عزل وتشخيص بكتيريا *pseudomonas aeruginosa* من عينات سريرية مختلفة مع دراسة حساسيتها لبعض المضادات الحيوية .

عبير حمودي جبار
قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة القادسية
mjabar414@gmail.com

سيوف خوملن الرماحي
قسم علوم الحياة – كلية العلوم – جامعة القادسية
Syoof.alramahi@qu.edu.iq

الخلاصة:

تضمنت الدراسة جمع 360 عينة مرضية مختلفة من المرضى المراجعين والراقدين في مستشفيات مدينة الديوانية للمدة من شهر تشرين الثاني 2015 لغاية شهر اذار 2016 وقسمت العينات بحسب مصادر جمعها الى (169 مسحة أذن, 102 مسحة حروق , و89 عينة ادرار) .اظهرت نتائج الفحوصات الزرعية والكيموحيوية عائدية 50 عزلة لبكتيريا الزائفة الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* , وتم تاكيد تشخيصها باستعمال 16s-ribosomal RNA اذ بينت الدراسة احتواء العزلات جميعها على المورث 16s-ribosomal RNA التي تمثل المورثة التشخيصية المصممة في هذه الدراسة.اختبرت حساسية العزلات تجاه 7 انواع من المضادات الحيوية, اشارت نتائج الدراسة الى وجود مقاومة عالية نسبيا ابدتها بكتيريا *P. aeruginosa* تجاه اغلب المضادات المستخدمة في الدراسة باستثناء مضاد الاميبينيم اذ كانت نسبة المقاومة لهما اقل بين بقية المضادات وبلغت 10%, كما اظهرت الدراسة ان هنك 46عزلة (92%) مقاومة لمضاد واحد على الأقل من مضادات البيتالاكتام المستعملة في هذه الدراسة والمتمثلة بمضادات (الكاربنسيلين , البيرلسيلين , السيفوتاكسيم , السيفترياكسون, السيفيبيم ,الاميبينيم , والازتيريونام) اذ كانت اعلى نسبة للكاربنسيلين 92% , 74% , 88% , 82% , 80% , 10% , 68% على التوالي .

كلمات مفتاحية : بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* , مقاومة , المضادات الحيوية , مضادات البيتالاكتام

المقدمة

تعد بكتيريا *Pseudomonas. aeruginosa* واحدة من أكثر الانواع البكتيرية شيوعا وانتشارا في الطبيعة والمسببة لامراض كثيرة **(1)**. ان الاصابة بهذه البكتيريا ترتبط بصورة كبيرة مع معدلات الهلاك والوفيات إذا ما قورنت مع غيرها من مسببات الأمراض البكتيرية **(2)**.ان انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) هي مجموعة من الانزيمات التي تنتجها بعض الكائنات الحية الدقيقة، اذ تكون هذه الانزيمات قادرة على التحلل وبالتالي تسبب المقاومة للمضادات الحيوية مثل السيفالوسبورينات Cephalosporins و المونوباكتام Monobactams ، في حين لا يمكن أن يتحلل الكاربابينيم بكفاءة , و بصورة عامة لا تحمل انزيمات البيتالاكتاميز ESBLs على الكروموسوم البكتيري، بل تحمل على جزء مستقل من الحمض النووي DNAتسمى البلازميد.و يمكن للبلازميدات ان تحمل العديد من الجينات المختلفة عليها ولها القدرة على نقل نسخة منها الى بكتيريا اخرى **(3)**. هدفت الدراسة الى : عزل وتشخيص بكتيريا *Pseudomonas*

***البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الاول**

aeruginosa مع تحديد حساسيتها لبعض المضادات الحياتية.

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات: جُمعت 360 عينة ومن حالات سريرية مختلفة من مستشفيات مدينة الديوانية للمدة من شهر تشرين الثاني 2015 لغاية شهر اذار 2016 من المرضى المراجعين و الراقدين في المستشفى وباعمار مختلفة لكلا الجنسين , حيث استخدمت المسحات القطنية الحاوية على وسط ناقل Transport media swabs في عملية جمع العينات لضمان حيوية العزلة.

