دراسة تأثير بعض الصادات والمطهرات على الزائفة الزنجارية المعزولة من مرضى في محافظة حمص

مروه الشاطر[1] أ.د. ندى محفوض[2]

[1] طالبة ماجستير في قسم علم الحياة، كلية العلوم، جامعة البعث، حمص، سوريا.

[2] أستاذة دكتورة في قسم علم الحياة، كلية العلوم، جامعة البعث، حمص، سوريا.

ملخص

تناولت الدراسة جمع عينات مرضية بواقع 200 عينة من مختلف مشافي مدينة حمص خلال الفترة الواقعة بين (1 تشرين الأول 2018 حتى 21 كانون الأول 2020)، إذ أظهرت نتائج الفحوصات الزرعية والكيميائية الحيوية عائدية 20 عزلة لجراثيم الزائفة الزنجارية *Psedumonas aerugenosa*

اختبرت حساسية العزلات اتجاه 5 أنواع من الصادات الحيوية، إذ بينت نتائج اختبار الحساسية الأولي لعزلات الزائفة الزنجارية *P.aerugenosa* أن جميع العزلات كانت مقاومة للصاد الحيوي الأمبيسيلين بنسبة 100% وأظهرت الجراثيم نسبة مقاومة معتدلة اتجاه الصاد الحيوي السيفتازيديم والأزيترومايسين 50% ، 40% على التوالي أما السيبروفلوكساسين فكانت نسبة المقاومة له 30% في حين أظهرت جميع العزلات حساسية واضحة اتجاه الصاد الحيوي الامبينيم بنسبة 100%.

أما اختبار حساسية العزلات الجرثومية ازاء المطهرات فكان مطهر السايدكس (انسترومنتN)

هو الأكفأ في السيطرة على العزلات الجرثومية بتركيز 100%،50%،25%، في حين أبدت مقاومة عالية اتجاه البوفيدون حيث أظهر انخفاضاً في قطر هالة التثبيط وهذا دليل على عدم كفاءته على العزلات قيد الدراسة.

الكلمات المفتاحية: مقاومة، صادات حيوية، زائفة زنجارية، سايدكس، بوفيدون، اختبار الحساسية.

Study Of The Effect Of Some Antibiotics And Antiseptics On *Pseudomonas aeruginosa* Isolated From Patients in Homs governate

Marwa Alshater[(1)]
Dr.Nada Mahfod[(2)]
[(1)] Master student in Biology Department, Faculty of Science, Abaath University, Homs, Syria.
[(2)] Professor in Biology Department, Faculty of Science, Abaath University, Homs, Syria.

Abstract

The study dealt with the collection of disease samples by 200 samples from (October 1,2018 to December 21,2020).
Psedumonas aeruginosa isolates were tested for sensitivity to 5 types of antibiotics, as the results of the initial sensitivity test for *Psedumonas aeruginosa.*
All isolates were resistant to the antibiotic Ampicillin by 100%, and the bacteria showed moderate resistanceto the antibiotics Ceftazidime and Azitromycin 50% and 40%, respectively.
As for Siprofloxacin, the resistance rate was 30%, while all isolates showed a clear sensitivity to the antibiotic Impenem at 100% .
As for the sensitivity test of bacterial isolates to wards antiseptics, the antiseptic Sidex (Instrument N) was the most efficient in controlling bacterial isolates at a concentration of 100% , 50% and 25% , while it showed a high resistance towards Povidon, which showed a decrease in the diameter of the inhibition diameter and this is evidence of the its insufficiency the trend of the isolates under study.

Key words: Resistance , Antibiotics , *Psedumonas aeruginosa* , Sidex , Povidone , Sensitivity test.

المقدمة:

– تعتبر *Pseudomonas aeruginosa* من الجراثيم الممرضة والواسعة الانتشار في الطبيعة بسبب أمراضيتها للإنسان والحيوان والنبات، لهذه الجراثيم القدرة على العيش في بيئات متنوعة فهي حرة المعيشة تعيش في التربة والمستنقعات والمناطق الساحلية والبحرية ومياه الأنهار[13].

– كما تعد *P.aeruginosa* واحدة من أهم الجراثيم السالبة لصبغة غرام المسببة لتفشي العدوى المكتسبة من المستشفيات [4]، إذ لوحظ في كثير من الأحيان صعوبة علاج الإصابات الناتجة عن هذه الجراثيم، لكونها تمتلك صفة المقاومة الطبيعية بالإضافة إلى قدرتها على اكتساب المقاومة تجاه العديد من الصادات مثل الامينوكلايكوسيدات، الفلوروكوينولينات، ومجموعة البيتالاكتام [5].

