*تشخيص بكتريا *Proteus mirabilis* بأستخدام تقنية الـPCR وتحديد حساسيتها لبعض المضادات الحياتية.

نـهى جواد السعيدي
قسم علوم حياة-كلية العلوم-جامعة القادسية
njnjnj.hu4@gmail.com

سيوف خومان الرماحي
قسم علوم حياة-كلية العلوم-جامعة القادسية
Syoof.alramahi@qu.edu.iq

الخلاصة

تناولت الدراسة جمع عينات من الحالات السريرية المختلفة بواقع 185 عزلة من مستشفيات مدينة الديوانية خلال المدة من تشرين الاول 2015 لغاية نيسان 2016 وقسمت العينات بحسب مصادر جمعها الى خمس مجموعات (46 مسحة أذن, 42 مسحة حروق , 37 عينة البراز, و59 عينة ادرار, 1 عينة دم) , اذ اظهرت نتائج الفحوصات الزرعية والكيموحيوية عائدية 69عزلة لبكتيريا *P.mirabilis* , وتم تأكيد تشخيصها بوساطة api 20E واستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل PCR.اختبرت حساسية عزلات *P.mirabilis* تجاه 15 نوعاً من المضادات الحياتية بطريقة انتشار الاقرص, والعائدة لعشرة اصناف من المضادات الحياتية , اذ بينت نتائج اختبار الحساسية الاولي لعزلات لبكتيريا *P.mirabilis* , أن نسبة المقاومة بكتريا *P.mirabils* لمضادات البيتالاكتم المتمثلة بمضاد الاموكسيلين Amoxicillinنسبة المقاومة 84.05% , اما مقاومة البكتريا لمضاد الامبسلين Ampicillin بنسبة84.05%, أما الاموكسيلين- كلافيولانك أسد Amoxicillin/cluvanic acid بنسبة47.82 % ,أما التيكراسيلين Ticarcillin ومضاد السيفتازيديم Cefatozidime كانت نسبة المقاومة لهما 66.66% , السيفوتاكسيم Cefotaxim بنسبة 53.62%,الميروبنيم Meropenem بنسبة 5.6%., أما نسبة المقاومة لمضادات الأمينوكلايكوسيدات المتمثلة بمضادالأميكاسين Amikacinبنسبة 17.39%, مضاد الجنتامايسين Gentamicin بلغت 33.33%, مضادات الكوينولينات Quinolones المتمثلة بحامض النالديكسيك Nalidic acid بنسبة 75.36%, اما مضاد السبروفلوكساسين Ciprofloxacin فسجل اقل نسبة مقاومة 4.34%, سجل مضاد الترايميثوبريم Trimethoprim نسبة مقاومة 75.36% , أما الكلورامفينيكول Chloramphenicol سجل نسبة مقاومة عالية 82.60%, وكذلك كل من مضاد التتراسايكلين Tetracycline بنسبة 82.60%, ومضاد الريفامبين Rifampin بنسبة 91.30%.

***الكلمات المفتاحية :مقاومة ,المضادات الحياتية ,المتقلبات.**

***البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الثاني .**

المقدمة

تعد بكتيريا *Proteus mirabilis* واحدة من اهم الانواع البكتيرية السالبة لصبغة گرام التي تنتمي للعائلة المعوية ولهذه البكتريا اهمية كبيرة في تفشي العدوى المكتسبة من المستشفيات

Nosocomial infections [1,2] . كما وتعد من الممرضات الاكثر شيوعاً التي تسبب الاخماج المكتسبة من المجتمع Community acquird infections , ولكونها بكتريا انتهازية Opportunistic لذا فهي تسبب الكثير من الاصابات المرضية عندما تتواجد في غير بيئاتها الطبيعية [2,3] .ان مقاومة العزلات بكتريا *P.mirabilis* ولاسيما المقاومة المتعددة للمضادات الحياتية multi drug rsistance اصبحت مشكلة متزايدة مع الزمن بالاضافة الى ان انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف يكون متزامناً مع المقاومة المتعددة للمضادات الحياتية [4]. إن إنزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف تنتج من قبل البكتريا السالبة لصبغة كَرام أذ تمنح البكتريا التي تنتجها زيادة في مقاومة المضادات الحياتية شائعة الاستخدام ومنها مضادات البيتالاكتم [5] .وبالنظر لاهمية المضادات الحياتية وتفشي مقاومة البكتريا للمضادات وخصوصا الشائعة الاستخدام وعلية تناولت الدراسة مقاومة المضادات الحياتية لبكتريا *P.mirabilis* المعزولة من مستشفيات مدينة الديوانية لتفادي مقاومة البكتريا للمضادات الشائعة واستخدام العلاج المناسب.

