دراسة مدى مقاومة بعض الجراثيم الأكثر عزلا من أخماج مستشفى تكريت التعليمي للمضادات الحيوية وعلاقتها بالبلازميدات

وعد محمود رؤوف[1] ، خالد عمر محمد علي[2] ، شيماء عبد محمد علي[3]

[1] *قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق*

[2] *كلية الطب ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق*

[3] *كلية الزراعة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق*

etharwaad@yahoo .com

(تاريخ الاستلام: 2012/6/10 ---- تاريخ القبول: 2013/4/10)

الملخص

جمعت (140) عينة من المرضى الراقدين لثلاثة أيام فأكثر في مستشفى تكريت التعليمي للمدة من 1-8-2009 ولغاية 1-12-2009 وتضمنت العينات (75) عينة إدرار Urine و(28) عينة براز Stool و(28) مسحة من الجروح Wound swab و(9) عينات قشع Sputum بهدف تحديد العزلات الجرثومية الاكثر شيوعاً ضمن أخماج مستشفى تكريت التعليمي ومقاومة هذه العزلات للمضادات الحيوية ودراسة العلاقة بين مقاومة المضادات الحيوية والمحتوى البلازميدي للعزلات الجرثومية الاكثر شيوعاً وتقييم مدى أنتشار هذه البلازميدات ضمن بيئة المستشفى . وقد عزلت أنواع جرثومية مختلفة في هذه الدراسة وبينت النتائج أنّ الجرثومة الأكثر شيوعاً في أخماج المسالك البولية كانت *Citrobacter.koseri* وبنسبة (21%) تلتها الاجناس الجرثومية الآتية :

E.coli (15.7%) ، *Staphylococcus schleiferi* (10.5%) ، *Staphylococcus epidermidis* (7.8%)، *Proteus vulgaris*، *Staphylococcus saprophyticus* ، *Klebsiella ozaenae* ، *Klebsiella ornithindytica* بنسبة (5.2%) لكل جنس من هذه الاجناس ، *Enterobacter aerogenes*، *Providencia stuartii*، *Staphylococcus warneri* ، *Staphylococcus aureus* و *Proteus mirabilis* بنسبة (2.6%) لكل جنس من هذه الأجناس. كذلك كانت جرثومة *Citro.koseri* أكثر شيوعاً ضمن أخماج الجروح بنسبة (25%) تلتها الاجناس الجرثومية الآتية: *E.coli* (16.6%) ، *P.mirabilis* (16.6%) ، *Staph.schleiferi* ، *P.vulgaris* ، *Prov.stuartii* ، *Prov.rettgeri* بنسبة (8.3%) لكل منها. اما أخماج المعدة والامعاء فقد كانت جرثومة *Citro.koseri* هي الاكثر شيوعاً أيضاً بنسبة (36.3%) تلتها *E.coli* (18.1%) ، *S.flexneri*، (18.1%) *P.mirabilis* ، *Prov.stuartii* ، *Prov.alcalifaciens* بنسبة (9%) لكل منها . بينما كانت جرثومة *Strept. pneumoniae* بنسبة (66,7%) هي الاكثر شيوعاً ضمن أخماج ذات الرئة تلتها جرثومة *K.pneumoniae* بنسبة (33,3%) . أختبرت حساسية العزلات الجرثومية الاكثر شيوعاً للمضادات الحيوية فتبين أنّ معظم العزلات الجرثومية أظهرت مقاومة عالية للمضادات الحيوية قيد الدراسة عدا جرثومة *Staph. schleiferi* التي كانت حساسة لمضاد Amikacin . تم أختيار إحدى عشرة عزلة اعتماداً على شيوعها ومقاومتها للعديد من المضادات الحيوية لاجراء تجارب التحييد باستخدام مادة SDS لدراسة علاقة بلازميدات هذه العزلات مع مقاومتها للمضادات الحيوية . وأظهرت النتائج أنّ الخلايا المحيدة العائدة لـ *E.coli* فقدت مقاومتها لمضادات Tetracycline و Ciprofloxacin و Cefotaxime أما *C.koseri* فقد فقدت مقاومتها للمضادات أعلاه عدا الـ Tetracycline بينما فقدت *K.ornithinolytica* مقاومتها لكل من مضادات Tetracycline و Ciprofloxacin أما *P.mirabilis* فقد فقدت مقاومتها فقط لمضاد Tetracyclin وكذلك *Strept.pneumoniae* التي فقدت مقاومتها لمضادات Tetracycline و Cefotaxime و Ampicillin . مما قد يعني أن الجينات المسؤولة عن مقاومة هذه المضادات الحيوية قد تكون محمولة على البلازميد وهو ما أكدته نتائج الترحيل الكهربائي . كما تبين ايضا من نتائج الترحيل الكهربائي أن جميع العزلات الجرثومية قيد الدراسة كانت تمتلك نسقاً بلازميدياً واحداً. والذي يمكن ان يكون مؤشراً وبائياً على أن مثل هذه البلازميدات من النوع الاقتراني التي لها القدرة على نقل صفة مقاومة المضادات الى سلالات جرثومية اخرى عائدة الى النوع نفسه او حتى الى انواع جرثومية مختلفة .

المقدمة

يشير مصطلح أخماج المستشفيات [Nosocomial or Hospital Acquired Infection (HAI)] الى الأخماج التي يكتسبها المريض خلال مدة رقوده في المستشفى والتي لم يكن مصابا بها قبل دخوله المستشفى ولا تظهر اعراضها الا بعد (48) ساعة أو اكثر من دخوله اليها ، سواءاً كانت تلك الأخماج ذات مصدر خارجي (Exogenous) تتمثل بالهواء وارضية المستشفى والكادر العامل في المستشفى ، أم ذات مصدر داخلي (Endogenous) اذ يحمل المريض على جلده أنواعاً مختلفة من الاحياء المجهرية [1] ،[2] . تعد مشكلة أخماج المستشفيات من أهم وأخطر المشاكل الصحية التي يعاني منها العالم كله وهذا يعود الى انها تزيد من نسبة الوفيات ومضاعفات المرض وتزيد من مدة بقاء المريض في المستشفى وتؤثر بشكل كبير على جودة العمل الطبي والذي يحتاج فيه المصاب الى

جهد أكبر للاشراف عليه فضلاً عن زيادة التكلفة [3] . ومن أهم الأمراض التي يمكن ان تكتسب داخل المستشفيات هي أخماج المسالك البولية Urinary tract infection ، وأخماج الجروح Wounds infection ، وأخماج الجهاز التنفسي Respiratory tract infection ، وأخماج المعدة والامعاء Gastrointestinal infection وتسمم الدم Septicemia [4] . أما أهم الاجناس والانواع الجرثومية التي يمكن ان تسبب أخماج المستشفيات هي (*Staphylococcus spp.* و *Streptococccus spp.* و *Entrobacter spp.* و *Citrobacter spp.* و *Klebsiella spp* و *Proteus spp.* و *Escherichia coli* و *Psudomonas aeruginosa* [5] ، [6] . وفي الوقت الحاضر بدأت الجراثيم المرضية تظهر مقاومة متزايدة تجاه المضادات الحيوية وبنسب عالية وتعود هذه المقاومة الى امتلاكها آليات تمكنها من مقاومة المضادات الحيوية لا سيما مضادات β-Lactam وذلك لقدرة الجراثيم على انتاج انزيمات الـβ-Lactamase التي تجعلها مقاومة للـPenicillins و Cephalosporins [7] . تسهم البلازميدات Plasmids في عملية انتشار مقاومة المضادات الحيوية والتي تعد ناقلاً مهما للجينات ويمكن التحكم بهذه الجينات بطريقة تسمح بإزالة الصفات غير المرغوب فيها من خلال إزالة البلازميد الحامل لهذه الجينات وذلك بطريقة التحييد وهناك العديد من المواد التي تستخدم في التحييد مثل الاكريدين البرتقالي achridine orange وبروميد الاثيديوم ethidium bromide ومركب الـ (Sodium dodecyle sulphate SDS) الذي وجد أنه الاكثر تاثيراً في تحييد البلازميدات الجرثومية وبتراكيز اقل من التراكيز المثبطة الدنيا ، كما أنّ استخدام تقنية النسق البلازميدي وعن طريق الترحيل الكهربائي قد اتاحت الفرصة في الكشف عن البلازميدات المتماثلة في العدد (عدد الحزم البلازميدية+) والوزن الجزيئي سواء كان لسلالات النوع نفسه ام لأنواع جرثومية مختلفة وقد اعطى ذلك فكرة عن مدى انتشار هذه البلازميدات وانتقالها بين الانواع المختلفة من الجراثيم او سلالات النوع نفسه ويكون في أكثر الاحيان عادة بين الانواع المتعايشة بشكل طبيعي في البيئة نفسها والتي تكون متواجدة بشكل كثيف في تلك البيئة [8] ، [9] . وقد هدفت الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص الجراثيم المسببة للاخماج في مستشفى تكريت التعليمي وتحديد الانواع الجرثومية الاكثر شيوعا في احداثها ، تحديد مدى مقاومة الجراثيم المعزولة لبعض المضادات الحيوية و علاقة البلازميد (البلازميدات) بمقاومتها لتلك المضادات ودراسة النسق البلازميدي لهذه العزلات باستخدام طريقة الترحيل الكهربائي وتقييم الحزمة او الحزم البلازميدية الاكثر شيوعا ضمن عزلات هذه البيئة .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