إذ جاءت هذه الجراثيم بالمرتبة الثانية بين الأنواع التي تسبب الامراض السريرية في المملكة المتحدة لاسيما حالات ذات الرئة في وحدة العناية المركزة.

– ونسبة الإصابة بهذه الجراثيم حوالي 11.4% في كل من أمريكا اللاتينية وأسيا، أما في أوروبا فكانت نسبة الإصابة 9.3%، في المملكة المتحدة 8.7% وأخيرا في كندا كانت نسبة الإصابة 8.6% [6].

– إن استخدام الصادات بشكل واسع في علاج هذه الجراثيم أدى إلى تطور المقاومة للصادات والتي قد تكون بسبب امتلاكها للبلازميدات [14].

– تمتلك *P. aeruginosa* العديد من عوامل الضراوة والمتمثلة بالسموم والانزيمات التي تفرزها هذه الجراثيم والتي تكون لها اثرا في امراضيتها ومن هذه الانزيمات، الانزيمات المحللة للدهون (ليباز) والانزيمات المحللة للدم (الهيمولايزين) فضلا عن الانزيمات المحللة للبروتين (البروتياز)، والتي تعد من الانزيمات المهمة التي تفرزها *P. aeruginosa* [15].

– تعد جراثيم *P. aeruginosa* عصيات هوائية متحركة [16] تستطيع هذه الجراثيم النمو في مدى واسع من درجات الحرارة إذ يتراوح هذا النمو بين (42–4) مْ لكن درجة الحرارة المثلى للنمو هي 37مْ [2]، ويعد نمو هذه الجراثيم بدرجة حرارة 42مْ من الصفات التشخيصية لها [17].

كما أنّها جراثيم سالبة لصبغة غرام وهي الأكثر شيوعاً في الإصابات الخاصة بالمستشفيات، وهي مقاومة للمحاليل الملحية والأصباغ والمطهرات المخففة والعديد من الصادات الحيوية وهذه الصفات الطبيعية تساهم في نجاحها كعامل ممرض انتهازي والتي تسبب انتشارها في المستشفيات وبالتالي تسبب ما يسمى بالخمج المكتسب (Nosocomial Infection) [18].

الدراسة مرجعية:

i. الخصائص العامة للجرثوم:

a) التصنيف الجرثومي:Classification

- يعد *Pseudomonas* الجنس النموذجي Genre- type لفصيلة الزوائف Pseudomonaceae، كذلك يعتبر *Pseudomonas aeruginosa* النوع النموذجي Especе- type لجنس الزائفة الزنجارية.
- تضم عائلة Pseudomondaceae أجناساً متعددة أخرى أهمها، *Rugamonas* ، *Rhizobaeter* ، *Mesophilobacter* ، *Cellvilorio* ، *Azotolocter* ، *Azomonas*.
- وتندرج الأنواع التابعة لجنس *pseudomonas* في خمس مجاميع جرثومية ويعود النوع *P.aeruginosa* إلى المجموعة الأولى من النظام الثاني للتصنيف وهو النوع المثالي لمجموعته والتي تضم 12 نوعا آخر [49].

Class صف : Gamma Proteobacteria

Order رتبة : Pseudomonadales

Family فصيلة : Pseudomonadaceae

Genus جنس : *Pseudomonas*

Species نوع : *aeruginosa*

b) الشكل والتلون:Morphology & Staining

- هي عصيات سالبة لصبغة غرام متحركة بواسطة سوط قطبي وحيد (Unipolar flagellum)، أبعادها تتراوح بين (0.5-0.8) و (1.5-3) مايكرومتر، غير مكونة

للأبواغ درجة الحرارة المثلى لنموها هي 37مْ، قدرتها على النمو عند درجة الحرارة 42 مْ هو ما يميزها عن أنواع أخرى لنفس الجنس وهي غير قادرة على النمو عند درجة حرارة 5 مْ، كما يمكن تشخيصها بصورة أولية من خلال رائحة مستعمراتها النامية على الوسط الزرعي آغار الدم وهي ذات رائحة تشبه رائحة العنب (Grap–like odor).

توصف معظم سلالاتها بأنها هوائية مجبرة (Obligate aerobic) لكن لوحظ إن بعضها لاهوائية مخيرة (Facultative anaerobs) إذ تستطيع النمو عندما ينخفض الأوكسيجين بشكل جزئي أو كلي، كما أنها قادرة على النمو في ظروف لا هوائية في حالة توفر النترات NO_3 كمستقبل نهائي للالكترون في السلسلة التنفسية بدلا من الأوكسجين [49].

c) الصفات المزرعية:Cultural characteristics [50]

1- الزوائف في التيوغليكولات:

يكون النمو الجرثومي قمي لأن الزوائف هوائية مجبرة.