المواد وطرق العمل :

جمـــــع العينـــــات

تضمنت الدراسة الحالية جمع 185عينة من الحالات السريرية خلال فترة من تشرين الاول 2015الى نيسان 2016من المرضى المصابين بأعمار مختلفة لِكِلا الجنسين من مستشفيات في محافظة الديوانية شملت مستشفى الديوانيه التعليمي ,مختبر الصحه العامه ,مستشفى النسائيه والتوليد , مركز الحروق التخصصي في الديوانيه ,كما وحرص اثناء جمع العينات على استخدام المسحات القطنية الحاوية على وسط ناقل Transport media swabs في عملية جمع العينات لضمان حيوية العزلة.وبعد ذلك اجريت الاختبارات الكيموحيوية بذلك شخصت 69عزلة تعود لبكتريا *P. mirabilis* وتم تأكيدها ب بأستخدام API-20A وثم شخصت بواسطة تقنية PCR .

تشخيص البكتريا المعزولة

شُخصت مستعمرات بكتريا *P.mirabilis* مبدئياً اعتماداً على الصفات المظهرية لها من حيث شكل وحجم ولون المستعمرات. إذ تم التركيز على المستعمرات التي تميزت بظاهرة الانثيال لبكتريا *P.mirabilis* على وسط اكار الدم. كذلك ظهرت بمستعمرات شاحبة غير مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط اكار الماكونكي.أذ تم دراسة اشكال المستعمرات النامية وخصائصها المزرعية والنمو أو عدم النمو على الأوساط التفريقية . كما وشخصت عن طريق الفحوصات الكيموحيوية ومنها الكتاليز ,الاوكسديز ,اليوريز, انتاج الغاز,تخمر السكريات ,واختبار الجيلاتينيز , واختبارات IMViC . [6].

إختبار فحص الحساسية

اخذت 2-4 مستعمرات من بكتيريا *P.mirabilis*إلى أنبوب إختبار يحوي 5مل من من مرق نقيع القلب والدماغ وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة 8 ساعات. خفف النمو الحاصل باستعمال

محلول الملح الفسلجي حصول على درجة عكوره مماثلة إلى عكورة أنبوبة لـ ماكفرلاند 0.5 القياسية ، وغمست المسحة القطنية بالوسط الزرعي المخفف ونشرت البكتيريا على وسط مولر- هنتون الصلب بطريقة التخطيط لأكثر من مرة وباتجاهات مختلفة ، وتُركت الأطباق 5 قائق في درجة حرارة الغرفة لضمان إمتصاص الرطوبة، ثم وُضعت أقراص المضادات الحيوية ، حُضنت الأطباق في 35 مْ لمدة 18 ساعة لجميع أنواع المضادات الحياتية، قرُأت النتائج بقياس أقطار التثبيط بأخذ قطرين متعامدين وقورنت النتائج مع قياسات عالمية بحسب ما جاء في(7).

النتائج والمناقشة:

بلغت نسبة عزلات بكتريا 45.94% التي تم الحصول عليها من مجموع 185من العينات السريرية ومنها عينات الادرار بنسبة 10.81%,عينات الاذن الوسطى بنسبة 6.48% ,عينات التهابات الحروق 9.72%,عينات البراز13.51%, سجلت عينات تجرثم الدم اقل نسبة في الحصول على المتقلبات في العينات السريرية بنسبة 0.54% . كماهو موضح بالجدول (1) كما وبين نسبة عزل البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كَرام التي كانت 42.16% أما عدد العينات الخالية من النمو فكانت بنسبة 11.89%. اكدت الدراسات ان اسباب التلوث البكتيري في المستشفيات إما أن يكون بشكل ذاتي حيث تمثل هذه البكتريا جزء من الفلورا الطبيعية أوقد تكتسب من استعمال المرضى للصحيات أو عن طريق الأشخاص المرافقين للمريض وبشكل عام فأن الهواء والمياه والأطعمة والأيدي جميعها تسهم في انتقال العدوى من شخص لآخر وسوف يؤدي الى توسع دائرة انتقال البكتيريا[8].

