

تردد المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية بين السلالات المرضية لجرثومة  
*Legionella pneumophila* المعزولة محليا من ابراج التبريد<sup>+</sup>  
**Incidence of multiple antibiotic resistance among strains of pathogenic  
*Legionella pneumophila* isolated from cooling towers**

علياء محمد هادي \*\*

د.جندي علك مهدي البوهلال \*

**المستخلص:**

تم عزل وتشخيص 110 عزلة لجرثومة *Legionella pneumophila* وتم اجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية ل 110 عزلة محلية لجرثومة *Legionella pneumophila* المعزولة محليا من ابرج التبريد والتي تسبب امراض للجهاز التنفسي .

كانت اعلى نسبة لحساسية العزلات للمضاد الحيوي كالاتي . كانت تجاه المضاد الحيوي Chloramphenicol وبنسبة ( 96.3% ) وكذلك للمضاد الحيوي Rifampin وبنسبة ( 96.3% ) ايضا . واقل نسبة للحساسية كانت اتجاه المضاد الحيوي Polymaxin B وبنسبة ( 14.5% ) يليه المضاد الحيوي Cephalothin بنسبة ( 18.1% ) ، كانت جميع العزلات المحلية مقاومة وبنسبة 100% لخمس انواع او اكثر من المضادات الحيوية .

**Abstract:**

110 isolates were isolated and identified as *Legionella pneumophila*. Antibiotics sensitivity was done to 110 isolates of pathogenic *Legionella pneumophila* isolates from cooling towers which cause respiratory diseases.

The highest percentage sensitivity of isolates was to Chloramphenicol (96.3%) and the Rifampin (96.3%) . while the lowest percentage sensitivity to Polymaxin B (14.5%) and Cephalothin (18.1%). All above local isolates were resistant (100%) to 5 or more antibiotics .

**المقدمة:**

الجهاز التنفسي في الانسان معرض للاصابة ببعض الامراض نتيجة لاستنشاق الهواء الملوث والحاوي على الجراثيم وما ينتج عنها من ذيفانات ، وخاصة الهواء الخارج من اجهزة التبريد و المعتمدة بشكل خاص على مياه ابراج التبريد ، حيث ان الهواء الخارج منها يحمل دقائق وجزيئات او رذاذ ماء صغيرة الحجم يتراوح حجمها من 1-5 مايكرومتر . قد تكون حاوية على عدد من الجراثيم المرضية او الاميبا التي تكون بداخلها الجراثيم ، والتي تدخل

<sup>+</sup> تاريخ استلام البحث ٢٠٠٩/١/٢٨ ، تاريخ قبول النشر ٢٠٠٩/٧/١٣

\* استاذ مساعد / المعهد الطبي التقني / المنصور

\*\* معاون بايولوجي / المعهد الطبي التقني / المنصور

الجهاز التنفسي عن طريق الاستنشاق وتصل الى الحويصلات . ومن هذه الجراثيم المتكيفة للمعيشة في داخل الاميبا و بيئة الماء وخاصة ابراج التبريد جرثومة اللجيونيلا . [ 1 ] ، [ 2 ] .

ترتبط جرثومة اللجيونيلا بنوعين من العلل التنفسية تسمى مجتمعة Legionellosis ، واحد هذين النوعين هو اللجيونيرس legionnairase الذي هو شكل من ذات الرئة ونوع حاد ومؤذي . وتحصل الاصابة عند الاشخاص المهينين لذلك كالمدخنين والذين يتعاطون الكحول . اما النوع الاخر من العلل التنفسية هو Pontiac fever وقد سمي بهذا الاسم بسبب اكتشافه في القسم الصحي لشركة Pontiac التابعة لولاية ميشيكان . [ 3 ] ، [ 4 ] .