عزل البكتيريا: لغرض عزل بكتيريا *P.aeruginosa* لقحت الاوساط الزرعية اكار الدم Blood agar واكار الماكونكي MacConkey بمسحات العينات بطريقة التخطيط ثم حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م° لمدة 18-24ساعة , بينما حضنت الاطباق التي لم يظهر فيها نمو خلال 24 ساعة لمدة 24 ساعة اخرى قبل عدها نتيجة سالبة, و تم الكشف عن البكتيريا بالفحوصات الزرعية والكيموحيوية.

تشخيص البكتيريا: شخصت البكتيريا ومستعمراتها النامية اعتمادا على الخصائص المظهرية والتي تتضمن اشكال المستعمرات و لونها وسطح المستعمرة وقوامها ورائحتها وشفافيتها ونمط التحلل الدموي على وسط اكار الدم و تخمر سكر اللاكتوز على وسط اكار ماكونكي **(4)** كما شخصت مجهريا, اذ فحصت العينات وذلك باخذ مسحة من المستعمرات البكتيرية النامية على الاوساط الزرعية وتم تثبيتها وتصبيغها بصبغة كرام لملاحظة اشكال وترتيب الخلايا البكتيرية وتفاعلها مع الصبغة, كما اجريت الاختبارات الكيموحيوية **(7,6,5)** ومن ثم تم تاكيد تشخيصها باستعمال s-ribosomal RNA16 من الناحية الجينية وباستعمال تقنية تفاعل سلسلة البلمرة Monoplex PCR , لتشخيص بكتيريا *P. aeruginosa* باستخدام الجين 16S rRNA gene , و بعد استخلاص ال DNA باستعمال العدة المخصصة لهذا الغرض و ترحيله كهربائيا في هلام الاكاروز1% و الكشف عنه باستعمال صبغة الاثيديوم بروميد وفحصه تحت الاشعة فوق البنفسجية (UV),اظهرت نتائج الدراسة الحالية إحتواء جميع عُزلات بكتيريا *P. aeruginosa* على الجين S rRNA gene16 الذي يُمثّل المورثة التشخيصيّة لهذه البكتيريا والبالغ وزنها الجزيئي (510 bp) ومما يُثبت عائدية جميع العزلات 50عزلة لبكتيريا *P. aeruginosa*.

اختبار فحص الحساسية:

اختبرت الحساسية الدوائية للعزلات البكتيرية بطريقة الأقراص إعتماداً على طريقة **(8) و(9)** وتضمنت : نقل 2-4 مستعمرات من بكتيريا *P. aeruginosa* إلى أنبوب إختبار يحوي 5مل من مرق تربتون الصويا المغذي وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة 8 ساعات. خفف النمو الحاصل باستعمال محلول الملح الفسلجي ، تمت مقارنة النمو في الأنبوب مع أنبوبة ماكفرلاند (0.5) القياسية ، وغمست المسحة القطنية في مرق تربتون الصويا المزروع، وأزيل الفائض بالضغط على الجوانب الداخلية للأنبوبة , نشرت البكتيريا على وسط مولر-هنتون الصلب بطريقة التخطيط لأكثر من مرة ، وباتجاهات مختلفة لغرض التأكد من نشر البكتيريا المراد إختبار حساسيتها بالتساوي ، وتُركت الأطباق 15 دقيقة في درجة حرارة الغرفة لضمان إمتصاص الرطوبة، وُضعت أقراص المضادات الحيوية (

carbencillin,piperacillin,cefotaxime,ceftria xone,cefepime,imipenem, aztreonam).

بواقع خمسة أقراص في طبق قياس 100 ملي متر، و 12 قرص في طبق قياس150 ملي متر، والمسافة بين كل قرص وآخر 20 ملي متر من مركز القرص الأول إلى مركز القرص الآخر، حُضنت الأطباق في 37 مْ لمدة 18ساعة لجميع أنواع المضادات الحيوية، ثم قيست أقطار التثبيط باستعمال الفيرنيا وقورنت مع القيم القياسية المذكورة في (9) .