2- الزوائف في آغار الدم:

يكون شكل المستعمرات دائرية غير منتظمة الحواف تقيس 4-2 ملم مسطحة وحالة للدم من النمط بيتا، قد تكون شفافة أو داكنة –رمادية إلى بيضاء تتميز برائحة مميزة تشبه رائحة العنب.

3- آغار أزرق الميتيلينEMB :

تكون المستعمرات دائرية 4-2 ملم ذات تقبب خفيف – شفافة سطحها ناعم عديم اللون.

4- آغار كليجلر:

يكون السطح والقعر ذو لون أحمر غير منتجة للغاز ولا تطلق H_2S.

5- سيترات سيمون آغار:

تقوم بتحويل لون أزرق بروم الثيمول من اللون الأخضر إلى اللون الأزرق بسبب تحول الوسط إلى القاعدي وذلك لقدرتها على تفكيك السيترات واستخدامه كمصدر وحيد للطاقة.

6-انتاج الأصبغة:Production of pigments

- تشكل الزوائف الزنجارية مستعمرات دائرية ملساء ذات لون مخضر متألق، حيث تنتج غالبا صباغاً مزرقاً غير متألق يدعى البيوسيانين Pyocyanin والذي ينتشر في الآغار.

وتنتج أيضاً العديد من سلالات الزوائف الزنجارية الصباغ المتألق البيوفيريدين Pyoverdin والذي يعطي لوناً مخضراً للآغار.

- تنتج بعض السلالات صباغ البيوروبين Pyorubin ذي اللون الأحمر الغامق والصباغ الأسود البيوميلانين Pyomelanin. [51]

ii. الحساسية للعوامل الفيزيائية والكيميائية:

- الزوائف الزنجارية مقاومة للعديد من المطهرات بما فيها مركبات الأمونيوم الرباعية وفي الواقع فإن Dettol (chloroxylenol) والـ Citrimide (السافلون) كلاهما يستعمل في الأوساط الزرعية الانتقائية لعزل الزوائف ذاتها [50].
- إن السايديكس CIDEX فعال بشكل جيد ضد الزوائف الزنجارية لكن يجب اتخاذ الحيطة لتجنب التمديد الزائد غير المقصود واتباع تعليمات الشركات الصانعة من أجل تحضير المحاليل واستخدامها.
- إن الطريقة البديلة للتخلص من التلوث تكون بالتسخين حتى الدرجة 70 مْ عندما يكون ذلك مناسبا [23].

iii. حساسية الزوائف ومقاومتها للصادات:

- بدأ العلاج الكيميائي Chemotherapy من قبل العالم الألماني Paul Erlich (1854-1915) الذي أثبت بأن الصادات لها سمية إنتقائية (Selectively toxic) إذ تقتل الكائن الحي الممرض ولا تؤذي خلايا الإنسان ويكون لها تأثير في علاج الأمراض[49].

حيث تعرف الصادات الحيوية بأنها المواد الناتجة عن العمليات الإستقلابية الطبيعية للأحياء المجهرية ولها القدرة على تثبيط الأحياء المجهرية الأخرى أو قتلها، والصادات المصنعة المشتقة مخبرياً من الصبغات وبعض المركبات

العضوية، والصادات شبه المصنعة عند إضافة أو إزالة زمر وظيفية للنواتج الطبيعية للأحياء المجهرية [49].

- تتصف الزوائف الزنجارية بمقاومة طبيعية وشديدة مما يحد من الصادات المؤثرة فيها والقاعدة العامة هي أنها حساسة للصادات التالية :

الكربوكسي بينسيلين (المتيكارسيلين) والأوريدوبينسيلين (الأزلوسيلين- البيبراسيلين) وبعض السيفالوسبورينات كالسيفولودين والسيفوبرازون والسيفتازيديم [25].

هذا وأشار الباحث [25] أنه قد يكون هناك مجالاً لإختيار أضيق مما ذكر لظهور مقاومة مكتسبة لبعض هذه الصادات الأحدث كالإيميبينيم والأزيترونام ومركبات الفلوروكينولون.

- بينت الدراسات أن الزوائف الزنجارية حساسة للكاربامينات كالايمبينيم والميروبينيم والمونوباكتام أزيترونام.

- كما تعد المعالجة بالسيفتازيديم بديل جيد للأمينوغليكوزيدات، والمعالجة الأحادية بالسيفتازيديم أو الاميبينيم/سيلاستائين آمنة وفعالة.