اشار [ 5 ] ان هذه الجرثومة تسبب حمى الجو الرطب ( Humidifier fever ) وهي عبارة عن فرط في الحساسية نتيجة للتعرض لهذه الجرثومة او استنشاق الهواء الحاوي على الاميبا الحاوية على الجرثومة . اشارت الدراسات الوبائية التي قام بها [ 6 ] ، [ 7 ] بان حالات الاصابة بذات الرئة و الناتجة عن الاصابة بجرثومة اللجيونيلا بعد عام 1990 قدرت باكثر من 50000 حالة سنويا في الولايات المتحدة الامريكية . وان الجرثومة النامية داخل الاميبا تكون اكثر غزوا للمونوسايت من الجرثومة النامية على الوسط الزراعي . وتحدث تغيرات في جدارها يزيد من مقاومتها للمضادات الحيوية [ 8 ] .

يوجد اكثر من 39 نوع من اللجيونيلا وان اكثر هذه الانواع ترددا وامراضية هو النوع *Legionella pneumophila* والذي يضم اكثر من ( 61 ) نوع مصلي [ 9 ] ، [ 10 ] ، [ 11 ] . ونظرا لخطورة المرض الذي تسببه هذه الجرثومة وقلة الدراسات عنها في العراق ، لابل انعدامها وتعتبر دراسة تردد المقاومة لهذه الجرثومة هي اول دراسة في العراق .

## المواد وطرائق العمل

### ١- جمع العينات

تم جمع 192 عينة من الماء (من ابراج التبريد ) في الشركة العامة لصناعة الاسمدة الحيوية /البصرة وبواقع 8 عينة كل شهر وللفترة من ١/ك/ 2004-31 /ك/ 2005 حيث تم جمع العينات في حاويات معقمة وكان حجم العينة 2 لتر .

تم الحصول على الجرثومة ( في ١١٠ عينة في عينات الماء التي جمعت وبنسبة ٥٧,٢٩% ) في فصل الصيف لارتفاع درجة الحرارة التي تؤدي الى رفع درجة حرارة الماء وبالتالي الى تكوين بيئة مناسبة لنمو الجرثومة وبقائها [ 12 ] . وان هذه الجرثومة تتحمل درجات حرارة عالية ويرجع السبب الى وجود كميات كبيرة من الاحماض الدهنية في جدار الخلية والذي يعطيها صفة التحمل لمثل هذه الدرجات العالية . [ 13 ] ، [ 14 ] .

### ٢- الاختبارات التشخيصية للعزلات الجرثومية

تم اجراء الاختبارات التشخيصية للعزلات الجرثومية النامية على وسط فحم خلاصة الخميرة الصلب (CYEA) Charcol Yeast Extract Agar واعتمد في التشخيص على [ 15 ] و [ 16 ] . وشملت ما يلي :

صفات المستعمرة ، صبغة كرام ، انتاج انزيم الاوكسيديز ، انتاج انزيم الكاتاليز ، أختزال النترات ، تخمر السكريات 1% وشملت الكلوكوز ، مالتوز ، لاكتوز ، تحلل الجلاتين ، الحركة ، النمو على وسط (CYEA) بدون سستين ، التآلق الذاتي الازرق باستخدام الاشعة فوق البنفسجية ، انتاج البييتالاكتاميز [ 17 ] وتحلل هايبيورات الصوديوم [ 18 ] .

### ٣-اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

استخدمت الطريقة القياسية ( Standard method ) بطريقة الانتشار ( Disc Diffusion Method ) حسب طريقة [ 19 ] وشملت ( 17 ) سبعة عشر مضادا حيويا وهي :

Erythromycin ( E ) : 15 µg ; Neomycin ( N ) : 30 µg ; Clindamycin ( Cn ) : 2 µg ;  
Bactracin ( B ) : 10 µg ; Cephalothin ( Cf ) : 30 µg ; Tobramycin ( Tm ) : 15 µg ;  
Co-Trimoxizole ( Co ) : 25 µg ; Nalidaxic acid ( NA ) : 30 µg ; Nitrofurantin  
( Nf ) : 300 unit ; Amikacin ( An ) : 30 µg ; Streptomycin ( S ) : 10 µg ; Chloramphenicol  
( C ) : 30 µg ; Gentamycin ( Gm ) : 10 µg ; Penicillin ( P ) : 10 µg ; Ampicillin ( A ) : 10 µg ;  
Rifampin ( RA ) : 5 µg ; Polymaxin B ( Po ) 300 unit .