تضمنت الدراسة الحالية جمع (140) عينة سريرية من المرضى الراقدين لمدة ثلاثة ايام فما فوق في مستشفى تكريت التعليمي في مدينة تكريت واستمرت مدة الجمع من شهر آب 2009 ولغاية شهر كانون الاول 2009 شملت هذه العينات (75) عينة ادرار urine من المرضى الذين يعانون من (الفشل الكلوي، السكري، ارتفاع الضغط ، حالات الكسور، الحروق، التهاب الصدر) و (28) عينة براز stool من المرضى الذين يعانون من (ارتفاع درجات الحرارة ، السعال، التهاب الصدر، حالات الكسور) و(9) عينات قشع sputum من المرضى الذين يعانون من(الفشل الكلوي، حالات الكسور، عجز القلب) والتي جمعت في اوعية نظيفة معقمة، و (28) مسحة من الجروح wound swab من المرضى الذين ادخلوا لاجراء العمليات الجراحية جمعت باستخدام ماسحة قطنية معقمة نقلت العينات الى المختبر وزرعت خلال 10 دقائق سجلت المعلومات الخاصة بكل مريض والتي تضمنت (تاريخ دخولهم الى المستشفى وسبب دخولهم الى المستشفى) .

العزل والتشخيص

زرعت العينات التي جمعت على وسطي اكار الدم والماكونكي وحضنت بدرجة 37 ْم ولمدة 24 ساعة وشخصت اعتمادا على الصفات المظهرية والمجهرية والكيموحيوية والتي تضمنت فحص الاوكسيديز Oxidase ، فحص الكاتليز Catalase test ، اختبار الاندول Indol test ، اختبار احمر المثيل Methyl red test ، اختبار فوكس بروسكاور Voges prauskaure ، اختبار استهلاك السترات Citrate utilization ، اختبار الحركة Motility test ، اختبار التجلط Coagulase test ، النمو على وسط اكار المانتول – الملحي Mannitol salt agar medium ، اختبار تخمر السكريات Sugar fermentation، واختبار ازالة مجموعة الكاربوكسيل من حامض اللايسين اعتمادا على [10] و [11] .

حفظ العزلات الجرثومية وأدامتها

حفظت العزلات الجرثومية بعد تشخيصها على اوساط زرعية مائلة Slant من الاكار المغذي في الثلاجة بدرجة 4 مئوية وتم التأكد من نقاوتها بتجديد الزرع شهريا طيلة مدة الدراسة . اما لغرض حفظ العزلات لفترات طويلة دون احتمال تعرضها لفقدان بعض مواصفاتها الوراثية فقد تم تلقيح انبوبة اختبار حاوية على (5–10) مل من المرق المغذي بمستعمرة واحدة وحضن المزروع لمدة 24 ساعة ثم نقل 0.85 مل من المزروع الى قناني ذات غطاء محكم تحوي 0.15 مل من الكليسيرول المعقم تم مزج المزيج بقلب الانبوبة الى الاسفل والاعلى بعد غلقها عدة مرات وخزن المزروع في درجة (–20)ْم لغرض اجراء التجارب الوراثية [12] .

فحص الحساسية للمضادات الحيوية باستخدام طريقة انتشار الاقراص

اجري اختبار الحساسية لانواع من المضادات الحيوية على العزلات قيد الدراسة بطريقة الانتشار بالاقراص وبحسب طريقة (Kirby-

method bauer) المعدلة والموصوفة من قبل منظمة الصحة العالمية [13] .

تحييد البلازميدات

استعملت (11) عزلة جرثومية اختيرت على أساس شيوعها في الاخماج المكتسبة في مستشفى تكريت التعليمي ولكونها تمتلك صفة المقاومة للعديد من المضادات الحيوية multidrug resistance، وأجريت تجارب التحييد بالاعتماد على [14] استخدام مركب Sodium dodecyle sulphate (SDS) كعامل محيد وبتراكيز تتراوح بين (1–10)% لتحييد الجراثيم الموجبة لصبغة كرام بينما استخدمت التراكيز من (1–23)% للجراثيم السالبة لصبغة كرام .

استخلاص وعزل الدنا البلازميدي

استخدمت طريقة التحلل القاعدي Alklaine lysis بحسب ما جاء في [15] لاستخلاص وعزل الدنا البلازميدي للخلايا الجرثومية قيد الدراسة .

الترحيل الكهربائي للدنا البلازميدي على هلام الاكاروز

تعد عملية الترحيل الكهربائي خلال هلام الاكاروز واحدة من الطرائق المستخدمة في تشخيص الدنا البلازميدي لمعرفة أعداد الحزم البلازميدية وأحجامها لتحديد النسق البلازميدي للعزلات قيد الدراسة وقد تم إجراء الترحيل الكهربائي في هذه الدراسة حسب ما جاء في [16] .

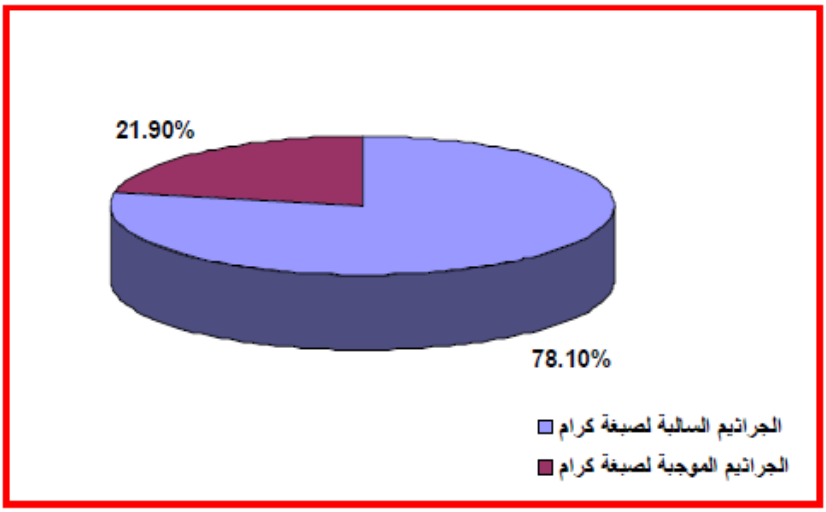
النتائج والمناقشة

يبين الجدول (1) أعداد ونسب النمو الجرثومي المأخوذ من عينات سريرية مختلفة . اذ أظهرت النتائج ان النمو الجرثومي قد ظهر في (64) عينة وبنسبة (45.7%) بينما لم يظهر أي نمو جرثومي في (76) عينة وبنسبة (54.3%) وهذه النتيجة جاءت مقاربة لما [17] الذي قام بدراسة (4501) عينة جمعت من مرضى راقدين بالمستشفيات في الولايات المتحدة لمدة (72) ساعة فما فوق فوجد ان (2064) عينة وبنسبة (45.8%) اعطت نتيجة موجبة بينما لم تظهر (2437) عينة وبنسبة (54.1%) أي نمو. ان نسبة النمو الجرثومي العالية التي ظهرت في هذه الدراسة قد تعود الى الاستعمال المستمر للمضادات الوقائية في المستشفى مما أدى الى انتشار الجراثيم المقاومة لهذه المضادات فضلاً عن ترك الابواب والنوافذ مفتوحةً وعطل أجهزة التبريد أحيانا مما يسمح بمرور تيار الهواء من الخارج الى الداخل حاملاً معه الجراثيم والممرضات الاخرى [18] ، كذلك عدم اتباع الاساليب الصحيحة في التنظيف وعدم الاكتراث بقواعد التعقيم من قبل العاملين في المستشفى فضلاً عن عوامل أخرى متعلقة بالنظافة الشخصية للمريض نفسه وللكادر الطبي [19] . كما يتضح من الجدول نفسه ان اعلى نسبة إصابة سجلت هي اخماج المسالك البولية (50.7%) بينما كانت اخماج ذات الرئة أقل حدوثاً وهذه النتيجة جاءت مشابهة لما توصل إليه [20] في الولايات المتحدة اذ وجد ان اعلى نسبة اصابة سجلت بأخماج المسالك البولية تلتها اخماج الجروح ثم تجرثم الدم بينما كانت أقل نسبة اصابة هي أخماج ذات الرئة . ان النسبة العالية التي حصلنا عليها لأخماج المسالك البولية والتي بلغت (38) حالة من مجموع (75) وبنسبة (50,7%) قد تكون نتيجة لكثرة استخدام القثاطر البولية اذ تعد هذه الاداة من أهم الوسائل لنقل الاصابة الى المرضى وكذلك عدم اتباع الاساليب الصحية في التنظيف فضلاً عن كون المستشفى مزدحمة بشكل كبير اذ أشارت الدراسات الى ان المستشفيات التعليمية الكبيرة تمتاز بإزدياد اعداد الذين يدخلون اليها يومياً [21] ، [22] .