جدول(1) **النسب المئوية للبكتريا المعزولة حسب مصادر عزلها.**

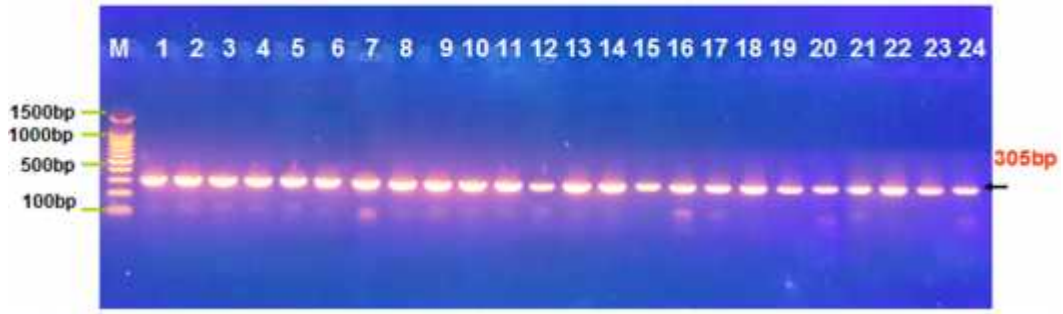
مصدر العزلات	العدد الكلي للعينات حسب مصدرها	No growth	عدد العزلات لبكتريا السالبة والموجبة	عددعزلات بكتريا *Proteus Spp*
الادرار	(31.89)59	(%4.86)9	(%16.21)30^{Aa}	(%10.81)20^{Aa}
الاذن	(24.86)46	(%2.70)5	(%10.8)20^{ABa}	(%6.48) 21^{Aa}
الحروق	(22.70)42	(%3.24)6	(% 9.)18^{ABa}	%(9.72)18^{Aa}
البراز	(%20)37	(%1.08)2	(%5.40)10^{Ba}	(%13.51)25^{Aa}
دم	(%0.54) 1	(%0)0	(%0)0^{Ca}	(%0.54)1^{Ba}
المجموع	(%100)185	(11.89)22	(%42.16) 78	(%45.94)85

- **ان قيمة مربع كاي X^2 المحسوبة 29.748 اكبر من الجدولية X^2 28.869 إذاً توجد فروق معنوية .**

العزل والتشخيص :

عزلت بكتريا *P.mirabilis* وكانت عملية جمع العينات عشوائية للتحري عن بؤر التلوث ببكتريا *P.mirabilis*, وشخصت المستعمرات النامية على وسط اكار الماكونكي بشكل مستعمرات مفردة شاحبة اللون ، متوسطة الحجم وذات حافات ملساء وغير مخمرة لسكر اللاكتوز فضلا عن رائحة النمو البكتيري التي تكون متشابهة لرائحة نموالسمك المتعفن،

وظهرت الحركة التموجية (Swarrming) على اكار الدم إذ تعد هذه صفة تشخيصية اولية لبكتريا المتقلبات ,اما نتائج الفحوصات الكيموحيوية اعطت نتائج موجبة لإختبار الكتاليز. واعطت نتيجة سالبة لفحص الاوكسديز .اما بالنسبة لمجموعة إختبارات IMViC كانت النتيجة سالبة لفحص الاندول,وايضا كانت النتيجة سالبة لفحص فوكس- بروسكاور , واعطت نتيجة موجبة لإختبار احمر المثيل واختبار استهلاك السترات, كما واظهرت جميع عزلات بكتريا *P.mirabilis* قدرتها على تخمر كل من سكر السكروز والكوز واعطت غازاً وراسباً اسود على الوسط دلالة على انتاج كبريتيد الهيدروجين H2S . أما التشخيص الجيني اظهرت النتائج بعد استخلاص الـ DNA وتشخيص عزلات بكتريا *P.mirabilis* بأستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة Monoplex PCR وباستخدام الجين *16S rRNA* gene الذي يستخدم للتفريق بين انواع الجنس الواحد اذ استخدمت بادئات نوعية تستهدف جين 16S RNA بهدف التشخيص الدقيق لعزلات *P.mirabilis* ,إحتواء جميع عُزلات بكتيريا *P.mirabilis* على الجين *16S rRNA* gene كما في الشكل (1) أذ يُمثل المورثة التشخيصيّة لهذه البكتيريا , مما يُثبت عائدية الـ24عزلة لبكتيريا *P.miraiblis* .



الشكل (1): الترحيل الكهربائي لهلام الاكروز والحاوي على نتائج فحص PCR لجين ال gene 16SrRNA الخاص بتشخيص جرثومة *Proteus mirabilis*. حيث يمثل M: Marker ladder 1500-100bp و الحفر من رقم (1-24) بعض جرثومة *P.mirabilis* الموجبة للفحص بناتج طوله 305bp. باستخدام تيار 80 امبير و100فولت لمدة ساعة واحدة.