### النتائج

#### ١-تشخيص العزلات الجرثومية

أظهرت نتائج تشخيص العزلات انها جرثومة سالبة لصبغة غرام ، عصوية ، متحركة ، تنمو على وسط ( CYEA ) فحم خلاصة الخميرة الحاوي على السستين ولا تنمو عليه بدون سستين ، تنتج انزيم الكاتاليز ، تنتج انزيم الاوكسيديز ، تحلل الجلاتين ، تختزل النترات ، تنتج انزيم البييتالاكتاميز ، ولا تستهلك السكريات ( الكلوكوز ، مالتوز ، لاكتوز ) ، تظهر تآلق ذاتي ازرق تحت الاشعة فوق البنفسجية ، تنتج انزيم الفوسفاتيز ، تحلل هايبيورات الصوديوم . [ 15 ] ، [ 16 ] .  
فشخصت العزلات على انها *Legionella pneumophila* .

#### ٢-حساسية العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية

نتائج حساسية سلالات جرثومة *Legionella pneumophila* للمضادات الحيوية موضحة في جدول رقم ( 1 ) حيث ان 96.36% للسلالات الحساسة للمضادين الحيويين Chloramphenicol و Rifampin يليها المضاد الحيوي Erythromycin ثم المضاد الحيوي Gentamycin وهكذا كما في الجدول المذكور ، واقل المضادات تأثيرا على هذه السلالات لجرثومة اللجيونيليا هو المضاد الحيوي Polymaxin B وبنسبة 14.54% ويليه Cephalothin وبنسبة 18.18% .

جدول رقم ( 1 ) حساسية سلالات جرثومة *Legionella pneumophila* للمضادات الحيوية

المضاد الحيوي	عدد العزلات	عدد السلالات الحساسة	النسبة المئوية للسلالات الحساسة
Penicillin ( P ) 10 µg	110	28	25.45
Erythromycin ( E ) 15 µg	110	104	94.54
Ampicillin ( A ) 10 µg	110	82	74.54
Neomycin ( N ) 30 µg	110	24	21.81
Co-Trymoxizol ( Co ) 25 µg	110	36	32.72
Cephalothin ( Cf ) 30 µg	110	20	18.18
Bacitracin ( B ) 10 µg	110	24	21.81
Clindamycin ( Cn ) 2 µg	110	30	27.27
Tobramycin ( Tm ) 15 µg	110	22	20
Nitrofurantin ( Nf ) 300 unit	110	98	89.09
Amikacin ( An ) 30 µg	110	38	34.54
Chloramphenicol ( C ) 30 µg	110	106	96.36
Gentamycin ( Gm ) 10 µg	110	102	92.72
Rifampin ( RA ) 5 µg	110	106	96.36
Streptomycin ( S ) 10 µg	110	98	89.09
Polymaxin B ( Po )	110	16	14.54
Nalidaxic acid ( NA ) 30 µg	110	28	25.45

اما مقاومة سلالات الجرثومة للمضادات الحيوية فموضحة في جدول رقم ( 2 )

جدول رقم ( 2 ) تردد المقاومة لسلاسل جرثومة *Legionella pneumophila* ضد سبعة عشر مضادا حيويا