النتائج و المناقشة:

العزل و التشخيص .

تضمنت الدراسة الحالية جمع 360 عينة من حالات سريرية مختلفة في مستشفى الديوانية التعليمي ومستشفى النسائية و الاطفال خلال المدة من شهر تشرين الثاني 2015 ولغاية شهر آذار 2016 وكانت عملية جمع العينات بشكل عشوائي للتحري عن بؤر التلوث ببكتيريا *P. aeruginosa* وما يترتب على ذلك من إجراءات تشخيصية ووقائية وعلاجية ,شملت العينات السريرية حسب مصادر جمعها اخماج مختلفة منها اخماج الأذن الوسطى 169 مسحة وبنسبة 46.9 % والحروق 102 مسحة وبنسبة 28.3 % أما العينات المأخوذة من اخماج المسالك البولية 89 عينة مثلت نسبة 24.7 % .

توزعت العينات حسب جنس المريض إلى 198عينة من الذكور مثلت نسبة 55% من العينات و 162 عينة من الاناث بنسبة 45 % , من مجموع العينات مثلت عينات المرضى الوافدين نسبة 62.7 % إذ جُمعت 226 عينة في حين جُمعت 134 عينة من المرضى الراقدين في المستشفى وبنسبة 37.2% ,كما هو موضح في الجدول (1).

جدول (1) توزيع العينات السريرية حسب المصدر والجنس وحالة المرضى .

العينات	النوع	العدد	النسبة المئوية
المصدر	الأذن	169	46.9[a]
	الحروق	102	28.3[b]
	الإدرار	89	24.7[b]
الجنس	ذكور	198	55[a]
	اناث	162	45[a]
حالة المرضى	الوافدين	226	62.7[a]
	الراقدين	134	37.2[b]

من خلال نتائج العزل نلاحظ ان بكتيريا *P. aeruginosa* قادرة على أن تسبب مجموعة كبيرة من الأمراض المختلفة،سواء كانت الاصابة حادة ام مزمنة ويمكنها أن تغزو أي جزء من اجزاء الجسم ,حيث

يمكنها ان تهاجم اجهزة المناعة لدى الانسان كالجلد وتسبب تجرثم الدم Septicemia وتسبب تلفه , و الجهاز التنفسي ,والجهاز البولي حيث تسبب التهابات الجهاز البولي UTI **(10).**

كان الهدف الاساسي من جمع العينات هو عزل بكتيريا *P. aeruginosa* وتشخيص العزلات اعتماداً على الصفات المظهرية للمستعمرات النامية إذ ظهرت على وسط أكار الماكونكي شاحبة عديمة اللون لعدم قدرتها على تخمير سكر اللاكتوز الموجود في الوسط الزرعي ولها رائحة شبيهة برائحة العنب المتخمر بينما ظهرت مستعمراتها بلون غامق وأغلبها محاطة بهالة شفافة على وسط أكار الدم مما يدل على قدرتها على تحلل الدم .

أظهرت نتائج الفحص المجهري الخلايا البكتيرية المعزولة عصوية الشكل متحركة مفردة أو ثنائية الترتيب سالبة لصبغة كرام ومكونة للمحفظة. بينت نتائج الفحوصات الكيموحيوية نتائج موجبة لإختبار الأوكسيديز واختبار الكتاليز في جميع العزلات وذلك لقدرة البكتيريا على انتاج انزيمي الأوكسيديز والكتاليز . اما بالنسبة لمجموعة إختبارات IMViC والتي شملت اختبارات : (الأندول , احمر المثيل ,فوكس بروسكاور, واستهلاك السترات) , كانت النتيجة موجبة في اختبار استهلاك السترات فقط , اتصفت جميع العزلات بعدم قدرتها على انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين H2S وانزيم اليوريز و أنها غير مخمرة للسكروز واللاكتوز ,تم متابعة نمو البكتريا عند درجة حرارة 4م ،42م ، أذ زرعت البكتريا على الوسط المغذي الصلب وعمل مكررين لكل عزلة حضن الاول بدرجة 4م والاخر 42 م ، نمت جميع العزلات عند 42م وهي صفة تشخيصية مهمة تميز بكتريا *P. aeruginosa* عن باقي انواع جنس *Pseudomonas* spp ، ولم تنم العزلات عند حضنها بدرجة 4م .