أما الكينولونات مثل السيبروفلوكساسين فعلى الرغم من التحسس الملحوظ في الفعالية المضادة للزوائف لتلك الصادات فإنه من الضروري تطبيق جرعات عالية لمعالجة الانتانات الشديدة [50].

وفيما يخص الزوائف فهنالك مشكلة كبيرة تكمن في أن العديد من السلالات لا تستجيب سريرياً رغم حساسيتها الواضحة في الزجاج، حيث تفسر هذه الظاهرة جزئياً بالنسبة للأمينوغليكوزيدات بعملية المعاكسة النسيجية وتأثير الشوارد الموجبة ثنائية التكافؤ وضعف النفوذية النسيجية للصاد [23].

وفي حالة الإصابة بخمج خطر بالزوائف الزنجارية يجب أن يضم الدواء المبني على تحسس السلالات في الزجاج مشاركة صادين متآذرين يتسمان بخصائص مبيدة للجراثيم مثل الأمينوغليكوزيد مع البيتا-لاكتام، ويمكن إجمال المعالجة بالسيفتازيديم أو الازيترونام أو السيفولودين أو الايميبينيم أو مشاركة السيبروفلوكساسين مع الأميكاسين[25].

iv. مقاومة الزوائف الزنجارية للمطهرات:

- يستخدم مفهوم "المطهرات" للدلالة على كل المركبات المستعملة بهدف الحد من الأحياء الدقيقة والسيطرة عليها، وهي تقسم بشكل عام إلى نوعين ويستعمل كلاهما من أجل قتل

أو إيقاف نمو الأحياء الدقيقة عند تطبيقه على أنسجة حية أو على عناصر غير حية كالأسطح الخام ، حيث يطلق مصطلح " المطهرات Antiseptics " على المركبات الكيميائية الممكن تطبيقها على الجلد أو غيره من الأنسجة الحية بغرض قتل أو إيقاف نمو العضويات الدقيقة، أما" المطهرات Disinfectants" فهي المركبات الكيميائية الفعالة والمؤثرة على تلك العضويات والتي تطبق فقط على عناصر خاملة كالأرضيات، الأسرّة وغيرها [52].

– في الوقت الحالي وكنتيجة لتصاعد المخاوف بشأن احتمال التلوث ومخاطر العدوى في المواد الغذائية والأسواق الاستهلاكية العامة، ازداد استخدام المطهرات من قبل الإنسان حيث استعملت بشكل خاص كعامل مساعد في عمليات ضبط العدوى ومنع حدوث عدوى المشافي [27–28–29]، تختلف المطهرات عن الصادات الحيوية بعدة نقاط مثل تعدد مواقع تأثيرها ; فعلى خلاف الصادات الحيوية التي تملك أهدافاً خلوية ثابتة ومحددة في الكائن الحي الدقيق، تعمل المطهرات على عدة مواقع بالإضافة إلى اقتصار استخدامها خارجياً.[30]

– يطلق تصنيف" مطهرات المشفى "على المطهرات ذات القدرة العالية والقادرة على قتل ثلاثة أنواع من الجراثيم وهي :الزائفة الزنجارية *Pseudomona aeruginosa*، السالمونيلا التيفية *Salmonella Typhimurium* والمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*.[38]

غالباً ما تستخدم مطهرات هذا المستوى لمعالجة مواد طبية وجراحية محددة، حيث تكون (في ظل غياب الأبواغ الجرثومية سريعة التأثير وشديدة الفعالية) حيث تعتمد هذه الفعالية على العامل الكيميائي المستخدم من جهة وعلى الطريقة المستخدمة من جهة أخرى مثل التطبيق والتركيز المستخدم، يمكن مثلاً تحقيق ذلك عند التعرض لمدة 20 دقيقة على

الأقل ل% 2 من الغلوتار ألدهيد أو للمحلول (6 – 30) %من الماء الأوكسجيني [38].

في حين تكون المطهرات ذات الدرجة المتوسطة هي المطهرات القادرة على تثبيط نمو أو قتل الجراثيم،و معظم الفطور والفيروسات الصغيرة غير المغلفة والتي تكون أشد مقاومة من الفيروسات المتوسطة الحجم المغلفة.[38]

أما المواد الكيميائية ذات الطيف الضيق فتصنف كمطهرات من الدرجة المنخفضة كأملاح الأمونيوم الرباعية، الفينولات، المنظفات (وهي مناسبة كمنظفات للأسطح). تكون مطهرات هذه الدرجة قادرة غالباً على قتل أغلب الجراثيم وبعض الفطور والفيروسات المغلفة دون التأثير على عصيات السل والفيروسات غير المغلفة [38].