عدد السلاسل الكلية	عدد السلاسل المقاومة	نوع المقاومة	عدد المضادات المقاومة لها	النسبة المئوية للمقاومة
110	6	2 P, N, A, Co, Cn 2 P, N, Cf, An, Po 2 P, Tm, B, An, Po	5	5.45
110	10	2 N, Cf, B, An, Tm, Cn 2 N, Cf, P, Po, NA, Co 2 N, Cf, B, Po, NA, Co 2 N, Cf, B, Po, Tm, P 2 N, Cf, B, Po, Tm, Nf	6	9.09
110	18	2 P, A, Cn, Cf, Tm, NA, Po 2 P, N, A, B, Cf, NA, Po 2 N, Cn, B, Cf, Tm, An, Po 2 N, Cn, Co, Cf, Tm, NA, An 2 P, N, A, Cn, Co, B, Po 2 P, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA 2 P, N, Cn, Cf, NA, NF, Po 2 P, N, Co, Cf, NA, C, Po 2 N, A, Cn, Co, Tm, NA, Po	7	16.36
110	26	2 P, N, B, Cf, Tm, NF, An, Po 2 P, Co, B, Cf, Tm, An, S, Po 2 P, N, Co, Cf, Tm, NA, An, Po 2 P, N, Co, B, Cf, Tm, NA, Po 2 P, N, Cn, Co, B, Tm, NA, Po 2 N, A, Cn, B, NA, An, Co, Po 2 P, A, Cn, Co, Cf, Tm, An, Po 2 P, Cn, Co, Cf, NA, An, S, Po 2 Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, An, Po 2 P, N, Co, B, Cf, Tm, NA, An 2 P, Cn, B, Cf, Tm, An, Gm, Po 2 P, N, Cn, B, Cf, NA, NF, Po 2 P, N, Co, B, Cf, Tm, An, Po	8	23.63
110	24	2 P, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, An, Po 2 P, N, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, Po 2 P, Cn, B, Cf, Tm, NA, An, S, Po 2 P, N, Cn, B, Cf, Tm, NA, An, Po 2 P, N, Cn, Co, B, Cf, Tm, An, Po 2 P, N, Cn, B, Cf, Tm, NA, An, RA 2 N, A, Cn, B, Cf, Tm, NA, An, Po	9	21.81

		2 E, Cn, Co, B, Tm, NA, An, S, Po 2 P, N, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, Po 2 P, N, Cn, B, Tm, NA, NF, An, Po 2 E, P, N, Cn, Co, Cf, Tm, NA, An 2 P, N, A, Co, B, Cf, Tm, NA, Po		
110	20	2 N, A, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, An, Po 6 P, N, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, An, Po 2 P, N, Cn, B, Cf, Tm, NA, An, S, Po 2 P, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, An, C, Po 2 N, A, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, An, Po 2 N, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, An, Gm, Po 2 P, N, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, RA, Po 2 P, N, A, Cn, Co, B, Tm, An, S, Po	10	18.18
110	2	2 E, N, Cn, Co, B, Tm, NA, NF, An, Gm, Po	11	1.81
110	4	4 P, N, A, Cn, Co, B, Cf, Tm, NA, NF, An, Po	12	3.63

حيث يلاحظ وبوضوح ان عدد من السلالات مقاوم لخمس أو ستة من المضادات الحيوية وان العدد الأكبر من هذه السلالات مقاوم على الأقل لأكثر من سبعة مضادات حيوية وحتى عشرة مضادات حيوية . و 4 سلالات مقاومة ل12 مضاد حيوي .

### المناقشة:

جرثومة اللجيونيليا تعيش في البيئة المائية وتغير جزء منها ، وبيئة ابراج التبريد هي البيئة المفضلة لها وذلك لاحتوائها على بعض الفلزات نتيجة التآكل الحاصل فيها. حيث استخدم وسط فحم خلاصة الخميرة الصلب ( CYEA ) لعزل جرثومة اللجيونيليا و المضاف اليه الحديد و السستين، حيث تم الحصول على 110 عزلة من هذه الجرثومة والنامية على هذا الوسط ، وبالاعتماد على نتائج التشخيص التي تم الحصول عليها ، شخّصت العزلات على انها تعود الى النوع *Legionella pneumophila* وانواع اخرى لم يتم التركيز عليها لقلتها . تم التركيز على النوع *Legionella pneumophila* وذلك لتردده في كل عينات الماء التي جمعت وهذا مطابق لما توصل اليه [ 20 ] من ان النوع *Legionella pneumophila* هو النوع السائد بين الانواع الاخرى التابعة لجنس *Legionella* . ان سيادة هذا النوع الا دليل على ملائمة الظروف البيئية لهذا النوع مما زاد من فرصة تواجده في العينات ، حيث اشار [ 21 ] من ان هذه الجرثومة وبالذات النوع *Pneumophila* تتحمل درجات حرارة بين ٤٠-٤٢ مئوية ، PH بين ٦,٥-٧,٨ وتراكيز عالية من الكلور تراوحت بين ٠,٥-٠,٦ مايكروغرام/مل .