الجدول (1) : أعداد ونسب النمو الجرثومي المأخوذ من عينات سريرية مختلفة

مصدر العينة	وجود النمو		عدم وجود النمو		المجموع
	العدد	النسبة المئوية(%)	العدد	النسبة المئوية	
خمج المسالك البولية	38	50.7	37	49.3	75
خمج الجروح	12	42.9	16	57.1	28
خمج المعدة والامعاء	11	39.3	17	60.7	28
خمج ذات الرئة	3	33.3	6	66.7	9
المجمـــوع	**64**	**45.7**	**76**	**54.3**	**140**

وظهر من النتائج ان نسبة عزل الجراثيم السالبة لصبغة كرام كانت (78.1%) من الاخماج المكتسبة داخل مستشفى تكريت التعليمي والتي كانت أعلى من نسبة عزل الجراثيم الموجبة لصبغة كرام (21.9%) وكما هو موضح في الشكل (1) اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه كل من [23] في تونس و[24] في تركيا .



الشكل (1) النسب المئوية للجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام المعزولة من عينات سريرية مختلفة

يبين الجدول (2) اعداد ونسب الجراثيم قيد الدراسة المعزولة من عينات سريرية مختلفة . أظهرت النتائج ان جنس *Citrobacter koseri* كان الاكثر شيوعا ضمن مسببات اخماج المسالك البولية واخماج الجروح واخماج المعدة والامعاء وهذه النتائج اتفقت مع كل من [25] تلتها جرثومة *E.coli* .يعود سبب ارتفاع نسبة عزل هذه الجراثيم الى كونها من الممرضات الانتهازية المتواجده بشكل طبيعي في الامعاء وقدرتها على انتاج العديد من الانزيمات منها انزيم الكاتليز وانزيم اليوريز فضلا عن امتلاكها للذيفانات الداخلية المتمثلة بمتعدد السكريد الشحمي [26] Lipopolysaccharide (LPS) . بينما سجلت جرثومة *Strept. Pneumoniae* أعلى نسبة عزل بواقع عزلتين وبنسبة (66.7%) من اخماج ذات الرئة وهي نسبة عالية مقارنة مع ما توصل اليه [27] الذين وجد ان نسبة عزل *Strept .pneumonia* من اخماج ذات الرئة كانت بواقع (9) عزلات أي بنسبة (16.6%) . ويعود سبب انتشارها الى امتلاكها للعديد من عوامل الامراضية منها pneumolysin وهي من الذيفانات التي تمتلكها هذه الجرثومة تعمل هذه الذيفانات على احداث ثقوب كبيرة في أغشية الخلايا الحقيقية النواة وكذلك امتلاكها للمحفظة التي تعمل على حمايتها من عملية البلعمة [28] .

الجدول (2):اعداد ونسب العزلات الجرثومية قيد الدراسة المأخوذة من عينات سريرية مختلفة

العزلات الجرثومية	خمج المسالك البولية	خمج الجروح	خمج المعدة والامعاء	خمج ذات الرئة	مجموع العزلات
C.koseri	(%21)8	(%25)3	(%36.3)4	0	15
E. coil	(%15.7)6	(%(16.6)2	(%18.1)2	0	10
S. Flexneri	0	0	(%18.1)2	0	2
P.mirabilis	(%2.6)1	(%16.6)2	(%9)1	0	4
P.vulgaris	(%5.2)2	(%8.3)1	0	0	3
E.cloacae	(%5.2)2	0	0	0	2
E.aerogenes	(%2.6)1	0	0	0	1
M. morganii	(%5.2)2	0	0	0	2
K.ozaenae	(%5.2)2	0	0	0	2
K.ornithinolyica	(%5.2)2	(%8.3)1	0	0	3
K.pneumoniae	0	0	0	(%33.3)1	1
Prov.stuartti	(%2.6)1	(%8.3)1	0	0	2
Prov.rettgerii	0	(%8.3)1	(%9)1	0	2
Prov.alcalifaciens	0	0	(%9)1	0	1
Strept.pneumoniae	0	0	0	(%66.7)2	2
Staph.aureus	(%2.6)1	0	0	0	1
Staph.schleiferi	(%10.5)4	(%8.3)1	0	0	5
Staph.epidermidis	(%7.8)3	0	0	0	3
Staph.saprophyticus	(%5.2)2	0	0	0	2
Staph.warneri	(%2.6)1	0	0	0	1
مجموع العزلات	**38**	**12**	**11**	**3**	**64**

يبين الجدول (3) حساسية العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية قيد الدراسة اذ تظهر النتائج ان معظم العزلات الجرثومية كانت ذات مقاومة عالية للمضادات الحيوية قيد الدراسة عدا جرثومة *Prov.stuartti* التي كانت حساسة لجميع المضادات الحيوية ما عدا مضادي الـRifampicin و Tetracycline كذلك الانواع الجرثومية التابعة لجنس *Staphylococcus* التي كانت حساسة لمضاد Amikacin ، وكان النوع *Staph.aureus* حساساً أيضا لمضاد Nitrofurantoin بينما كان النوع *Staph.warneri* حساساً أيضا لمضادات Ciprofloxacin و Nitrofurantoin . أما عزلات النوع *E.aerogenes* فقد كانت مقاومة لجميع المضادات عدا Ciprofloxacin و Nitrofuratoin . واتفقت هذه النتائج مع [29] التي وجدت ان نسبة مقاومة العائلة المعوية لمضادات البيتا لاكتام كانت عالية .وهذه النتائج جاءت مقاربة لما توصل اليه [30] الذين وجدوا ان عزلاتهم العائدة لجنس staphylococcus كانت حساسة لمضاد Amikacin . وتعود اسباب مقاومة الجراثيم للمضادات الى امتلاكها الى انواع الانزيمات التي تعمل على تحوير المضاد الحيوي كالانزيمات الخلوية التي تعمل على مضادات الامينوكلايكوسيدات المتمثلة بـ(AAC) Aminoglycosid acetyl Transferase و (APH) Aminoglycosid Acetyl Phosphotransferase و (ADD) Aminoglycosid Adenyl Transferase [31] . يمكن ان تعود اسباب المقاومة الجرثومية للمضادات الحيوية الى امتلاك الجراثيم عدة عوامل تساعدها في مقاومة هذه المضادات منها التحوير في موقع الهدف لارتباط المضاد الحيوي بالهدف فتضعف ألفة الارتباط به [32] كذلك امتلاك الجراثيم ميكانيكية الدفق النشط التي تعمل على تقليل تراكم المضاد داخل الخلية الجرثومية او من خلال تقليل نفاذية الغشاء الخارجي للجراثيم لا سيما في الجراثيم السالبةالتي تتميز بأمتلاكها هذه الميكانيكية في حين تفتقدها الجراثيم الموجبة لصبغة كرام لعدم امتلاكها الغشاء الخارجي [33] كذلك من اسباب المقاومة الجرثومية حدوث بعض الطفرات كالطفرة التي تؤدي الى حدوث تحوير لانزيم DNA gyrase او الطفرات التي تؤدي الى الانتاج الفائق لانظمة الدفق الفعال[34] .

الجدول (3) مقاومة العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية قيد الدراسة

المضادات الحيوية																				العدد	العزلات الجرثومية
TE		CN		AMC		CTX		F		CIP		CL		TOB		AM		RA		AK			
%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد		
100	15	93.3	14	93.3	14	100	15	86.7	13	100	15	100	15	66.7	10	100	15	100	15	53.3	8	15	*Citro.koseri*
100	10	100	10	100	10	100	10	80	8	100	10	100	10	90	9	100	10	100	10	90	9	10	*E. coil*
100	3	100	3	100	3	100	3	33.3	1	66.7	2	100	3	100	3	100	3	100	3	66.7	2	3	*K.ornithinolyica*
100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	1	*K.pneumoniae*
100	2	100	2	100	2	100	2	0	0	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	50	1	2	*K.ozaenae*
100	4	50	2	75	3	75	3	100	4	75	3	50	2	50	2	75	3	100	4	50	2	4	*P.mirabilis*
100	3	66.7	2	100	3	100	3	100	3	100	3	100	3	100	3	100	3	100	3	100	3	3	*P.vulgaris*
80	4	100	5	20	1	40	2	40	2	60	3	60	3	40	2	100	5	60	3	0	0	5	*Staph.schleiferi*
50	1	100	2	100	2	100	2	50	1	50	1	100	2	100	2	100	2	100	2	0	0	2	*Staph.saprophyticus*
33.3	1	100	3	66.7	2	66.7	2	0	0	33.3	1	100	3	66.7	2	66.7	2	33.3	1	0	0	3	*Staph.epidermidis*
100	1	100	1	0	0	100	1	0	0	100	1	100	1	0	0	100	1	100	1	0	0	1	*Staph.aureus*
0	0	100	1	100	1	100	1	0	0	0	0	100	1	100	1	100	1	100	1	0	0	1	*Staph.warneri*
100	2	100	2	100	2	100	2	50	1	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	50	1	2	*Strept.pneumoniae*
100	2	100	2	100	2	100	2	50	1	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	2	*Morganella morganii*
100	2	100	2	100	2	50	1	50	1	100	2	100	2	50	1	100	2	100	2	0	0	2	*Shigella Flexneri*
100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	2	*E.cloacae*
100	1	100	1	100	1	100	1	0	0	0	0	100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	1	*E.aerogenes*
100	2	0	0	0	0	0	0	100	2	0	0	0	0	0	0	0	0	100	2	0	0	2	*Prov.stuartti*
100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	0	0	100	2	100	2	100	2	100	2	100	2	2	*Prov. Rettgeri*
100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	100	1	0	0	100	1	100	1	100	1	1	*Prov. alcalifaciens*