– يعد التلوث الجرثومي واحدًا من أكبر المشاكل الصحية في المستشفيات لما يسببه من الاخماج للمرضى الراقدين في المستشفى، وتسمى هذه الأخماج بأخماج المستشفيات Nosocomial Infection وأكثر المرضى إصابة بها مرضى وحدات العناية المركزة ICU_s (Intensive– Care Units) [39–40]

– كما تشير التقارير بأن حوالي 10–5 % من الراقدين في وحدات العناية المركزة في مستشفيات الولايات المتحدة يكتسب الإصابة بهذا النوع من الأخماج [41]، كما أشارت إحدى البحوث إلى أن من بين 100–60 ألف مريض مصاب بخمج المستشفيات يموت منهم نحو 10–5 ألف سنويا في فرنسا [42].

– يعتمد حصول الخمج وتطوره على عدة عوامل مهمة تشمل: مصدر وعدد وفوعة وطبيعة الجراثيم المسببة للخمج، أو طريقة تعرض المريض للعدوى والوسيلة التي انتقلت بواسطتها الجراثيم، وإن ميكانيكية وتداخل هذه العوامل يطلق عليه عادة بسلسلة الخمج Chain Of Infection إذ يحدث الخمج في ظروف مناسبة وعند توافر العوامل السابقة [43].

– تستخدم المطهرات الكيميائية في العديد من المستشفيات والمختبرات بشكل عشوائي ودون الرجوع إلى تعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العبوة الخاصة بالمطهر الكيميائي، مما يجعل المطهرات تفقد فعاليتها بسبب الاستعمال غير المناسب وفي المكان غير المناسب أو لكونها مستخدمة بتراكيز غير ملائمة، فالتلوث يحدث بسبب

التراكيز غير الملائمة المستعملة للمطهرات الكيميائية، إذ ساهم الاستعمال العشوائي للمطهرات الكيميائية في المستشفيات في ظهور العديد من السلالات الجرثومية المقاومة للعديد من المطهرات والصادات على حد سواء، مما ينجم عنه مشكلة خطيرة تكمن في صعوبة السيطرة على الأمراض المعدية، وقد أظهرت الدراسات أن للمطهرات دوراً كبيراً في حدوث الإصابات المكتسبة من المستشفيات وذلك عند استعمالها بشكل عشوائي وغير مدروس وإن الأحياء المجهرية المعزولة من محاليل تلك المطهرات تعد دليلاً واضحاً على مقاومة تلك الأحياء لها مما يجعلها مصدراً لحدوث تلك الإصابات[35].

أهمية البحث وأهدافه :

1. أهمية البحث:

إن زيادة مقاومة الجراثيم للعوامل المضادة للأحياء الدقيقة Antimicrobial agents شكل مشكلة منتشرة على نطاق عالمي، وشكل المقاومة أو نموذجها يختلف باختلاف المناطق، وهي أكثر شيوعاً في البلدان النامية.

لذلك تأتي أهمية البحث من ضرورة متابعة حساسية الزوائف للصادات الحيوية المستخدمة في علاج الأخماج الناجمة عنها والتي تزداد بسبب الاستعمال العشوائي للصادات الحيوية من قبل العاملين في القطاع الصحي أو المرضى أنفسهم، والذي أدى بدوره إلى ظهور سلالات جديدة تحمل صفات مقاومة عالية لهذه الصادات.

أما المطهرات فتمتاز بتأثيرها المحدود على الجراثيم، لذلك كان لابد من توضيح أثر الاستعمال العشوائي للمطهرات بدون اتباع التعليمات الخاصة بالشركة المصنعة، والذي بدوره يؤدي إلى تهديد سلامة المرضى الراقدين في المستشفيات وتلوث بيئتها الداخلية، بالإضافة إلى ظهور سلالات مقاومة لهذه المطهرات.

لهذا لابد من إجراء الفحوصات الدورية والاختبارات الكيميائية الحيوية وتأكيد هذه النتائج بالدراسات الجزيئية لتحديد صفاتها الجديدة المكتسبة.

2. أهداف البحث:

يهدف البحث إلى التقصي عن جراثيم الزائفة الزنجارية وإجراء الاختبارات حولها وذلك نظراً لأهمية معرفة العزلات الجرثومية التي تكتسب تحوراً وراثياً يجعلها أكثر ضراوة في

الإمراضية وذات قدرة عالية على مقاومة الصادات الحيوية، وذات تأثر ضعيف بالمعقمات والمطهرات فقد ارتأينا القيام بهذه الدراسة التي تهدف إلى:

1- عزل وتشخيص عزلات الزائفة الزنجارية المسببة لأخماج الجروح والإصابات المختلفة عند المرضى والملوثة لبيئة المستشفيات من خلال اجراء الاختبارات الكيميائية الحيوية لها.