اذ يبين الجدول (2) توزيع عزلات *P. aeruginosa* والعزلات السالبة والموجبة لصبغة غرام حسب مصدر جمع العينات, اذ كان عدد العزلات السالبة و الموجبة لصبغة غرام 121 عزلة وبنسبة تواجد 33.6 اما عدد العزلات الخالية من النمو البكتيري فقد بلغ 189عزلة وبنسبة 52.5% والتي ظهرت نتائجها السلبية بعدم وجود المستعمرات بعد زراعتها على الاوساط الزرعية وحضنها لمدة 24ساعة وبدرجة حرارة 37م° في الحاضنة.

جدول (2) النسب المئوية لعزلات *P. aeruginosa* والعزلات السالبة والموجبة لصبغة غرام حسب مصدر جمع العينات .

المصدر	العدد الكلي للعينات	عدد عزلات *P. aeruginosa*	عدد العزلات السالبة والموجبة لصبغة كرام	عدد العينات الخالية من النمو البكتيري
الأنف	169	26 ^{Aa} (15.3%)	53^{Ab} (31.3 %)	90^{Ac}(53 .2 %)
الحروق	102	14^{Aa} (13.7 %)	36^{Ab}(35.2 %)	52^{Ac}(50.9 %)
الإدرار	89	10^{Aa}(11.2 %)	32^{Ab}(35.9 %)	47^{Ac}(52.8 %)
المجموع	360	50^{a} (13.8 %)	121^{b} (33.6 %)	189^{c}(52.5 %)

انتشار وتوزيع بكتيريا *P. aeruginosa* في العينات السريرية:

بلغ عدد عزلات بكتيريا *P. aeruginosa* 50 عزلة من مجموع 360عينة وبنسبة تواجد بلغت 8.13 % جدول (2) ,جاءت نتائجنا مقاربة لما توصل اليه **(11)** حيث بلغت نسبة عزلاته12.8% في مدينة الديوانية,و مقاربة لما سجله **(12)** و بنسب عزلات بلغ 14.2% ايضا في مدينة الديوانية ,وايضا مع نتائج **(13)** حيث بلغت نسب عزلاته 18% ,و مع ما توصل اليه **(14)** بنسب عزلات 18.3% في مدينة الناصرية ,ومقاربة ايضا لنتائج **(15)** وبنسبة عزل 18.2%في مصر,

أظهرت نتائج دراستنا أن أعلى نسبة عزل لبكتيريا *P. aeruginosa* كانت من اخماج الأذن الوسطى بنسبة 15.3 % جدول (2) , وهي مقاربة مع ماتوصل اليه **(12)** , حيث اشار الى ان نسبة عزل هذه البكتيريا كانت 16.6% من اخماج الأذن الوسطى في مستشفيات الديوانية , وفي دراسة اخرى في مدينة الديوانية اجراها **(11)**, وكانت النتائج مقاربة الى ما حصل عليه اذسجل نسبة عزل 12.5 % ,في حين توصل **(14)** , بان نسبة عزل بكتيريا *P. aeruginosa* من اخماج الأذن الوسطى بلغت 25% في مستشفيات الناصرية . وقد تم عزل البكتريا من اذن الطفل المصاب **(16)**, ان امراض الاذن المزمنة اصيبت بها البشرية منذ زمن بعيد,الى يومنا هذا والاصابة تؤدي الى مضاعفات و تعقيدات متنوعة فالمختصين في مجال امراض الاذن منذ عدة سنوات حاولوا ان يضعوا او يؤسسوا مصطلحات عامة لوصف الاعراض السريرية و المرضية لالتهاب الاذن الوسطى والمتسبب بواسطة بكتيريا *P. aeruginosa* **(17)**.

