan teaching hospital in Hilla City. M.Sc. Thesis. Kufa University,College of Science.

3-Al-Muhannak,F.H.N.(2010).Spreadofsomeextended-spectrumbeta-lactamases inclinicalisolates of Gram-Negative bacilliin Najaf. M.Sc.thesis. College of Medicen.Kufa University.

4- Al-Sehlawi, Z.S. (2012). Occurrenceand Characterization of AmpCβ – Lactamasesin Klebsiell apneumoniae Isolated from Some Medical Centers in Najaf . Ph.D.thesis. College of Science, Babylon University.

5-Al-shamarti, M.J. and Al-Mohana, A. Sh. J. (2010). Molecular Evaluation of β-lactam Resistance Genes in Klebsiella spp. Isolated from Clinical Cases in Al-Najaf Province . M.Sc. Thesis. College of Medicine. Kufa University.

6- Bagge, N.; Hentzer, M.; Andersen, J.B.; Ciofu, O.; Givskov, M. and Hoiby, N. (2004). Dynamics and spatial distribution of β-lactamase expression in Pseudomonas aeruginosabiofilme. Antimicrobial Agents and Chemotherapy. 48(4):1168-1174.

7- Basak, S.; Khodke, M.; Bose, S. and Mallick, S.K. (2009). Inducible AmpC β- lactamase producing Pseudomonas aeruginosa isolates in arural hospital of central India. J. of Clin. and Dia. Res., **3**:1921-1927.

8-Belal, E.J.K.(2010).Investigation of some β-lactamasesin clinicalisolates of Pseudomonas aeruginosa in Najaf City. University of Kufa College of Education for Girls.

9- Black,J.A.;Moland,E.S.andThomson,K.S.(2005).AmpCdisctestfordetection of plasmid-mediated AmpCβ-lactamases in Enterobacteriaceae lacking chromosomal AmpCβ-lactamases .J.Clin.Microbiol.,**43**(7):3110-3113.

10-Brenwald,N.P.;Jevons,G.;Andrews, J.;Ang,L.and Fraise,A.P.(2005).Disc methods for detecting AmpC β-lactamase-producing clinical isolates of Escherichiacoli and Klebsiellapneumoniae .J.ofAntimicrob.Chemother.,**10**:600.

11- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2010).Performance Standers for Antimicrobial Susceptibility Testing ; 20th Informational Supplement. Approved standard M07-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pa.

12- Cocks,S.and Vaughan**,**C.(2009).First Validation of D69CMastDisksAmpC Detection Discs. www.mastgrp.com.

13- Corvec,S.;Crémet,L.;Leprince,C.;Dauvergne,S.; Reynaud,A.;Lepelletier,D.and Caroff,N. (2010).Epidemiology of Escherichia coli clinical iso latesproducing AmpCplasmidicβ-lactamase duringa 5-yearperiodin aFrench teaching Hospital.Diagn.Microbiol.Infect.Dis.,**67**:277-286.

14- Coudron, P. E.; Moland, E. S.and Thomson, K. S. (2000). "occurrence and detection of AmpC Beta - lactamases among Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, and Proteus mirabilis isolates at a veterans medical center." J ClinMicrobiol**38**: 1791-1796.

15- Coudron, P.E.; Hanson, N.D. and Climo, M.W. (2003). Occurrence of Extended-Spectrum and AmpC β-Lactamases in Blood stream Isolates of Klebsiellapneumoniae: Isolates Harbor Plasmid-Mediated FOX-5 and ACT-1 AmpC β- Lactamases. J. Clin. Microbiol., **41**:772–777.

16- Ding, H.;yang , y.; Lu, Q.;Wang, y.; Chen , y.; Deng, L. (2008) .The prevalence of plasmid-mediated AmpC β-lactamases among clinical isolates of E.coli and K. pneumoniaefrom five children's hospitals in China. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., **27** :915-21.