2- التحري عن مدى حساسية الجراثيم المعزولة لبعض الصادات الحيوية، وتحديد العزلات المقاومة.

3- قياس فعالية بعض المطهرات المتداولة في مستشفيات مدينة حمص في تثبيط أو قتل الجراثيم ضمن تراكيز محددة.

المواد وطرائق العمل:

1. المواد المستخدمة:

i. أقراص الصادات الحيوية:

استخدمت في الدراسة الصادات التالية الموضحة في الجدول (1) المجهزة من شركة **Abtek** (Liverpool L9 7AR, UK)

جدول (1) : أقراص الصادات المستخدمة في الدراسة مع رمزها العلمي وتركيزها بالميكروغرام

الصاد الحيوي	الرمز العلمي	التركيز بالميكروغرام
الأزيترزمايسين	AZM	15
الاميبينيم	IMP	10
سيبروفلوكساسين	CPR	5
سيفتازيديم	CAZ	30
أمبسيلين	AM	10

i. الأوساط الزرعية:

استخدمت مجموعة من الأوساط الزرعية في الدراسة موضحة في الجدول (2) مع الشركات المصنعة لها:

الجدول (2): يوضح الأوساط الزرعية المستخدمة في الدراسة مع الشركات المصنعة لها

الوسط الزرعي	الشركة المصنعة
Broth Agar	Titan Biotech LTD / India
Nutrien Agar	Microxpress
Blood Agar	Himedia
Simmons Citrate Agar	Himedia
Mueller Hinton Agar	Himedia
Kligler Agar	Merck KGaA / Germany

i. المطهرات:

استخدمت نوعين من المطهرات الأكثر شيوعا في غرف العمليات لتطهير الجروح وتعقيم الأسطح وهي موضحة في الجدول رقم (3) مع الشركات المصنعة لها:

الجدول (3) يوضح المطهرات المستخدمة في الدراسة

المطهر	الاسم التجاري	الشركة المصنعة	التركيز
البوفيدون	بوفيلان رغوي	HCH Damascus	%4
سايديكس	كومبي انسترومنت N	Antiseptica الألمانية	كل 100 مل تحوي 8 غ غلوتر الدهيد 5.75 غ فورم أسيتال

2. طرائق العمل:

i. الأوساط الزرعية:

حضرت الأوساط الزرعية حسب تعليمات الشركة المصنعة، وعقمت بجهاز الصاد الموصد بدرجة حرارة 121 مْ لمدة 15 دقيقة.

A- المرق المغذي Broth Agar

B- الأغار المغذي Nutrient Agar

C- آغار الدم Blood Agar

D- آغار كليجلر Kliglar Agar

E- سيترات سيمون Cimmons Citrat

ii. جمع العينات:

جمعت العينات من المرضى في الفترة ما بين 1 تشرين الأول 2018 حتى 21 كانون الأول 2020 حيث تم جمع 200 عينة من حالات مرضية مختلفة ومن اسطح وأجهزة طبية حيث تضمنت العينات الايجابية ما يلي:

- 10 عينات إدرار.
- 5 عينات قيح توزعت 4 عينات قيح من أذن وعينة قيح جرح في القدم
- 1 عينة قشع.
- 1 عينة سائل منوي.
- 3 عينات أسطح (جهاز سحب مفرزات – سرير غرفة عمليات – حاضنة خدج)

iii. العزل والتشخيص الجرثومي:

A- العزل:

زرعت العينات المنشطة على وسط أغار الدم للتحري عن الجراثيم الملوثة للعينات وحضنت بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة للحصول على المستعمرات وأعيد زرعها للحصول على جراثيم نقية.

بعد الحصول على مستعمرات نقية للعينات المدروسة تم اكثارها على وسط المرق المغذي بالحضن لمدة 24 ساعة بالدرجة 37 مْ، وتم الاحتفاظ بها على وسط آغار مغذي مائل (Salint) لتصبح جاهزة لإجراء الاختبارات الجرثومية.

B- التشخيص:

1.B. الخصائص الشكلية:

اعتمد على الصفات الزرعية للمستعمرات النامية على الأوساط الانتقائية و التفريقية إذ اعتمد على لون المستعمرة ، وحواف المستعمرة ، وارتفاعها ، وقوامها ، وقطرها وتكوين الصبغات على الوسط الغذائي وغيرها [50].