بعد ذلك تاتي اخماج الحروق والتي بلغت نسبة عزل بكتيريا P. aeruginosa منها 13.7 % جدول (2) , كانت النتائج مقاربة الى ما توصل اليه (12) , اذسجل نسبة عزل 13.2% من اخماج الحروق , و قريبة لما سجله **(14)** , اذ أشار إلى إن نسبة عزل البكتيريا كانت 16.2 % من اخماج الحروق , اما **(15)** ,فقد سجلوا أعلى نسبة عزل 72% من اخماج الحروق, في حين كانت النتائج التي حصل عليها **(11)** لعزلات البكتيريا من اخماج الحروق قد بلغت 23.6.

وقد بينت الدراسات ان معدل حدوث الاصابة في مرضى الحروق هو متزايد نتيجة لعوامل مختلفة مثل طبيعة الحروق نفسها، والحالة المناعية للمريض **(18)**، وعمر المريض ومدى الإصابة، وعمق الحرق بالاضافة الى العوامل الميكروبية مثل نوع وعدد الكائنات الحية، إنتاج الانزيم و السموم، و موقع استعمار الجروح و الحروق ,ومن ثم الغزو النسيجي من قبل الكائنات المستعمرة **(19)**. اوضحت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة عزل *P. aeruginosa* من التهابات المسالك البولية بلغت 11.2% وهذه النسبة مقاربة مع ما توصل اليه **(12)** و **(11)** حيث اشارا الى ان نسب عزل البكتيريا من الادرار كانت 10% , 10.49% على التوالي , ومقاربة ايضا لنتائج **(14)** وبنسب عزل 8.9% ,في حين بلغت نتائج **(13)** في عزل البكتيريا من الادرار 19.3%. اذ تعد بكتيريا *P. aeruginosa* الممرض الثاني والاكثر ترددا بين البكتيريا السالبة لصبغة كرام بنسبة 16.3% للمرضى الذين يعانون من اخماج المسالك البولية في الولايات المتحدة **(20)** .

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية :

تم اختبار حساسية 7 انواع من المضادات الحيوية تجاه بكتيريا *P. aeruginosa*, اذ اختيرت هذه المضادات لشيوع استعمالها في معالجة بعض الأخماج الناتجة عن الإصابة ببكتيريا *P. aeruginosa* والجدول (3) يوضح نسب المقاومة والحساسية وما بينهما لهذه البكتيريا تجاه المضادات المستعملة وبالإعتماد على نتائج الفحص (قياس قطر منطقة التثبيط حول قرص المضاد الحيوي) ومقارنتها مع الجداول القياسية وبحسب ما جاء في **(9)** , وذلك لمعرفة مدى مقاومة البكتيريا للمضادات

الحيوية المستعملة في مستشفيات مدينة الديوانية وخطورة تلك المقاومة.

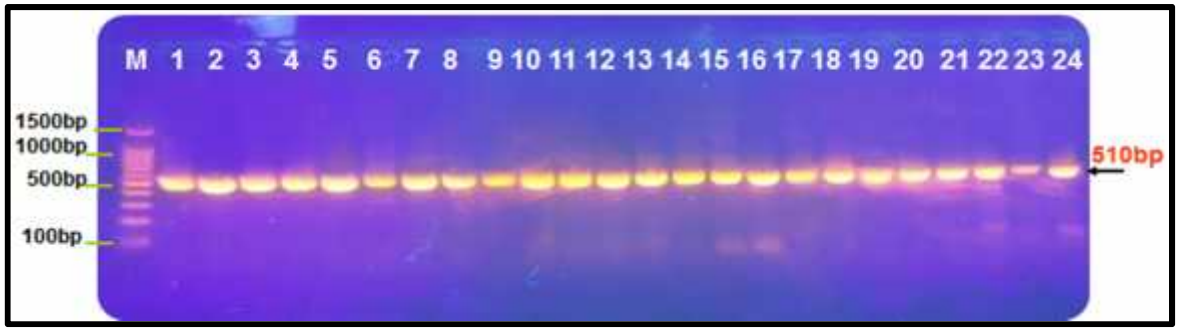
جدول (3) النسب المئوية لعزلات *P. aeruginosa* الحساسة و المتوسطة الحساسية والمقاومة للمضادات الحيوية قيد الدراسة .