اظهرت نتائج فحص الحساسية و المقاومة للمضادات الحيوية ان اغلب العزلات لجرثومة *Legionella pneumophila* حساسة للمضاد الحيوي Rifampin والذي يستعمل بشكل رئيسي للعلاج ضد *tuberculosis* وكذلك حساسة للمضاد Chloramphenicol الذي يستخدم للعلاج ضد *salmonellosis* ولكن هذين

المضادين لهما مضاعفات جانبية حيث يسببان plasticanemia . [ 22 ] ، وان حوالي 90% من العزلات حساسة للمضاد الحيوي Gentamycin و Erythromycin وهذا مطابق مع ما توصل اليه باحثون اخرون [ 23 ] .

ان مقاومة سلالات هذه الجرثومة لمضادات حيوية مثل مجموعة البنسلين و السيفالوسبورين قد يكون بسبب امكانية هذه السلالات على انتاج انزيمات البيبتالكتام التي تقوم بتحطيم تلك المضادات [ ١٧ ] . اما مقاومة السلالات الجرثومية للأنواع الأخرى من المضادات قد يكون نتيجة لتغير مسارها الأيضي ونواتجها الأيضية بمنعها من الدخول والوصول الى الخلية [ 24 ] ، [ 25 ] او تعود الى طبيعة الجدار الخلوي للجرثومة من ناحية او النفاذية الاختيارية للغشاء الساييتوبلازمي للخلية الجرثومية من الناحية الأخرى [ 24 ] ، [ 25 ] ، او قد يكون سبب المقاومة الى وجود جينات المقاومة في هذه الجرثومة التي يكون مصدرها البيئة سواء التربة او الماء [ 24 ] ، [ 25 ] .

وبهذه الطرق التي تنتجها الجراثيم يمكن ان تقاوم انواع المضادات الحيوية عندما تدخل في مجال العلاج . حيث اظهرت النتائج في جدول ( 2 ) ان سلالات جرثومة *Legionella pneumophila* هي مقاومة 100% على الاقل لخمسة انواع واكثر من المضادات الحيوية .

ولذا تم ايجاد مشتقات جديدة لغرض تجنب المقاومة كما حصل في مجموعة البنسلين مثل Ampicillin [ 26 ] .

وقد أشار [ 27 ] ان استخدام الية التأزر بين نوعين من المضادات الحيوية لمعالجة الإصابة بهذه الجرثومة ، حيث وجد ان الجمع بين Colistin و Rifampin يفيد في القضاء على الجراثيم السالبة المتعددة المقاومة .

اشار [ 28 ] ان العلاج المفضل ضد الإصابة بهذه الجرثومة هو Erythromycin و Rifampin .