2.B. الخصائص المجهرية:

أجري الفحص المجهري للخلايا الجرثومية من خلال صبغها بصبغة غرام وفحصها تحت العدسة الزيتية للمجهر الضوئي .

C- التشخيص:

3.B. الاختبارات الكيموحيوية:

- **اختبار الاوكسيداز:**

نقلت مستعمرة واحدة نقية منماة على وسط الأغار المغذي بعمر 18-24 ساعة إلى شريحة زجاجية ووضعت فوق قطرة من المصل الفيزيولوجي ووضع فوقها قرص من الأوكسيداز فتحول لون القرص إلى اللون البنفسجي الغامق مباشرة دليل إيجابية الاختبار وقدرة الجراثيم على إمتلاك انزيم الاوكسيداز. [1]

- **اختبار الكاتالاز:**

وضع جزء من النمو الجرثومي على شريحة زجاجية وأضيف إليها قطرة من كاشف بيروكسيد الهيدروجين، وإن ظهور الفقاعات دليل على إيجابية الاختبار وقدرة الجرثوم على إنتاج الكاتالاز الذي يحفز تحرير غاز الأوكسيجين من تحلل المركب السام بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2).[1]

- **اختبار استهلاك السترات:**

لقحت الأنابيب الحاوية على وسط سيمون سترات المائل، بالطعن والتخطيط، وحضنت الأنابيب بدرجة حرارة 37 مْ ولمدة 24 ساعة، تحول اللون من الأخضر إلى الأزرق دليل على قدرة العزلات على استهلاك السترات كمصدر وحيد للطاقة.[2]

- **اختبار كليجلر:**

استعمل وسط Kligler Agar للكشف عن قدرة الجراثيم على تخمير سكر اللاكتوز والغلوكوز من خلال تغير لون الوسط بفعل كاشف الفينول الأحمر إلى اللون الأصفر او عدم تغير اللون، إذ لقحت موائل الوسط بالطعن إلى اسفل الانبوب والتخطيط على السطح المائل للوسط، إن تغير لون القعر فقط دون تغير لون المائل دليل تخمر الغلوكوز فقط.[1]

- **اختبار الحركة:**

استعمل وسط الحركة (Motility medium) الذي حضر بإضافة 4 غ من مسحوق الاغار إلى 20 غ من مسحوق المرق المغذي وأذيبت المحتويات في لتر من الماء المقطر وبعد التعقيم لقحت الأنابيب بالجراثيم بطريقة الطعن ثم حضنت الانابيب الملقحة بدرجة حرارة 37 مْ لمدة24 ساعة بوضع عامودي، استعمل هذا الاختبار للكشف عن قابلية الجراثيم على الحركة إذ إن انتشار النمو الجرثومي خارج حدود الطعنة دلالة على قابليتها على الحركة.[2]

- **الهيمولايسين:**

استعمل وسط أغار الدم الذي حضر حسب إرشادات الشركة المصنعة وبعد التعقيم تم زراعة الوسط بالجراثيم وحضنت بدرجة حرارة 37 مْ، لمدة 24 ساعة، نمت مستعمرات بلون غامق وحولها هالة شفافة بسبب قدرتها على حل الدم من النمط بيتا.[50]

الجدول(4): يوضح الفحوصات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص بكتريا *P. aeruginosa*

الاختبارات الكيموحيوية	*Ps.aeruginosa*
الأوكسيداز	+
الكاتالاز	+
كليجلر	-
اختبار الحركة	+
انتاج الصبغة	+
النمو بالدرجة 42 مْ	+
الهيمولايسين	+
استهلاك السيترات	+

i. حساسية الجراثيم للصادات:

أجري اختبار الحساسية للعزلات اتجاه 10 صادات متداولة صحيا في المستشفيات وذلك باتباع طريقة Kirby Bauer (1966) شملت الصادات الموضحة في الجدول (5).

فقد تم زراعة الجراثيم على وسط آغار موللر – هنتون المعقم بنشر 100 ميكروليتر من عالق الجراثيم (البالغ عددها 10^8 خلية لكل مل) على سطح الطبق وترك ليجف بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق ووضعت أقراص الصادات الحيوية على سطح الطبق، ثم حضنت بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة، وسجلت النتائج وفق قطر منطقة التثبيط المتكونة حول القرص واعتماداً على المسافات القياسية لقطر منطقة التثبيط الواردة في [37].

وتم اختبار كفاءة الصادات الحيوية عن طريق اجراء الاختبار السابق على السلالة القياسية

Ecoli K_{12} (Atcc 25922)

ii. فحص حساسية العزلات الجرثومية للمطهرات :

تم استخدام نوعين من المطهرات المستخدمة في غرف العمليات في المستشفيات لتعقيم الأسطح وتطهير الجروح، الموضحة في الجدول(3).