K: Amikacin RA: Rifampicin AM: Ampicillin TOB: Tobramycin
CL: Cephalexin CIP: Ciprofloxacin F: Nitrofurantoin CTX: Cefotaxime
AMC: Amoxicillin / Clavulanic acid CN: Gentamicin TE: Tetracycline

وبهدف التعرف على موقع الجينات المسؤولة عن مقاومة المضادات الحيوية المدروسة من قبل العزلات الجرثومية قيد الدراسة (بلازميدية أو كروموسومية) اجريت تجارب التحييد على العزلات الاكثر شيوعاً في الاخماج المنتشرة في مستشفى تكريت التعليمي والتي تضمنت (11) عزلة اختيرت على أساس شيوعها في الاخماج وعلى أساس مقاومتها للعديد من المضادات الحيوية Multidrug resistance شملت هذه العزلات (4) عزلات من اخماج المسالك البولية وهي: *Citro.koseri* و *E.coli* و *Staph.schleiferi* و K.ornithinoly *tica* و(3) عزلات من أخماج المعدة والامعاء وهي *Citro.koseri* و *E.coli* و *Shigella flexneri* و(3) عزلات من

خمج الجروح وهي : *Citro.koseri* و *E.coli* و *P.mirabilis* وعزلة واحدة من خمج ذات الرئة وهي *Strept .pneumoniae* باستخدام مادة SDS كمادة محيدة وقد ذكر [35] ان الـSDS مركب فعال ذو تاثير كبير في تحييد الجراثيم اكثر من بقية المركبات المستخدمة في التحييد مثل صبغة الاكردين البرتقالية والريفامبسين وقد استخدمت تراكيز من مادة SDS من (1%) الى (10%) للجراثيم الموجبة لصبغة كرام ، اما الجراثيم السالبة لصبغة كرام فاستخدمت التراكيز من (11%) الى (23%) . وقد أظهرت النتائج ان التركيز المثبط الادنى لمادة الـSDS للجراثيم الموجبة كان (7%) وهذه النتائج قد اتفقت مع [36] الذي أشار الى ان التركيز المثبط الادنى من مادة SDS للجراثيم الموجبة لصبغة كرام كانت (8%) اما الجراثيم السالبة لصبغة كرام فكان التركيز المثبط الادنى (23%) . ويعود الفرق في التراكيز المستخدمة في التحييد من مادة الـSDS الى طبيعة مكونات الجدار الجرثومي فالجراثيم السالبة لصبغة كرام ذات مكونات جدار أكثر تعقيداً من مكونات جدار الجراثيم الموجبة فضلاً عن وجود الغشاء الخارجي Outer membrane وبذلك فهي تحتاج الى تراكيز عالية من مركب SDS لتتمكن من النفاذ الى داخل الخلية . بعد التحييد اجري اختبار حساسية العزلات لاقراص المضادات الحيوية من خلال تنميتها على أوساط تحوي على محاليل مضاداتcycline Tetra بتركيز 15 / مل ايثانول 50% Ciprofloxacin بتركيز 50 مايكروغرام / مل ايثانول 70% و Cefotaxime و Ampicillin و Cephalexin بتراكيز 30 ،5 و100 مايكروغرام / مل ماء مقطر على التتابع وأظهرت النتائج كما هو موضح في الجدول (4) نجاح مادة الـSDS في تحييد (6) عزلات فقط اما العزلات الباقية فلم تحيد وقد يعود سبب ذلك الى كون الجينات المسؤولة عن مقاومة المضادات ليست بلازميدية ، ومن العزلات التي نجحت مادة الـSDS في تحييدها هي العزلة العائدة للنوع *E.coli* المعزولة من البراز فقد فقدت صفة المقاومة لكل من مضادات Tetracycline و Cefotaxime و Ciprofloxacin بينما لم تفقد صفة المقاومة لمضادات Ampicillin و Cephalexin كما هو موضح في الصورة (2) وهذا يدل على ان صفة مقاومة مضادات Tetracycline و Cefotaxime و Ciprofloxacin هي بلازميدية وهذا يتفق مع ما توصل اليه [37] اللذان اشارا الى ان جرثومة *E.coli* قد فقدت صفة المقاومة لكل من Ciprofloxacin و Cefotaxime . اما بالنسبة للعزلة العائدة لجرثومة *Citro.koseri* المعزولة من الجروح فقد فقدت صفة المقاومة لكل من مضادات Ciprofloxacin و Cefotaxime كما هو موضح في الصورة (3) مما يتضح ان صفة المقاومة لهذه المضادات محمولة على البلازميد . بينما فقدت العزلة العائدة لجرثومة *Citro.koseri* المعزولة من الادرار صفة المقاومة لمضاد Tetracycline كما هو موضح في الصورة (4) وهذا يدل على ان الجينات المسؤولة عن مقاومة المضادات الاخرى المستخدمة في هذه الدراسة قد تكون كروموسومية وليست بلازميدية . اما جرثومة *K.orthnithinolytica* المعزولة من الادرار فقد فقدت صفة المقاومة لكل من مضادات Tetracycline و Ciprofloxacin بينما لم تفقد مقاومتها لمضادات Cefotaxime و Cephalexin و Ampicillin كما هو موضح في الصورة (5) وذلك لامتلاك الـ*Klebsiella* لعدد كبير من النسخ البلازميدية وبذلك قد لا تحيد بالكامل عند تعريضها لمادة SDS [38] أو قد يعود السبب الى امتلاك الجراثيم لآليات مقاومة كروموسومية المنشأ [39] . اما بالنسبة لجرثومة *P.mirabilis* المعزولة من الجروح فقد فقدت صفة المقاومة لمضاد Tetracycline كما هو موضح في الصورة (6) وهذه النتيجة تتفق مع [40] الذي أشار الى جينات المقاومة لمضاد Tetracycline قد فقدت من قبل الجراثيم السالبة لصبغة كرام بعد التحييد بمادة SDS مما قد يؤكد ان الجين المسؤول عن مقاومة مضاد Tetracycline بلازميدي الموقع وهي متفقة مع نتيجة هذه الدراسة . اما بالنسبة لجرثومة *Strept .pneumoniae* المعزولة من القشع فقد فقدت صفة المقاومة لكل من Tetracycline و Cefotaxime و Ampicillin وهذه النتائج قد اتفقت مع ما توصل اليه كل من [41] الذين وجدوا ان الجراثيم الموجبة قد فقدت مقاومتها لكل من مضادات Ampicillin و Cefotaxime بعد التحييد وهي نتيجة متفقة مع ما حصلنا عليه في دراستنا مما يدل على ان صفة المقاومة لهذه المضادات قد تكون محمولة على البلازميد وليس على الكروموسوم . وبذلك يظهر ان مقاومة مضادات Tetracycline و Ciprofloxacin و Cefotaxime و Ampicillin في كل من الجراثيم السالبة والموجبة لصبغة كرام قيد الدراسة هي بلازميدية الموقع وليس كروموسومية اما بالنسبة لمضاد Cephalexin فقد يكون الجين المسؤول عن مقاومته كروموسومي الموقع وليس بلازميدياً وهذا يتفق مع [42] الذي وجد انّ صفة مقاومة مضاد الـCephalexin لجرثومة *P.mirabilis* لم تنتقل الى العزلات الجرثومية الاخرى في أثناء عملية التحول الوراثي وهذا يدل على ان صفة مقاومة الـCephalexin كروموسومية .