واشار ايضا [ 29 ] ان هذه الجرثومة اظهرت استجابة عالية للمضادات Rifampin و Chloramphenicol . نستنتج من البحث ان الجرثومة تتردد في عدد كبير من عينات الماء التي جمعت وبنسبة ٥٧,٢٩% وهذا يؤكد قدرتها على تحمل الظروف البيئية . وكذلك ان هذه الجرثومة تمتاز بقدرة عالية على مقاومة عدد كبير من المضادات الحيوية . وهذا يزيد من خطورتها في الإصابة واحداث المرض الذي تسببه ، لذا نوصي بالاتي :-

- لغرض التقليل من تواجد جرثومة اللجيونيلا في خزانات المياه و ابراج التبريد يجب تنظيف الخزانات وازالة الرواسب منها ومنع التاكل وابقاء تركيز الكلور عالي .
- القضاء على الاميبا لانها تعتبر مضيف مناسب لهذه الجرثومة . تحمي نفسها فيها عندما تكون الظروف البيئية غير مناسبة .
- استخدام اكثر من مضاد حيوي للمعالجة في حالة الإصابة بهذه الجرثومة .
- معاملة المياه الواردة كمياه الشرب للتخلص من المواد العضوية والجراثيم .
- استخدام مرشحات في فتحات التبريد .

### المصادر :

- 1-Abukwaik , Y. The phagosome containing *Legionella pneumophila* protozoan hartmannella veriformis is surrounded by the rough endoplasmic reticulum. *APP. Environ. Microbiol.*62:2022-2028. 1996 .
- 2-Fields, B.S. *legionella* and protozoa interaction of apathogen and its natural PP 129-136. in Barbaree , J.M.,Breman , R.F.,and Dufour ; A.P.(ed) , *legionella:current status and emerging perspective* , *American Society for Microbiology, Washington , D.C.* 1993 .

- 3-Helms , C.M.; Viner,J.P.; Sturm, R.H.; Renner, E.S.; and Johson. W. Comparative features of Pneumococcal , Mycoplasmal and legionnaires disease Pneumonias. *Ann. Inter Med.* 90:543-547. 1979 .
- 4-Kaufman , A.F.; McDade ,J.E.; Patton , C.M.; Bennett, J.V.; Aliy , P.; Feely , J.C.; Anderson , D.C.;Poher, M.E.; New house , U.F.; Gregg.M.B.; Brachman ,P.S. Pontiac fever: isolation of the etiologic agent ( *Legionella pneumophila* ) and demonstration of its mode transmission. *Am. J. Epidemiol.* 111:337-339. 1981 .
- 5-Stout , J.E.; and Yu, V.L. Legionellosis. *Med* 337: 682-687 . 1997 .
- 6-Lepine , L.; Jernigran , D.B.; Butler , J.C. Arecurrent outbreak of nosocomial Legionnaires disease detected by urinary antigen testing evidenc for long-term colonization of hospital plumbing system infect. *Control hosp. Epidemial .* 19: 905-910. 1998 .
- 7-Kool , J.L.; Fiore , A.E.; Kioski , C.M. More than 10 yeares of unrecognized nosocomial transmission of Legionnaires disease among transplant patients infect .*Control Hosp. Epidemiol* 19: 898-904 . 1998 .
- 8-Brieland , J.; McClain, M.; Le Gender, M.; and Engleberg , C Intra pulmonary Hartmannella vermiformis apotential for *Legionella pneumophila* replication in murine modle of Legionellosis. *Infect. Imman .* 64:4892-4896. 1997 .
- 9- Marstion, B.J.;Lipman,H.B.; and Breiman, R.F Surveillance for legionnaires disease. *Arch intern.Med.*154:2417-2422. 1994 .
- 10- Winn,JrW.C Legionella in Mannual of Clinical Microbiology 7<sup>th</sup>, ed Murroy,P.R Barron,E.J.,PFaller,M.A.,Tenover,F.C.andYolken, R.H.eds Washington,D.C.*American society for microbiology*:573-583. 1999 .
- 11- Cirillo,S.L.G.; Lum,J.and Cirillo,J.D. Identification of novel Loci involved in entry by *Legionella pneumophila* .*Microbiol.*146:1345-1359. 2000 .
- 12--Fields, B.S.; Maupt , T.; Davis, J.P.; Arduino , M.J.; Miller, P.H.; Butler , J.C. Pontiac fever due to *Legionella micdadei* from awirlpool spa: Possible role of bacterial endotoxin .*J.Infect . Dis .* 184(10) . 2001 .
- 13-Yu, V.L. Resolving the controversy on environmental cultures for *Legionella* . amodest proposal infect . control . *Hosp. Epidemiol .* 19: 893-897. 1998 .
- 14-Flierman, C.B.; Cherry, W.B.; Orrison, L.H.; Smith , S.J.; Tison , D.L., and Pope, D.H. Ecological distribution of *Legionella pneumophila* , APP. *Environ . Microbial* 4(1): 9-16. 1981 .
- 15- Koneman , E . W.; Janad, W.M.;Schreckenberger,P.C.; and Jr, W.C.W 15-. Color Atlas and Text Book of Dignostic Microbiology 5<sup>th</sup> . ed. J.B. Lippincott-Raben. Publishers, *Philadelphia .*, PP 253-318 . 1987.
- 16--Grimont, F.; Lefevre , M.; and Grimont , P.D.987 Taxonomic *Legionella* , PP.3-8 in: *Colloque Legionella . 6-7 May-Lyon, France .*
- 17- Thornsberry , C.; and Kirven , L.A., B. Lactamase of the legionnaires disease bacterium . *Curr. Microbiol .* 1:51-54 . 1978 .