أذا عزلت هذالبكتريا بنسبة 37.29% من مجموع مختلف العزلات السريرية (البراز, مسحات الاذن الوسطى ,الحروق, الادرار, الدم) بواقع 69 عزلة. أما **الانواع الاخرى العائدة لجنس المتقلبات** فعزلت بنسبة 8.64%. يمكن ان يعزى التفاوت في نسبة عزل النوع *P.mirabilis* وانواع المتقلبات الاخرى الى وجود هذه البكتريا في امعاء الانسان أذ تعد بكتريا *P.mirabilis* جزء من المستتبت الطبيعي لأمعاء الانسان اذ يوجد بنسبة 25% من مجموع البكتريا المعوية, اما قلة عزل الانواع الاخرى للمتقلبات يعود الى انها لاتتواجد بكثرة في المستتبت الطبيعي في امعاء الانسان [9] . ان اعلى نسبة عزل بكتريا *P.mirabilis* كانت من عينات البراز بنسبة 12.02%, تقاربت نتيجة دارسة الحالية مع دراسة [10] إذ عزلت بكتريا المتقلبات بنسبة 20% ,في حين عزل الباحث [11] هذه

البكتريا من عينات البراز بنسبة قليلة 5.9% . عزلت بكتريا *P.mirabilis* من التهابات الاذن الوسطى بنسبة 9.18% تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة [12] أذ عزلها بنسبة 10.4% , بينما عزلها الباحث [11] من التهاب الاذن بنسبة 17.6%. كما وعُزلت بكتريا *P. mirabilis* من عينات الادرار بنسبة 8.64 % تقاربت هذه النتيجة مع دراسة الباحث وجماعتة [13] كل من *P.mirabilis* و *P.vulgaris* من الادرار بنسبة 12.5% في حين عزل البحثان [14] من التهاب المجاري البولية بنسبة 45%. عُزلت البكتريا من التهابات الحروق بنسبة 8.64% وتقاربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة الباحث [10] أذ عزلت كل من *P. mirabilis* و *P. vulgaris*. من التهابات الحروق بنسبة 13.33% لكل منهما. عُزلت بكتريا *P.mirabilis* من الدم بنسبة 0.54% تقاربت نتائج هذه الدراسة مع دراسة الباحث [15] أذ عزل بكتريا *P.mirabilis* من حالات تجرثم الدم بنسبة 0.58% , في حين عزل الباحث [16] بكتريا *P.mirabilis* من الدم بنسبة 2.5% .

جدول (2) النسب المئوية لعزل انواع بكتريا *Proteus* ssp من المصادر السريرية المختلفة

Proteus ssp	المصدر					النسبة المئوية الكلية
	البراز	الادرار	الاذن	الحروق	الدم	
P. mirabilis	**(12.02) 19**	**(8.64) 16**	**(9.18) 17**	**(8.64) 16**	**(0.54) 1**	**(%37.29)69^{A}**
Other Proteus	**(3.24)6**	**(2.16)4**	**(2.16)4**	**(1.08)2**	**0(0)**	**(%8.64)16^{B}**

- **ل قيمة مربع كاي X^2 المحسوبة 36.129 اكبر من الجدولية X^2 15.507 إذاً توجد فروق معنوية .**

أنتشار وتوزيع بكتريا *Proteus mirabilis* بين الفئات العمرية والجنس

صنفت الدراسة الحالية المصابين إلى ست فئات عمرية ابتداء بالسنة الواحدة وانتهاء عند السنة الخمسين فاكثر كما موضح في جدول سجلت الدراسة الحالية أعلى نسبة إصابة ببكتريا *P.mirabilis* في الفئة العمرية 21-30 سنة بنسبة 34.78% , تلتها الفئة العمرية 31-40 سنة والتي سجلت نسبة 13.4%, في حين سجل الباحث [15](للفئة (20-29) بنسبة 21.78% ,والفئة (30-39) بنسبة 17.82%.أما أقل نسبة إصابة في الدراسة الحالية في الفئة العمرية 1-10 سنة والفئة العمرية 11-20 سنة بنسبة 11.59% كل منهما كما موضح في الجدول (4). وتقاربت نتائج مع الباحث [17] فقد سجل للفئة اقل من 18 سنة بنسبة أصابة 9.2% . وسجلت الدراسة الحالية نسبة إصابة عالية في الفئات العمرية 41-50 سنة و اكبر من51سنة , اذ كانت نسبة الإصابة ببكتريا *P.mirabilis* 10.14% و 18.84% على التوالي كما في الجدول (4) . تقارب هذه النتيجة لما توصل اليه الباحث [18] نسب أصابة عالية ضمن الفئة العمرية (51-60) 34%,والفئة العمرية اكثر من60 بنسبة 24% وقد يعود السبب في اصابة هذه الفئات بالاصابات البكترية ذلك لكون الاعمار المتطرفة (الاطفال وكبار السن) وخاصة كبار السن الذين يعانون من امراض مزمنة والذين يتعاطون ادوية مثبطة للمناعة , يكونوا

اكثر تعرض للاصابة بسبب ضعف الجهاز المناعي لهذه الفئات العمرية مقارنة بالفئات العمرية الاخرى (19)

جدول(3) توزيع عزلات *P.mirabils* بحسب العمر من الحالات السريرية المختلفة .