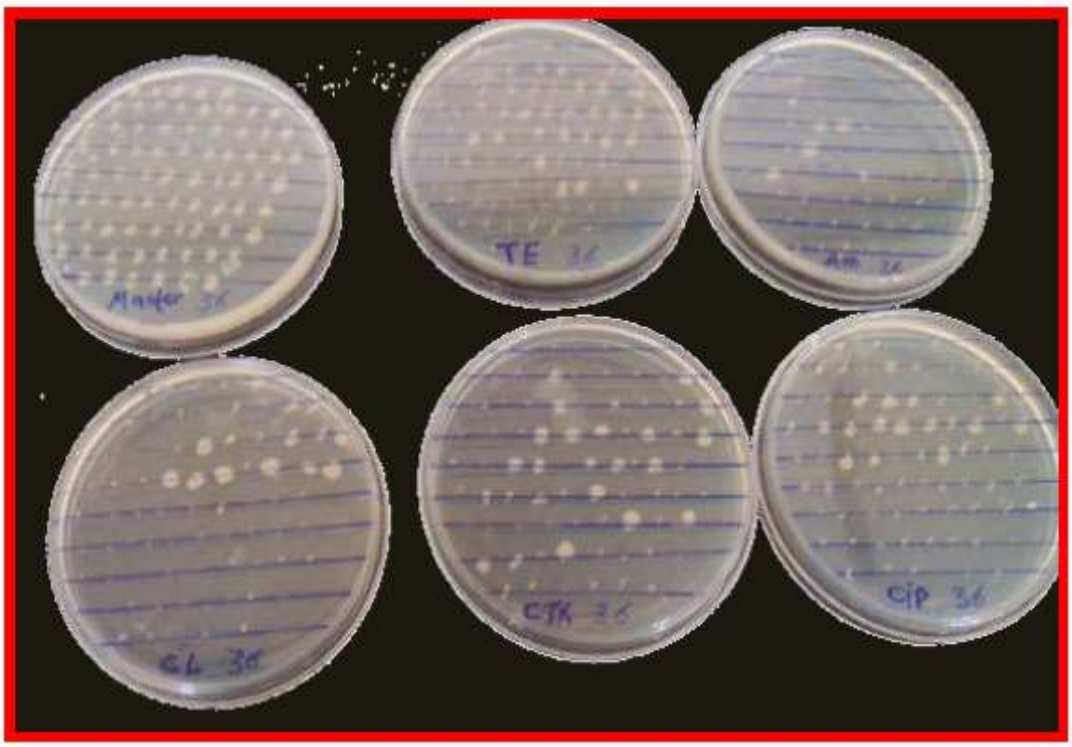
الجدول (4) : مقاومة العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية قبل وبعد التحييد

العزلات الجرثومية	مصدر العينة	المضادات الحيوية									
		TE		CIP		CTX		AM		CL	
		قبل	بعد	قبل	بعد	قبل	بعد	قبل	بعد	قبل	بعد
E. coil	خمج المعدة والامعاء	+	−	+	−	+	−	+	+	+	+
Citro.koseri	خمج الجروح	+	+	+	−	+	−	+	+	+	+
Citro.koseri	خمج المسالك البولية	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+
K.ornithinolyica	خمج المسالك البولية	+	−	+	−	+	+	+	+	+	+
P.mirabilis	خمج الجروح	+	−	+	+	+	+	+	+	+	+
Strept.pneumoniae	خمج ذات الرئة	+	−	+	+	+	−	+	−	+	+

R = مقاومة العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية.

S = فقدان مقاومة العزلات الجرثومية للضادات الحيوية.

TE=Tetracyclin , AM=Ampicillin ,CIP=Ciprofloxacin , CL=Cephalexin ,CTX=Cefotaxime



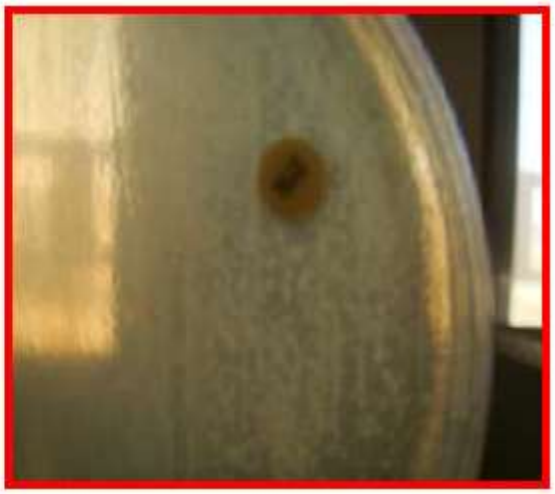
الصورة (1) تحييد البلازميدات باستخدام طريقة Pick and Patch

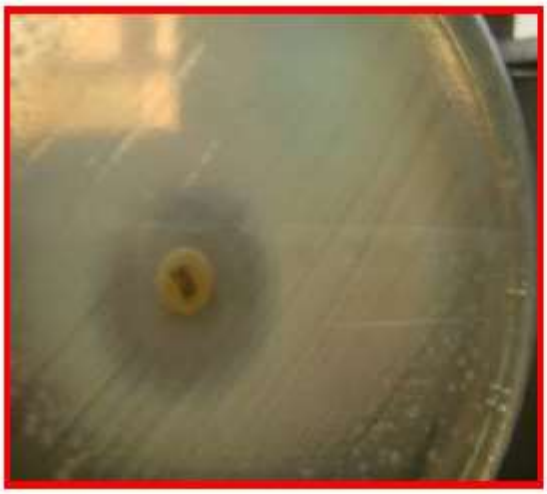
قبل التحييد بعد التحييد

الصورة (2) مقاومة النوع E.coil لمضادات Cefotaxime , Ciprofloxacin , Tetracycline قبل وبعد التحييد

قبل التحييد بعد التحييد

الصورة (3) مقاومة النوع C.koseri لمضادات Ciprofloxacin و Cefotaxime قبل وبعد التحييد



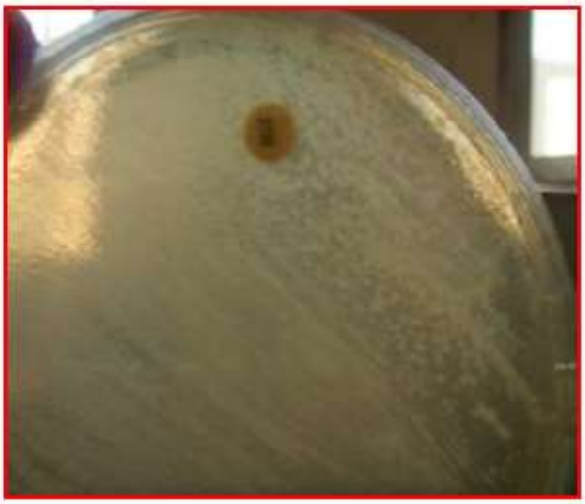


قبل التحييد بعد التحييد

الصورة (4) مقاومة النوع *C.koseri* لمضاد ال Tetracycline قبل وبعد التحييد

قبل التحييد بعد التحييد

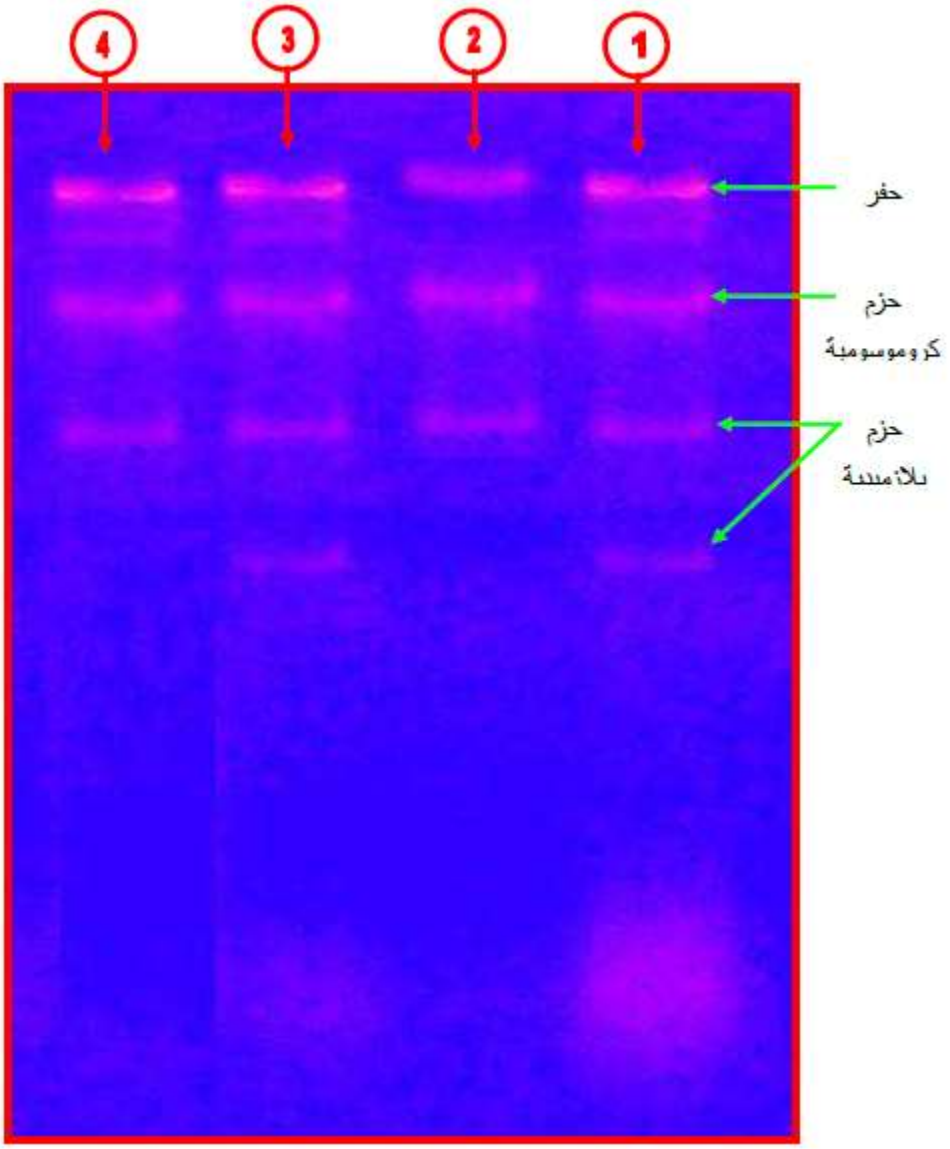
الصورة (5) مقاومة النوع ***K.ornithinolytica*** لمضادات Tetracycline و Ciprofloxacin قبل وبعد التحييد