ت	المضادات المستخدمة	العزلات الحساسة		العزلات متوسطة الحساسية		العزلات المقاومة	
		العدد	النسبة%	العدد	النسبة%	العدد	النسبة%
1	Carbencilin	0	0	4	8	46	92
2	Piperacilin	10	20	3	6	37	74
3	Cefotaxime	4	8	2	4	44	88
4	Ceftriaxone	8	16	1	2	41	82
5	Cefepime	4	8	6	12	40	80
6	Imipenem	38	76	7	14	5	10
7	Azteronam	10	20	6	12	34	68

يتضح من الجدول (3) ان هنالك مقاومة عالية نسبيا ابدتها عزلات بكتيريا *P. aeruginosa* تجاه مضادات البيتالاكتام, اذ وجد ان 92% من العزلات مقاومة لمضاد الكربنيسيلين الذي يعود لصنف البنسلينات وفي دراسة نشرها سالم (2014) في مدينة الديوانية كانت النتائج مقاربة لما توصلنا اليه اذ سجلت المقاومة بنسبة 92% بينما في دراسات اخرى قام بها كلا من **(14)** و **(13)** كانت نسب مقاومة البكتيريا للمضاد 75.4% , 64% , على التوالي, ويمكن تفسير مقاومة العزلات لمضاد الكربنيسيلين بالمقاومة الطبيعية natural resistance المعروفة لهذه البكتريا تجاه البنسلينات **(21).**

وبلغت نسبة المقاومة لمضاد البيبراسيلين في الدراسة الحالية والذي يعود للصنف نفسه 74% في حين كانت نتائج **(22)** قد بلغت نسبة المقاومة للمضاد 55.17% ,كما سجل **(14)** نسبة مقاومة 84% لمضاد البيبراسيلين. يعتمد المدى الواسع لمقاومة بكتيريا ***P. aeruginosa*** على ميكانيكيات مختلفة منها ما يشفر له كروموسوميا او بلازميدياً. كما ان معظم المقاومة التي تظهرها

البنسلينات هي اما عن طريق انتاج انزيمات البيتالاكتاميز المحفزة او المستحثة. كما تمتاز هذه البكتريا بقدرتها على تغير الفتها للبروتينات الرابطة للبنسلينات (PBPs) والتي تقع في الغشاء السايتوبلازمي المرتبط بجدار الخلية، كما يمكن ان تستخدم نظام الدفق (Mex-AB-Oprm) والذي يعبر عنه بصورة مستحثة لطرح جزيئات المضاد خارج الخلية البكتيرية**(23)**. أظهرت الدراسة الحالية إن هنك ارتفاعا بالمقاومة التي ابدتها عزلات *P. aeruginosa* تجاه الجيل الثالث من السيفالوسبورينات المتمثلة بالسيفوتاكسيم والسيفترياكسون 88% و(82%) لكل منهما و80% لمضاد السيفيبيم, تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه **(24)**, اذ كانت نسب المقاومة هي 93% , 99% , 98% لمضادات السيفوتاكسيم و السيفترياكسون و السيفيبيم على التوالي,و مع ما توصل اليه **(11)** بالنسبة لمضادي السيفوتاكسيم و السيفترياكسون وبنسب مقاومة 84% و 80% على التوالي, بينما دراسة اجريت في ولاية كاتماندو من قبل **(22)** كانت نسبة مقاومة مضاد السيفترياكسون 68.96% , , اما بالنسبة لمضاد السيفيبيم فقد كانت نتائج الدراسة الحالية مقاربة لما توصل اليه **(13)**, اذ سجل نسبة مقاومة 80% لمضاد السيفيبيم , لشارت نتائج الدراسة الحالية الى ان نسبة مقاومة عزلات بكتيريا *P. aeruginosa* لمضاد الاميبينيم 10%, والذي يعود لمجموعة الكاربابينيم ويعد العلاج الامثل للاصابات التي تسببها بكتيريا *P. aeruginosa*, اذ اظهر اعلى نسبة حساسية واقل نسبة مقاومة تجاه البكتيريا . تقاربت نتائج الدراسة الحالية ايضا مع ما توصل اليه **(14)**,اذ سجل نسبة مقاومة 9.2%, اظهرت بكتيريا *P. aeruginosa* مقاومة عالية لمضاد الازتيرونام قد بلغت 68% وهو مضاد يعود لصف المونوباكتام, والتي تمتاز بكونها فعالة تجاه البكتيريا السالبة لصبغة غرام **(25)**, تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع ما توصل اليه **(11)**,اذ وجد ان نسبة مقاومة البكتيريا لمضاد ازتيرونام 70% , , في حين توصل كلا من **(26)** و**(27)** ,بان نسبة المقاومة لمضاد الازتيرونام 42.9%, 2.2% على التوالي.