- 18- Hebert , G.A. Hippurate hydrolysis by *Legionella pneumophila* . J.Cline. *Microbiol.* 13:240-242 . 1981 .
- 19- Bauer , A.W.; Kirby, W.A.M.; Sherris, J.S. and Turk , M., Antibiotic Susceptibility testing by a standardized single disc Method. *Am. J. Clin. Pathol.* 44:493-496 .1966 .
- 20- Fligeger , A.; Gong , S.; Faigle, M.; Northoff , H.; Neu Meister , B. invitro secretion kinetics of proteins from *Legionella pneumophila* species . *Microbiol.* 147(11):3127-3134 . 2001 .
- 21- Stone , M.; Ahmed , G.; and Evans, J., The continuing risk of domestic hot water scalds to the elderly , *Burns.* 26:347-350 . 2000 .
- 22- British National Formulary (BNF). A joint publication of British medical Association and the Royal pharmaceutical society to Great Britain. 291-298. 1989 .
- 23- Santer, C.; Georges , H.; Jacquier , J.M.; Leroy , O.; Beuscart, C.; Buguis, D.; and Beucare, G. Amikacin level in bronchial secretion of 10 pneumonia patient with respiratory support treated once daily versus twice daily . *Antimicrob. Agents. Chemother* . 39: 264-267. 1995 .
- 24--Prescott , L.M.; Harley , J.P.; and Klein , D.A. Microbiology 3<sup>rd</sup> . (ed) win.C.Brown Communication, inc. Australia . Oxford , England.381-392 , 1996 .
- 25- Jenkins , S. G . Mechanisms of Bacterial Antibiotic Resistance . *New Horizons* , 4:321-332 . 1996 .
- 26- Fung-Tom , J.C.; Gradelski , E.; Kolek , B.; Minassian , B.; Pucci , M.; Kessler, R.E. and Bonner , D.P. Activity carbapenem BMS 181139 against *Pseudomonas aeruginosa* is not Dependent on protein D<sub>2</sub> . *Antimicrob agents Chemother* . 39: 386-393 . 1995 .
- 27--Hogg , G . M. ; Barr , J.C.; and Webb , C.H. Invitro activity of the combination of colistin and rifampin against multidrug strains of *Acinetobacter baumannii* . *J. Antimicrob. Chemother* . 4:494-495 . 1998 .
- 28-Jawetz , E.; Melnick , J.L.; and Adeelberg , EA. Medical microbiology , 24<sup>nd</sup> by Langel Mc Gaw-Hill U.S.A. PP.:313-319. 2007 .
- 29-AL-Bohlal . J.A Susptibility of some *Legionella* species to eight antimicrobial agent . *Al-Tagani*, vo.21. NO.3 , PP:1-7 . 2008 .