قبل التحييد **بعد التحييد**

الصورة (6) مقاومة النوع *P.mirabilis* لمضاد ال Tetracycline قبل وبعد التحييد

تم دراسة المحتوى البلازميدي لبعض العزلات التي فقدت صفة المقاومة للمضادات الحيوية بعد التحييد وذلك لتقييم دور البلازميدات كعوامل وراثية مسؤولة بالدرجة الاساس عن التشفير للمضادات الحيوية وتعزيز نتائج التحييد . استخلص الـ DNA البلازميدي من العزلات الاصلية والعزلات المحيدة باستخدام طريقة التحلل القاعدي Alkaline lysis . وبينت النتائج اختلافاً في عدد الحزم البلازميدية في الانواع المدروسة وكما هو موضح في الصور (7) و(8) و(9) ويتضح من الصورة (7) احتواء العزلة الاصلية العائدة للانواع *E.coli* المعزولة من البراز و *K.ornithinolytica* المعزولة من الادرار على حزم من ال DNA البلازميدي ولم تظهر في العزلات المحيدة وهذا يدل على ان مقاومة مضادات الـ Tetracycline و Ciprofloxacin و Cefotaxime في *E.coli* هي بلازميدية ومحمولة على البلازميد نفسه كذلك الحال بالنسبة للـ*K.ornithinolytica* عدا مضاد الـCefotaxime الذي قد يكون كروموسومياً وليس بلازميدياً . اما الصورة (8) فتوضح احتواء العزلات الاصلية العائدة الى الانواع *Citro.koseri* و *P.mirabilis* المعزولة من الجروح على حزم من الـ DNA البلازميدي ، ولم تظهر هذه الحزم في العزلات المحيدة وهذا يدل على ان مقاومة مضادات Ciprofloxacin و Cefotaxime في العزلة العائدة الى *Citro.koseri* هي بلازميدية الموقع وكذلك مقاومة مضادات Tetracycline في العزلة العائدة الى *P.mirabilis* هي بلازميدية كما اكدتها نتائج الترحيل الكهربائي.بينما توضح الصورة (9) احتواء العزلات الاصلية العائدة للانواع *Citro.koseri* المعزولة من الادرار و *Strept.pneumoniae* المعزولة من القشع على حزم من الـDNA البلازميدي ، ولم تظهر هذه الحزم في العزلة العائدة الى *Strept.pneumoniae* بعد التحييد وهذا يدل على ان مقاومة مضادات Tetracycline و Cefotaxime و Ampicillin هي بلازميدية الموقع ومحمولة على نفس البلازميد اما بالنسبة للنوع *Citro.koseri* فلم نلاحظ أي فقدان للحزم البلازميدية وهذا يدل على ان الجينات المسؤولة عن مقاومة مضاد الـTetracycline كروموسومية الموقع أو محمولة على بلازميدات صغيرة الحجم لم تظهرها نتائج التحييد .وتبين من النتائج وكما هو موضح في الصور ان جميع العزلات الجرثومية التي كانت لها القدرة على فقد صفة المقاومة تمتلك نسقا بلازميديا واحدا والذي يمكن ان يكون مؤشرا وبائيا لانتشار هذه البلازميدات في بيئة المستشفى وان مثل هذه البلازميدات تكون من النوع الاقتراني الذي له القدرة على الانتقال من جرثومة الى اخرى حاملا صفة المقاومة للمضادات الى سلالات جرثومية اخرى عائدة الى النوع نفسه او حتى الى انواع جرثومية مختلفة .



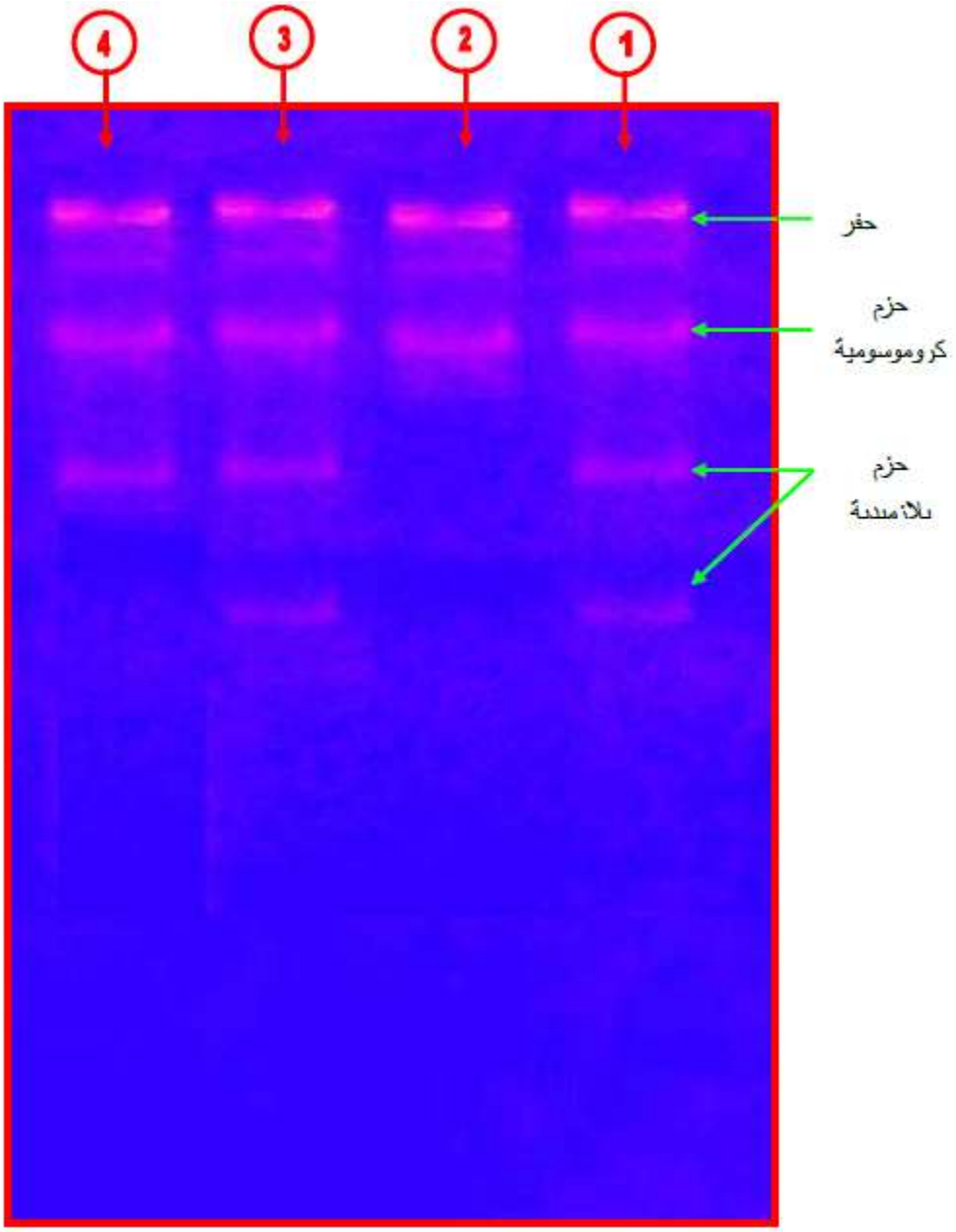
1= المحتوى البلازميدي لجرثومة E.coli قبل التحييد .

2= المحتوى البلازميدي لجرثومة E.coli بعد التحييد .

3= المحتوى البلازميدي لجرثومة K.ornithinolytica قبل التحييد .

4= المحتوى البلازميدي لجرثومة K.ornithinolytica بعد التحييد .