شكل (1): الترحيل الكهربائي لنواتج الاكروز والحاوي على نتائج فحص PCR لجين ال 16SrRNA gene الخاص بتشخيص بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa*. باستعمال تقنية ال(PCR) . باستخدام تيار 80 امبير و100 فولت لمدة ساعة واحدة.

المصادر References:

1-**Bojary**, N.M.R. and M. Hajia,(2012).Multidrug- resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains in Tehran Reference Burn Hospital, Tehran,Iran. African Journal of Microbiology Research,6: 1393-1396.

2- **Brusselaers**, N.; Vogelaers,D. and Blot,S.(2011). The rising problem of antimicrobial resistance in the intensive care unit. Annals Inten. C., 1:47.

3- **Peirano,** G.and Pitout, J.D.D.(2010).Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M β-lactamases: the worldwide emergence of clone ST131 025:H4. International journal of Antimicrobial Agents, 35(4):316-321.

4- **Winn,** J. W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006). Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 6th ed., Lippincott–raven Publishers. Philadelphia, PP: 239–270. USA.

5- **Brown,** A . (2007). Bensons Microbiological application laboratory manual in general microbiology . McGraw –Hill Co.INC. USA . P:102 -263.

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

7- **Collee,** J. G.; Fraser, A. G.; Marmiom, B. P. and Simmon, A. (1996). Mackie and McCarteny, Practical Medical Microbiology. 4th ed. Churchill Livingstone inc.; USA.

8- **Bauer,** A. W.; Kirby, W. M. M.; Sheris, J. C.; and Truck, M.(1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 45: 493 – 496.

9-**Clinical** and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2012). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 22ed. Informational Supplement. 32(3).

10-**Selezska**, K. and Ukraine, K. (2010). *Pseudomonas aeruginosa* population structure revisited under environmental focus. der Technischen Universität Carolo-Wilhelmina., 1-106.

11- **سالم** , رنا مشعل. (2014). انتشار انزيمات البيتالاكتاميز نوع OXA بين بكتيريا الزوائف الزنجارية والمعزولة من مشتشفيات محافظة الديوانية . رسالة ماجستير , كلية العلوم - جامعة القادسية.

12-**داخل** ,زينب فالح (2015). التحري عن بعض الجينات المقاومة للامينوكلايكوسيدات والكينولينات في بكتريا Pseudomonas aeruginosa المعزولة من

مصادر سريرية مختلفة في مدينة الديوانية. رسالة ماجستير ,كلية العلوم – جامعة القادسية.

13- **حران** , عمر حسين. (2012). التحري عن جينات المقاومة لمضادات البيتالاكتام من البكتيريا المعزولة من بعض الإصابات السريرية في محافظة الديوانية . رسالة ماجستير , كلية العلوم - جامعة القادسية .

14-**Abdul-Wahid,** A. A . (2014). Dissemination of Aminoglycosides Resistance in *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in Al-Nasseryia Hospitals. M.Sc. Thesis. College of Medicine. University of Kufa .

15- **Gad,** G. F.; El-Domany, R. A.; Zaki, S. and Ashour,H. M. (2007). Characterization of Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical and environmental samples in Minia, Egypt: prevalence, antibiogram and resistance mechanisms . Journal of Antimicrobial Chemotherapy., 60: 1010-1017.