المصدر / الفئات العمرية	البراز	الاذن	الادرار	الحروق	الدم	مجموع
1-10	$(2.89)2^{Aa}$	$(2.89)2^{Aa}$	$(2.89)2^{Aa}$	$(2.89)2^{Aa}$	$0(0)^{Aa}$	$(\%11.59)8^{A}$
11-20	$(1.44)1^{Aa}$	$(2.89)2^{Aa}$	$(1.44)1^{Aa}$	$(4.34)3^{ABa}$	$(1.44)1^{Aa}$	$(\%11.59)8^{A}$
21-30	$(10.14)7^{Ba}$	$(7.24)5^{Aa}$	$(5.79)4^{Aa}$	$(11.59)8^{Ba}$	$0(0)^{Ab}$	$(\%34.78)24^{B}$
31-40	$(4.34)3^{ABa}$	$(4.34)3^{Aa}$	$(2.89)2^{Aa}$	$(1.44)1^{Aab}$	$0(0)^{Ab}$	$(\%13.04)9^{A}$
41-50	$(2.89)2^{Aa}$	$(2.89)2^{Aa}$	$(2.89)2^{Aa}$	$(1.44)1^{Aa}$	$0(0)^{Aa}$	$(\%10.14)7^{A}$
>51	$(5.79)4^{ABa}$	$(4.34)3^{Aa}$	$(7.24)5^{Aa}$	$(1.44)1^{Aab}$	$0(0)^{Ab}$	$(\%18.84)13^{A}$

- **ان قيمة مربع كاي X^2 المحسوبة 43.228 اكبر من الجدولية X^2 41.337 إذاً توجد فروق معنوية .**

اما بالنسبة لتوزيع الحالات المرضية للجنس المريض فقد سجلت الدراسة الحالية اصابة الإناث ببكتريا *P.mirabilis* بنسبة أعلى 57.97% مقارنة بالذكور 42.02% والموضحة في جدول (4) , جاءت نتائج الدراسة الحالية مقاربة لما توصل اليه [20] اذ سجى الاناث نسبة أصابة ببكتريا *P.mirabilis* 57.2% اما الذكور بنسبة 42.8 %. في حين سجل الباحث (16) نسبة أصابة لذكور اعلى من الاناث 63.6% , اما نسبة أصابة الاناث فكانت 36.4% .تصيب بكتريا *P.mirabilis* الكبار والصغار من كلا الجنسين، وخاصة النساء تكون أكثر عرضه لأستعمار بكتريا *P.mirabilis* خصوصا في اخماج المسالك البولية قد يرجع السبب الى بقاء محيط الاحليل رطبا وبالإضافة الى قصر الاحليل مما يزيد من التعرض للإصابة عن طريق صعود المسبب المرضي الى المسالك البولية [21] .

جدول(4) توزيع عزلات *P.mirabils* حسب الجنس من الحالات السريرية المختلفة.

مصدر / جنس	البراز	الاذن	الادرار	الحروق	الدم	مجموع
الاناث	(10.14)7	(14.49)10	(17.39)12	(15.94)11	--	$(\%57.97)40^{A}$
الذكور	(17.39)12	(10.14)7	(5.79)4	(7.24)5	(1.44)1	$(\%42.02)29^{A}$

ان قيمة مربع كاي X^2 المحسوبة 2.544 اكبر من الجدولية X^2 3.841 اذاً توجد فروق معنوية . كما وتل الحروف المتشابهة على عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية 5%.

اختبار فحص الحساسية للمضادات الحياتية

استخدم اختبار فحص الحساسية للمضادات الحياتية والبالغة 15مضاداً حياتياً, حيث اختيرت هذه المضادات لكثرة استخدامها وتداولها معالجة بعض الأخماج الناتجة عن الإصابة ببكتيريا *P.mirabils*