17- El-Hady, S. A. and Adel, L. A. (2015). Occurrence and detection of AmpC b-lactamases among Enterobacteriaceae isolates from patients at Ain Shams University Hospital . The Egyptian J. of medical Human genetics **16**: 239- 244.

18- Fang D, Xi-wei X, Wen-qi S, Ping, L, Sang-jie Y, Yong-hong Y, Xu-zhuang S. (2008). Characterization of multi drug resistant and metallo beta lactamase-producing Pseudomonas aeruginosa isolates from peadiatric clinic in china. Chinese Medical Journal. **121**(17): 1611-1616.

19- Jacoby, G. A. (2009). AmpC β-lactamases. Clin. Microbial. Rev., **22**:161- 182.

23-Li,J-B.;Cheng,J.;Yin,J.;Zhang,X-N.;Gao,F.;Zhu,Y-L.andZhangX-J.(2009).Progress onAmpC β-lactamases current.Bioinformatics**,4**:218-225.

20- Ma, L.; Alba, J.; Chang, F.; Ishiguro, M.; Yamaguchi, K.; Siu, L.K. and Ishii, Y. (2005). Novel SHV-derived extended spectrum β-lactamase, SHV-57, that confers resistance to ceftazidime but not cefazolin. Antimicrob Agents Chemother. 49(2):600-605.

21- MacFaddin, J.F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA.

22- Manchanda, V. and Singh, N.P. (2003). Occurrence and detection of AmpC β-lactamases among Gram-negative clinical isolates using a modified three-dimensional test at Guru Tegh Bahadur Hospital, Delhi. India. J. Antimicrob., **51**: 415-418.

23- Mims, C.; Dockrell , H.M.; Goering, R.V.; Roitt, I.; Wakelin, D. and Zuckerman, M. (2004). Medical Microbiol., 3rd ed. Mosby of Elsevier limited .

24- Pai,H.; Kang,C.I.;Byeon, J.H.;Lee,K.D.;Park,W.B.andKim,H.B.(2004). Epidemiology and clinical features of blood stream infectionscaused by AmpC-type-beta-lactamase-producing Klebsiellapneumoniae.J.Antimicrob.AgentsChemother.,**48**:3720-3728.

25-Parveen,M.R.; Harish,B.N. and Parija,S.C.(2010).AmpCβ-lactamaseamong Gram-negative clinical isolatesfromAtertiaryhospital,SouthIndia.Brazilian J. ofMicrobiol.,**41**:596-602.

26-Parveen, R.M.; Harish, B.N.; Parija, S.C. (2012). Molecular description of plasmid mediated AmpC β-lactamases among nosocomial isolates of Escherichia coli&Klebsiellapneumoniae from six different hospitals in Indian. J. Med. Res. **135**:114-119.

27- Perez-Perez, F. J. and Hanson, N. D. (2002). Detection of plasmid-mediated AmpC βlactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. J. Clin. Microbiol. **40**(6):2153–2162.

28- Saeide, S.; Alavi-Naini, R.; Shayan, S.(2013). Antimicrobial Susceptibility and distribution of TEM and CTX-M genes among ESBL-producing Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa Causing Urinary Tract Infections. ZJRMS., **16** : 1-5 .

29- Shubha, A. and Lamiaa, S.A.(2002).Extended spectrum beta lactamases (ESBL)mediated resistance to third generationcephalosporines among Klebsiellapneumoniae in Chennai. Indian J. ofMed. Microbiol., **20** :92-95.

30 -Simoons- Smit , A.M.(1986). Typing , virulence, and epidemiology of Klebsiellaspecies. Free university press. Amsterdam. pp. 155.

31- Fang D, Xi-wei X, Wen-qi S, Ping, L, Sang-jie Y, Yong-hong Y, Xu-zhuang S. (2008). Characterization of multi drug resistant and metallo beta lactamase-producing

Pseudomonas aeruginosa isolates from peadiatric clinic in china. Chinese Medical Journal. **121**(17): 1611-1616.