الصورة (7) الترحيل الكهربائي للمحتوى البلازميدي لجرثومة E.coli و K.ornithinolytica قبل وبعد التحييد



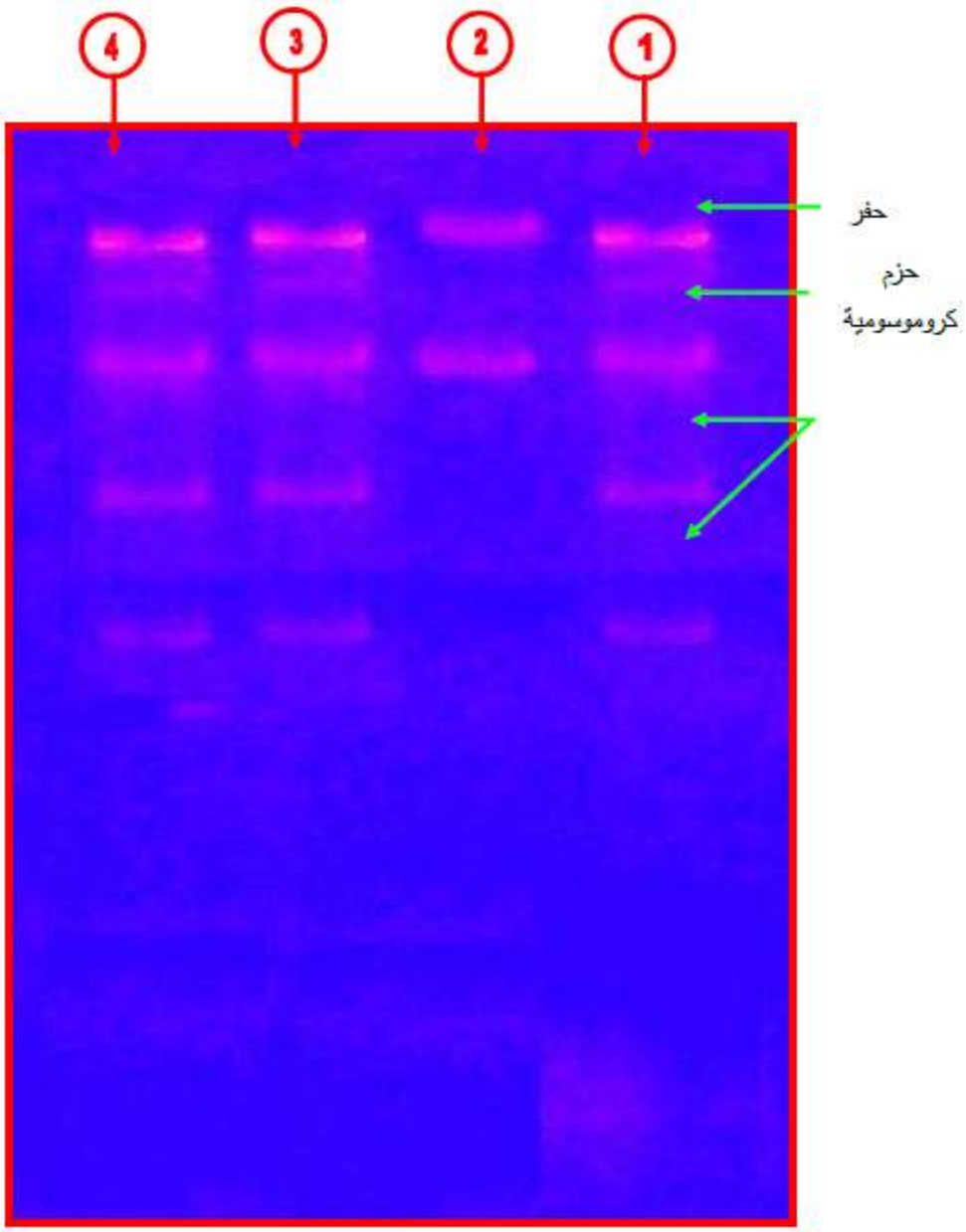
1=المحتوى البلازميدي لجرثومة C.koseri قبل التحييد .

2= المحتوى البلازميدي لجرثومة C.koseri بعد التحييد .

3=المحتوى البلازميدي لجرثومة P.mirabilis قبل التحييد .

4= المحتوى البلازميدي لجرثومة P.mirabilis بعد التحييد .

الصورة (8) الترحيل الكهربائي للمحتوى البلازميدي لجرثومة C.koseri وP.mirabilis قبل وبعد التحييد



1= المحتوى البلازميدي لجرثومة *S. pneumoniae* قبل التحييد .

2 = المحتوى البلازميدي لجرثومة *S. pneumoniae* بعد التحييد .

3 = المحتوى البلازميدي لجرثومة *C.koseri* قبل التحييد .

4 = المحتوى البلازميدي لجرثومة *C.koseri* بعد التحييد .

الصورة (9) الترحيل الكهربائي للمحتوى البلازميدي لجرثومة *C.koseri* و *P.mirabilis* قبل وبعد التحييد

المصادر

1- Garner , J. ; Jarvis , W. ; Emori , T. ; Horan , T. and Hughes , J.(1996).CDC definitions of nosocomial infection.APIC infection control and applied epidemiology , principles and practice .St.Louis & Mosby.A1-A20.

2- Orrett , F.A. ; Brooks , P.J. ; Richardson , E.G. and Mohammed , S.(1999).Pediatric nosocomial urinary tract infection at a regional hospital.Internat Urol Nephrol.31:173-179.

3-Rahman, M.H. , and Anson, J.(2004).Peri-operative anti-bacterial prophylaxis.The pharm J.272:743-745.

4-Black,J.G.(1996).Microbiology.Principles and Applications.3rd ed. Prentice Hall upper Saddle River , New Jersey pp.436-443.

5-Julia , M.M. Lopes ; Eugenio M.A. Goulart ; Arminda L. Siqueira ; Inara K. Fonseca ; Marcus V.S. de Brito ; Carlos E.F. Starling (2009) Nosocomial infection in Brazilian pediatric patients : Using adecision tree to identify high mortality groups. Brazilian Journal of Infectious Diseases.Vol. 13 No.2.

6- Tortora , Gerard, J. ; Funke , Berdell , R. ; Case , Christine , L .(2010). Microbiology An Introduction.20th ed. Benjamin Cumming's .

7- Brisse , S. ; Milatovic , D. ; Fluit , A.C. ; Verhoef , J. and Chmitz , F.J.(2004) Epidemology of Quinolone resistance of *klebsietta pneumoniae* and *klebsiella oxytoca* in Europe.J.Microbial Clin. 19(1):64-68.

8- Rolph, H. J. ; Lennon, A.I. ; Coldero, L. and Bagg, J.(2001). Molecular identification of microorganisms from endocardetic infections . J. clin . Microbiol . (39) : 3282-3289.

9- Ufomata , D.(2003).Bacteriological investigation of infected root canals in Beniu city , Nigeria west Africa.J.Med.(11):3:195-8.

10- Cruickshank , R. ; Duguid , J. P. and Swain , R.H.A.(1975) Medical Microbiology.12th ed . London and New York. Churchil Livingstone .

11- Collee,J.G. ; Faser , A.G. Marmion ; B.P. and Simmons , A . (1996) . Practical Medical Microbiology. 14th ed.Churchill Livingstone .

12- Ausuble , F. M.R. ; Brent , R.E.T. ; Kingston , D.D.; Moore. J. A. ;

13- Vandeppitt , J.; Engbaek , K.; Piot, P. and Heuch , C.C.(1991).Basik laboratory procedures in clinical Bacteriology.WHO.Geneva , Switzerland.

14- Trevors , J. T. (1986). Plasmid curing in bacteria. FEMS Microbial Rev, 32: 149-157.

15- Pospiech, T. and Neumann, T. (1995). Plasmid isolation by alkaline and potassium acetate priecipitation. In: preparation and analysis of genomic and plasmid DNA (Ed. Kiser T) Norwich. Uk.

16- Sambrook, J. , Fritsch ,E. F. and Maniatis, T. (1989). Molecular cloning : A Laboratory Manual. 2nd ed. cold spring Harbor Laboraytory Press cold spring Harbor, NewYork .

17- Jean-Louis Vincent; David; Peter M. Suter; Hajo A.Bruining; Jane White; Marie-Helene Nicolaschanion ;Michel Wolff ; Robertc ,Spencer ; Margaret Hemmer .(1995) .The Prevalence of Nosocomial infection care units in Europe. JAMA.274 (8) : 639-644.

18- Ishida , T. ; Nakano , K. ; Nakatani , H. and Gomi A.(2006). Bacteriological evaluation of cardiac surgery environment accompanying hospital relocation. Surg. Today .36:504-507.

19- Mangialotti , M.D.(2001) . The current studies of surveillance of resistance to antimicrobial agents. Report on melting .Journal of Antimicrobial Chemotherapy.49:17-23.

20- Weinstein , R.A.(1998).Nosocomial infection update Emerg . Infect Dis. 4:416-420.

21- Abussaud , M.J.(1991). Prevalence of nosocomail infection in Saudi Arabian teaching hospitals .J. Hosp. Infect. 17:235-238.