والجدول (5) يوضح نسب المقاومة والحساسية وما بينهما لبكتيريا المتقلبات تجاه المضادات المستخدمة خلال الدراسة إذاعتمد على نتائج الفحص (قياس قطر منطقة التثبيط حول قرص المضاد) ومقارنتها مع الجداول القياسية[7] وذلك لتعرف على مدى قابلية البكتيريا على مقاومتها للمضادات الحياتية وسجلت نتائج الراسة الحالية نسبة مقاومة بكتريا *P.mirabils* لمضاد الاموكسيلين 84.05% إذ تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث [17] أذ كانت مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الاموكسيلين بنسبة 83.6%.في حين كانت نتائج الباحث [13] فقد سجل نسبة مقاومة قليلة 12.5%. وسجل بكتريا *P.mirabilis* نسبة مقاومة لمضادالامبسلين 84.05% تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث [22] في مدينة بنكلادش أذ كانت مقاومة البكتريا بنسبة 86%. أما مقاومة بكتريا *P.mirabilis* في الدراسة الحالية لمضاد الاموكسيلين-كلافيولانك أسد فكانت 47.82%,أذ تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه [23] أذ سجلا نسبة مقاومة للبكتريا 50%, قاومت بكتريا *P.mirabilis* مضاد التيكراسيلين في الدراسة الحالية وبنسبة 66.66% . أما مقاومة بكتريا *P.mirabilis* في الدراسة الحالية لمضاد السيفتازيديم كانت بنسبة 66.66% , تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث [24] أذ كانت نسبة مقاومة البكتريا لمضاد السيفتازيديم بنسبة 48.1% , في حين كانت مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد السيفوتاكسيم بنسبة مقاومة 53.62% , تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث [15] أذ كانت نسبة مقاومة بكتريا *P.mirabilis* 54 % ,مضاد الميروبنيم فسجلت البكتريا نسبة مقاومة له 4.34% , تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث [25] أذ سجل نسبة مقاومة *P.mirabilis* لمضاد الميروبنيم 5.6%. في الاونه الاخيرة ومن خلال العديد من الدراسات اظهرت بأن عزلات بكتريا *P.mirabilis* بتزايد ملحوظ في مقاومتها لمضادات البيالاكتم,أذ تعود المقاومة العالية لبكتريا المتقلبات لهذه المضادات الى أرتفاع انتاج انزيمات البيتالاكتاميز والتي تعمل هذه الانزيمات على حماية البكتريا من خلال مهاجمتها حلقة البيتالاكتم الموجودة في نواة البنسلين والسيفالوسبورينات او الى احد ميكانيكيات المقاومة ومنها تقليل نفاذية الجدار الخارجي و تحوير موقع الهدف للمضاد (26).سجلت نتائج الدراسة الحالية مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الامينوكلايكوسيدات المتمثلة بمضاد الأميكاسين بنسبة مقاومة 17.39% تقاربت نتائج هذه الدراسة مع دراسة الباحث [27] أذ سجلوا نسبة مقاومة لبكتريا *P.mirabilis* لمضاد الأميكاسين 36.4% .أما نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الجنتامايسين في الدراسة الحالية فقد بلغت 33.33%, أذ تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه [16] أذ سجلوا نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الجنتامايسين 28.9%. سجلت بكتريا *P.mirabilis* نسبة مقاومة لمضادات الكوينولينات المتمثلة

بحامض النالديكسيك 75.36%, ومضاد السبروفلوكساسين Ciprofloxacin فكانت نسبة مقاومة 4.34% وكانت معظم العزلات حساسة لهذا المضاد, تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث [22] اذ سجل نسالبكتريا لمضاد حامض النالديكسيك 88.9 %.أما الباحث [13] فقد سجلوا نسبة مقاومكتريا لمضاد السبروفلوكساسين 15.0 %. أظهرت نتائج الدراسة الحالية مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الترايميثوبريم نسبة 75.36% , تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه [24] اذ سجل نسبة مقاومة ابكتريا المعزولة من التهاب المجاري البولية في مستشفيات مدينة النجف لمضاد الترايميثوبريم 63.5%.

أما مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الكلورامفينيكول نكانت بنسبة 82.60% ,تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة الباحثان [14] سجلا نسبة مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الكلورومفينكول 62.5 %. سجلت الدراسة الحالية مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد التتراسايكلين بنسبة 82.60% , تقاربت هذه النسبة مع دراسة الباحث [28] اذ سجل نسبة مقاومة البكتريا لمضاد التتراسايكلين 94.4% . أما مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الريفامبين فكانت بنسبة 91.30% , تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة الباحثان [14] اذ سجلا نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الريفامبين 93.7 %.

جدول (5) النسب المئوية لعزلات بكتريا *P.mirablis* المقاومة للمضادات الحياتية.

انواع المضادات الحياتية	الرمز	S%	I%	R%
Amoxicillin	**AMX**	**(10.14)7**	**(5.79)4**	**(84.05)58**
Ampicillin	**AMP**	**(7.24)5**	**(8.69)6**	**(84.05)58**
Amoxicillin/cluvanic	**AMC**	**(34.78)24**	**(17.39)12**	**(47.82)33**
Ticarcillin	**TC**	**(21.73)15**	**(11.59)8**	**(66.66)46**
Cefotaxim	**CTX**	**(34.78)24**	**(11.59)8**	**(53.62)37**
Cefatozidime	**CAZ**	**(14.49)10**	**(18.8)13**	**(66.66)46**
Meropenem	**MEM**	**(91.30)63**	**(4.34)3**	**(4.34)3**
Amikacin	**AK**	**(81.15)56**	**(1.44)1**	**(17.39)12**
Gentamicin	**CN**	**(63.76)44**	**(2.89)2**	**(33.33)23**
Nalidic acid	**NA**	**(14.49)10**	**(10.14)7**	**(75.36)52**
Ciprofloxacin	**CIP**	**(92.75)64**	**(2.89)2**	**(4.34)3**
Trimethoprim	**TS**	**(17.39)12**	**(7.24)5**	**(75.36)52**
Chloramphenicol	**C**	**(8.69)6**	**(8.69)6**	**(82.60)57**
Tetracycline	**T**	**(4.34)3**	**(13.4)9**	**(82.60)57**
Rifampin	**RF**	**(4.34)3**	**(4.34)3**	**(91.30)63**