16- Dohar, J. E. ; M. A. Kenna and R. M. Wadosky (1996). In Vitro Susceptibility of Actual Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* to Commonly Used Ototopical Antibdies. American Journal Of Otology. 17 (2) : 207 – 209.

17- **Goycoolea,** M. and Ruah, L.(1991) .Definitions and Terminology .Otol Clin.of North Am .,24:757- 761.

18- **Pruitt**, B.A.; McManus, A.T.; Kim, S.H.; and Goodwin, C.W. (1998).Burn wound infections: current status. World J Surg., 22: 135-145.

19- **Magnet**, MD. M. H.; Arongozeb, MD.; Khan,G. M.; and Ahmed, Z. (2013). Isolation and identification of different bacteria from different types of burn wound infection and study their antimicrobial sensitivity pattern. International Journal of Research in Applied, Natural and Social Sciences., 1(3) :125-132.

20- **Gaynes**, R. and Edwards, J. R. (2005). Overview of nosocomial infections caused by Gram-negative bacilli. Clin. Infect. Dis., 41:848-854.

21- **Ibezim,** E. C.(2005). Microbial resistance to antibiotics. African Journal of Biotechnology. In burn patients.Burns, 28(1).Isolates Causing 4(13): 1606-1611.

22- **Anil,** C. and Shahid, R. M. (2013). Antimicrobial susceptibility patterns of *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates at a tertiary care hospital in Kathmandu, Nepal. Asian J Pharm Clin Res., 6(3) : 235-238.

23- **Livermore,** D. M. and Brown, D. F. J. (2005). Detection of β-lactamase mediated resistance. Retrieved 31.

24- **EL-Mosallamy**, W. A., E.; Osman, A. S.; Tabl, H. A., E.; and AL-Tabbakh, A. M. (2015). Phenotypic and Genotypic Methods for Detection of Metallo-Beta-

Lactamase (MβL) Producing *Pseudomonas aeruginosa*. Egyptian Journal of Medical Microbiology., 24(3) : 27-35.

25- **Bush,** K. 1988. -Lactamase inhibitors from laboratory to clinic. Clin. Microbiol. Rev. 1:109–123.

26- **Du , S**. J. ; Kuo, H. C. ; Cheng, C. H. ; Fei, A.C.Y. ; Wei, H. W. ; and Chang, S. K. (2010). Molecular mechanisms of ceftazidime resistance in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from canine and human infections. Veterinarni Medicina, 55(4): 172-182.

27- **Tirodimos**, I.; Arvanitidou, M.; Dardavessis, T. ; Bisiklis, A.; and Alexiou-Daniil , S. (2010). Prevalence and antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from swimming pools in northern Greece . Eastern Mediterranean Health Journal., 16 (7) : 783-787.

Diagnosis of *pseudomonas aeruginosa* using PCR technique and determining their sensitivity to some antibiotics.

Abeer Hamoodi Jabbar **Syoof Khowman. Alramahy**

Biology Department - College of Sciences - University of Al-Qadisiyah

mjabar414@gmail.com Syoof.alramahi@qu.edu.iq

Abstract

The study included the collection of pathological specimens from various sources by 360 sample of hospitals in AL- Diwaniyah city for the period of November 2015 to March 2016 and the samples divided, according to collected sources to (169 swab ear 0.102 swab burns, and 89 sample urine), results of cultural and biochemical tests showed that 50 isolate belong to Pseudomonas aeruginosa , tested the sensitivity of the isolates to 7 type of antibiotics, the study results indicated the presence of a relatively high resistance shown by *P. aeruginosa* to most antibiotics used in the study except Imipenem as Least resistance ratio among the rest of antibiotics 10%, as the study showed that there are 46 isolated (92%) are resistant to at least one of the used β-lactam antibiotics in this study that represent (Carbencilin, Piperacilin, cefotaxime, ceftriaxone, cefepime, Imipenem, and Azteronam) that they were the highest percentage of Carbencilin (92%,74% ,88% ,82% ,80% ,10% ,68%) respectively.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, resistance, antibiotics, β-lactam antibiotics.

*The Research is a part of on MS.C. Thesis in case the first researcher