22- Stamm , W.E. (1998). Urinary tract infection .In : Hospial Infections. Edited by Bennett , J,V. and Brokman , P.S.4th ed .p.477-485. Lippicott.-Raven Publishers , Philadephia.

23- Kallel , H. ; Bahoul , M. ; Ksibi , H. ; Dammak , H. ; Chelly , H. ; Hamida , C.B. ; Chaari , A. ; Rekik , N. and Bouaziz , M.(2005).Prevalence of hospital acquired infections in a Tunisisan hospital. J. Hosp. Infect. 59:343-347.

24- Savas , L. ; Guvel , S. ; Onlen , Y. ; Savas , N. and Duran , N. (2006). Nosocomial urinary tract infections : micro-organisms , antibiotic sensitivities and risk factors .West Indian Med J. 55:188-193.

25- Emori, T. G. and Gynes, R. P. (1993). An overview of nosocomial infections including the role of the microbiology laboratory. Clinical microbiology Reviews. 6 (4) : 428-442.

26- Frankel , G. ; Phillips , A.D. ; Novakova , M. ; Field , H. ; Candy , D.C. ; Schauer , D.B. ; Douce , G, and Dougan , G. (1996). Intimin from enteropathogenic *Escherichia coli* restores murine virulence to a citrobacter rodentium eaeA mutant : induction of an immunoglobulin A response to intimin and EspB. American Society for Microbiology. 64(12) : 5315-5325.

27-Aqustin Ruiz-Gonzales, Miquel Falquera, Antonio Noques and manuel Rubio-caballero. (1999). Is streptococcus pneumonia the leading cause of pneumonia of unknown etiology? Amicrobiologic study of lung aspirates in consecutive patients with community- acquired pneumonia. The American Journal of medicine. 106 (4) : 385-390.

28- Alonsod velasco, E. ; verheul, F. M. ; Verhoef, J. abd snippe, H. (1995). *Streptococcus pneumonia*: virulence factors, pathogenesis, and vaccines. American society for Microbiology. 59 (4): 591-603 .

29- مفـتن ، فاطمــة شـغيث . (2000) . انتشــار وضــراوة بكتريــا الكليبسيلا المعزولة من التهابات المجاري البولية في الانسان ودراسة محتواها البلازميدي . رسالة ماجستير. كلية العلوم . جامعة تكريت .

30- الطائي ، انمار أحمد داؤد ; عبدالله ، باسمة أحمد والجبوري ، علي صالح حسين.(2007). حساسية ومقاومة الجراثيم المعزولة من الحروق للمواد العلاجية في مدينة الموصل.مجلة تكريت للعوم الصرفة.12(1):13-20 .

31-Poole,K.(2005). Aminoglycoside resistance in *Pseudomonas aeruginasa.A*nti.Agn.Chemo 49(2) : 479-487.

32-Levinson, W. and Jaw, E. (2000). A lange medical Book medical microbiology and immunology examination and board review. 6th ed. Mc Graw- hill. Pp: 122, 123, 124.

33- Nestor , E.W. ; Anderson , D. G. ; Roberts , C.J. ; Pearsall , N.N. and Nestetr , M.T.(2001)Microbiology A human perspective".3th ed. Mc. Fraw-Hill , Higher education, NewYork .

34- Wang, M.(2004). Activites of news Quinolones against *Escherichia coli* and *Klebsiellia pneumoniae* containing the plasmid-Mediated quinolone resistant determinate.J. Clin. Med. 48(4):1400-1401.

35-Salisbury,V.(1972). Two modes of curing transmissible bacterial plasmids . J. Gen.Microbiol . .70:443-452 .

36- Sonstein , S.A.(1972). Loss of the pencillinase plasmid after treatment of *Staphylococcus aureus* with sodium dodecyle sulfate.J. Bacterial. 109:262-265.

37-Dharmadhikari, S.M and Peshwe, S.A (2009). Molecular level studies on multiple antibiotic and serum resistance in UTI pathogens. Indian Journal of Biotechnology. 8: 40-45.

38- El-Mansi, M. ; Anderson, K. J. ; Inche, C. A. ; Knowles, L. K. and platt, D. J. (2000) Isolation and curing of the *klesiella pheumoniae* large indigenous plasmid using sodium dodecyl sulphate. Pub Med. Gov. 151 (3): 201-208.

39- Sabath , L.D. (1976). Mechanismes of resistance to β-lactam antibiotics in strains of staphylococcus aureus.Ann. Intern , Med. 79:339-344.

40- Jacoby , G.A. (1997). Extended-Spectrum B-Resistance To oxyimino –B-lactamase.J. Inf. Dis. Clin. North Amer. 11:875-887.

41- Thavasi, R. ; Apamadevi, K. , Jayalakshmi, S. and Balasubramania, T. (2007). Plasmid mediated antibiotic resistance in marine bacteria. Pub med. Gov.28 (3): 617-621 .

42- الطائي ، هادي عبد الرحمن رشيد.(2005) . دراسة بكترولوجية ، وراثية وجزيئية لبكتريا *Proteus mirabilis* المعزولة من التهابات المجاري البولية في بعض مستشفيات مدينة بغداد. اطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة المستنصرية .

Study The Resistance of some Bacteria at the Most Commonoly Isolated from Tikrit Teaching Hospital Infections to Antibiotics and their Relation with Plasmids

Waa'd M. Raoof[1] , Khalid O.Mohammed Ali[2] , Shaimaa A. Mohammed[3]

[1]*Science College , Tikrit univ , Tikrit , Iraq*
[2]*Medicin College , Tikrit Univ , Tikrit , Iraq*
[3]*Agriculture College , Tikrit Univ , Tikrit , Iraq*
etharwaad@yahoo.com

(Received: 10 / 6 / 2012 ---- Accepted: 10 / 4 / 2013)

Abstract

One hundred fourti samples were collected from hospitalized patients for three days or more in the Tikrit Teaching Hospital during the period from 1/8/2009 until 1/12/2009 to determine the most commonly isolated bacterial from nosocomial infections in Tikrit Teaching Hospital and their resistance to antibiotics and to study the relationship between antibiotics resistance and plasmid content in the most commonly isolated bacteria and to evaluate the prevalence of these plasmids in the hospital environment . These samples include : (75) Urine , (28) stool , (28) of wound swabs and (9) sputum samples .The incidence of nosocomial infection was (45.7%) of them, urinary tract infections were (50.7%) from (75) samples, followed by wound infections (42.9%) from (28) samples , gastrointestinal infections (39.3%) from (28) samples then pneumonia (33.3%) from (9) samples the nosocomial infections were more common in age group 51-89 years.Different bacterial species were isolated in this study and the results showed that the most commonly isolated type was *Citrobacter koseri* in a proporation (21%) of urinary tract infections, followed by the following bacterial species*: Escherichia coli* (15.7%), *Staphylococcus schleiferi* (10.5%) , *Staphylococcus epidermidis* (7,8%), *Proteus vulgaris*, *Staphylococcus saprophytica*, *Klebsiella ozaenae* , *Klebsiella ornithindytica* in aproportion (5.2%) for each, *Enterobacter aerogenes* , *Providencia stuartii* , *Staphylococcus warneri*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* in aproportion (2.6%) for each .*Citro. koseri* were also the most common in wound infections (25%), followed by the following bacterial species: *E.coli* (16.6%), *P.mirabilis* (16.6%), *Staph.schleiferi* , *P.vulgaris*, *Prov.stuartii* and *Prov.rettgeri* in aproportion (8.3%) for each.*Citro.koseri* were also the most common in the gastrointestinal tract infections in a proporation (36.3%) , followed by *E.coli* (18.1%), *S.flexneri* (18.1%), *P.mirabilisc*, *Prov.stuartii*, *Prov.alcalifaciens* in a proporation (9%) for each.. While *Strept.pneumoniae* was the most common (66.7%) in penemonia cases followed by *K.pneumoniae* (33.3%). The isolated bacteria were tested for antibiotics susceptibility and it has been found that most of these isolates showed high resistance to the studied antibiotics other than Agenus *Staph.scleiferi* was sensitive to Amikacin.Eleven of most commonly isolated bacteria which were multidrug resistant were chosen for the curing experiments using SDS to study the relationship of their plasmids with resistant to antibiotics. The results showed that the cured cells of *E.coli* lost their resistance to Tetracycline Ciprofloxacin and Cefotaxime which *Citro.koseri* lost their resistance to Tetracycline while *K. ornithinolytica* lost resistance to both antibiotics Tetracycline and Ciprofloxacin either P.mirabilis lost resistance only to Tetracyclin as well as *Strept.pneumoniae* lost their resistance to Cefotaxime , tracycline and Ampicillin. Which may mean that the genes responsible for resistance to these antibiotics are located on plasmids as proven by the results of electrophoresis. Electrophoresis results also showed that all studied bacterial isolates had the same plasmid profile which may regarded as an epidemiological pointer that plasmids are conjugative which have the ability to transfer antibiotic resistance to other bacterial strains of the same species or to other different bacterial species .