- **ان قيمة مربع كاي X^2 المحسوبة 173.12 اكبر من الجدولية X^2 67.504 إذاً توجد فروق معنوية**

المصادر

1.Armbruster, C. E. and Mobley, H. L. 2012**.** Merging mythology and morphology: the multifaceted lifestyle of *Proteus mirabilis*. *Natu. Revi. Microbio.*. 10(11), pp: 743-754.

2-Jacobsen, S. M. & Shirtliff, M. E. (2011). *Proteus mirabilis* biofilmsand catheter-associated urinary tract infections.

Medicine, The University of Sydney, Australia

9. Shoff, W. H. and Green-McKenzie, J. (2007). Pyelonephritis, acute.. J. *Appl. Microbiol. 100*: 1028–1033.

10. ALJumaa, M. H. (2011) . Bacteriological and Molecular Study of SomeIsolate of Proteus mirablis and Proteus vulgaris in Hilla Province.M.S.C. Microbiology.Thesis. College of Medicine.University. Iraq .

11.Abbas, K. F.; Al Khafaji,J. K. ; Al-Shukri , M. S. (2015). Molecular Detection of Some Virulence Genes in *Proteus Mirabilis* Isolated from Hillaprovince. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB).* 3(10):PP85-89.

12.ALDulami,A.A;Nauman,N.G;andHasan,A.R.S(2011). Virulance Factors of *Proteus mirablis* Isolated From Patients Otitis Media in Baquba and it's Peripheries 1. *Diyala. J. of Med.* (69);(69-75).

13.Kwiecinska-Pirog , J ; Skowron ,K ; Bartczak ; and Gospodarek-Komkowska ,E .(2016). The Ciprofloxacin Impact on Biofilm Formation by *Proteus Mirabilis* and *P. Vulgaris* Strains . *Jundishapur J Microbiol.* 9(4):e32656.

14.Zuhir , R; Alaubydi, M. A. S. (2016). Extraction and Partial Purification of Lipopolysaccharide from Clinical *Proteus* Virulence 2, 460–465.*Iran. EMHJ*, 18(2).

3. Pellegrino. R.; Scavone, P.; Umpiérrez, A.; Maskell, D.J.and Zunino, P.(2013). Proteus mirabilis uroepithelial cell adhesin (UCA) fimbria plays a role in the colonization of the urinary tract. J. Phatho. Dis., 2(67):104-107.

4.Mollenkopf ,D.(2012) . Epidemiology of CTX-M cephalosporinase – bearing *Escherichia coli* and *Salmonalla* spp isolated from US livestock .M.Sc .Thesis, college of science ,Ohio state University

5. Dhillon R, Clark J (2011). ESBL: A clear and present danger? Crit. Care *Res. Pract*. 2012 (2012):1-11

6.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.

7.CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (2012). Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 23th Information Supplement 33(1). Wayne, Pannsylvannia, USA.

8. Thomas, L.C. (2007). Genetic methods for rapid detection of medicallyimportantnosocomial bacteria. Faculty of Medicine, Department of

mirabilis Isolate and Compared with Standard Bacteria. *Iraq. Jo. of Sci,. 57, (1): 599-608.*

15. Pal, N.; Sharma,N.; Sharma,R.; Hooja,S.; and K Maheshwari , R .(2014) . Prevalence of Multidrug (MDR) and Extensively Drug Resistant (XDR) *Proteus* species in a tertiary care hospital, India. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 3(10) 243-252.

16.Senthamarai ,S. Sivasankari, S.; Anitha ,C.; Kumudavathi ,MS.; Amshavathani ,SK.; Venugopal ,V.; and Thenmozhi Valli, P R.(2015). A study on the antibiotic susceptibility pattern of *Proteus* spp among various samples. *IJAPBC* – Vol. 4(2): 2277 – 4688.

17.Wang, J; Chen ,P; Chang ,S ; Shiau, Y ; Wang, H ; Lai ,J ; Huang, I Tan ,M ; Lauderdale ,T,Y; and Hospitals ,T.(2014). Antimicrobial susceptibilities of Proteus mirabilis: a longitudinal nationwide study from the Taiwan surveillance of antimicrobial resistance (TSAR) program .*BMC Infec .Dis*. 14:486.

18.Adnan,M.; Hussein,I.; and Al-DeresawiP3 ,A. M.S.(2014). Molecular detection of *Proteus mirabilis* using PCR technique among urinary tract infection patients. *Ira. Jo. of Biote*,.13(2): 35-47

19.Brooks , G.F. ; Carroll , K. C. ; Butel , J.S. and Morse , S. A. (2007) . Jawets, Melnick, Adelberg's Medical microbiology. 24th ed. *McGraw-Hill com.* PP. 174.

20. الطائي,خالد عبد الكاظم ,ناجي,حسن فاضل.(2013).تأثير خلط مضادات البيتالاكنم مع الامينو كلايكوسيدات على المتقلبات المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية.مجلة جامعة بابل/ االعلوم الصرفة والتطبيقية . 4(21):(1293-1299).

21.Freedman, A. L. (2005). Urologic Diseases in North America Project: trends in resource utilization for urinary tract infections in children. *J. Urol*., **173**(3)**:**949-954

22.A.Bahashwan,S.(2013). Antimicrobial resistance patterns of *proteus* isolates from clinical specimens. *Eur. Sci. Jo*, 9(27): 1857 – 7881

23. الحسو,محمود زكي,خلف,صبحي حسين.(2013). مقاومة بعض العصيات السالبة لصبغة كرام من اصابات الجهاز التنفسي السفلي لمضادات البيتالاكتم .مجلة علوم الرافدين ,24(6):(66-76).

24.Hussein ,A .A .(2013) . phenotypic detection of extended-spectrum betalactamase production in *Proteus mirablis* isolation from patients with Significant Bacteriuria in Najaf Provina .*QMJ* ,9(16);(146-160).

25.Perween, N; Prakash.S, K; and Bharara ,T.(2016). Prevalence of Multidrug-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Proteus, Providencia and Morganella* Species in Burn Wound Infection. *Inter. Jo of Scien.Study* .Vol 3 (11).154-156.

26.Guilfoile, **G.(2007).** Deadly disease and epidemics Antibiotic-Resistant Bacteria. Chelser House publisher , *World Health organization*. P:10-119.

27.Hasanin, A; Eladawy, A; Mohamed ,H; Salah ,Y ; Lotfy ,A; Mostafa ,H; Ghaith ,D; Mukhtar, A. (2014). Prevalence of extensively drug-resistant gram negative bacilli in surgical intensive care in Egypt.*Pan Afric. Medic. J*. 19:177.4307.

28.Nahar , A. ; Siddiquee , M.; Nahar,S.; Anwar2,K . S.; Ali , S .k . Islam1, I.S.(2014). Multidrug Resistant-

Health Educ ,2(2): 2332-0893.

Proteus Mirabilis Isolated from Chicken Droppings in Commercial Poultry Farms: Bisecurity Concern and Emerging Public Health Threat in Bangladesh. *J Biosafety*

Diagnosis of *Proteus mirabilis* using PCR technique and determining their sensitivity to some antibiotics.

Nuha Jawad **Syoof Khowman. Alramahy**

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

njnjnj.hu4@gmail.com Syoof.alramahi@qu.edu.iq

abstract

Proteus mirabilis The samples of the study were collected from different clinical sources 185 isolates of hospitals, the Diwaniyah city during the period from October 2015 to April and divided the samples, according to sources collected into five groups (46 swab ear, 42 swab burns, 37 a stool sample, 59 urine sample and 1 blood sample), as results showed that cultural and biochemical tests 69 isolated belong to *P.mirabilis*, diagnosis was confirmed by api 20E and the use of polymerase chain reaction. Tested the sensitivity of isolates P.mirabilis about 15 types of antibiotics by disk diffusion method, and belonging to ten classes of antibiotics,That shown sensitivity first to isolates of *P.mirabilis* results, the proportion of resistant *P.mirabils* antimicrobial β- lactam antibiotic represented in Amoxicillin resistance and Ampicillin 84.05%, Amoxicillin/cluvanic acid 47.82%, Ticarcillin and , Cefatozidime 66.66%, Cefotaxim 53.62%, Meropenem 5.6%. The rate of resistance to antibiotics aminoglycosides represented in Amikacin resistance 17.36 %, Gentamicin percentage resistance 33.33%, Quinolones represented in Nalidic acid resistance 75.36%, while the Ciprofloxacin counted lower proportion of resistance 4.34 %, Trimethoprim resistance75.36 %.Chloramphenicol have high resistance rate of 82.60 %, as well as all of the Tetracycline 82.60%, and Rifampin 91.30% .

Key word: Resistance, Antibiotic,*Proteus .mirabilis*

*The Reserch is apart of on MSC.thesis in the case of first Reserach