- تحضير تراكيز المطهرات Preparation of disinfectants concentration

حضر المحلول الخزين Stock solution لنوعي المطهرات وهي (البوفيدون – انسترومنت N) حسب تعليمات الشركة المصنعة وتحت ظروف التعقيم حضرت التراكيز الاتية (12.5 ،25 ،50 ،100)%، [44]، تم استخدام طريقة الانتشار في الأقراص لتحديد فعالية المطهرات.

– طريقة الانتشار في الأقراص:Disc Diffusion Method

استعملت في الدراسة أقراص ورقية من ورق الترشيح (نوع واتمان عدد 1) قطرها 8 مم بعد تعقيمها، تم في البداية فرش المعلق الجرثومي الموافقة للتركيز 10^8 x 1 CFU/ml على سطح أطباق موللر هنتون أغار حتى الحصول على التوزع الكامل المتجانس للمعلق على السطح بعد حوالي 15 دقيقة من توزيع المعلق الجرثومي تم تطبيق الأقراص الورقية المشبعة بالمطهر المطلوب دراسة تأثير تركيزه على الأطباق.

(حيث أشبع كل قرص ورقي ب 50 ميكروليتر من محلول المطهر المدروس قبل نقله إلى الوسط الزرعي).

حضنت الأطباق بالدرجة 37 مْ ولمدة 18–24 ساعة ثم تم قياس قطر هالة التثبيط المتشكلة حول الأقراص بعد انتهاء فترة الحضن.

أجريت اختبارات الانتشار في الأقراص ثلاث مرات لكل عينة. [45] [44]

النتائج:

كان الهدف الأساس من جمع العينات هي عزل جراثيم *P.aeruginosa* وشخصت اعتماداً على الصفات الشكلية للمستعمرات النامية إذ ظهرت على وسط آغار الدم بلون غامق ومحاطة بهالة شفافة.

أظهرت نتائج الفحص المجهري للخلايا الجرثومية المعزولة بأنها عصوية الشكل، متحركة، مفردة أو ثنائية الترتيب، سالبة لصبغة غرام.

كما بينت الفحوصات الكيميائية الحيوية التي أجريت على العزلات جميعها بأنها إيجابية الأوكسيداز والكاتالاز وذلك لقدرتها على انتاج هذه الإنزيمات.

كذلك كانت النتيجة إيجابية في اختبار السترات واتصفت جميعها بعدم قدرتها على انتاج غاز H_2S (غاز كبريتيد الهيدروجين) وغير مخمرة للغلوكوز واللاكتوز في اختبار كليجلر.

بينت جميع العزلات قدرتها على النمو بدرجة حرارة 42 مْ، وكذلك قدرة معظمهاعلى انتاج الأصبغة في وسط الأغار المغذي وأبدت جميعا نمواً قمياً في التيوغليكولات.

1. حساسية الجراثيم للصادات:

تم اختبار حساسية العزلات تجاه 5 صادات متداولة في المستشفيات ومختبرات التحاليل الطبية وبطريقة الأقراص، شملت:

سيبروفلوكساسين – ايميبينيم – ازيرومايسين – أمبيسيلين – سيفتازيديم.

إذ اختيرت هذه الصادات لشيوع استعمالها في معالجة بعض الأخماج الناجمة عن الإصابة بالزائفة الزنجارية

والجدول (5) يوضح نسب المقاومة والحساسية وما بينهما لهذه الجراثيم اتجاه الصادات المستخدمة بالدراسة، وبالاعتماد على نتائج الفحص (قياس قطر هالة التثبيط حول قرص الصاد) ومقارنتها مع الجداول القياسية وبحسب [3] وذلك لمعرفة مدى مقاومة الجراثيم للصادات المستعملة في مستشفيات ومخابر محافظة حمص وخطورة تلك المقاومة التي تمتد لتشمل طيف واسع من الصادات المختلفة.

جدول (5): يوضح نسب عزلات *P.aeruginosa* الحساسة والمتوسطة الحساسية والمقاومة للصادات قيد الدراسة

الصادات المستخدمة	العزلات الحساسة S		العزلات المتوسطة الحساسية I		العزلات المقاومة R	
	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة
AZM	8	%40	4	%20	8	%40
IMP	20	%100	0	%0	0	%0
CPR	14	%70	2	%10	4	%20
CAZ	6	%30	4	%20	10	%50
AM	0	%0	0	%0	20	%100

نلاحظ من الجدول السابق أن العزلات قد أظهرت مقاومة بلغت 100% اتجاه AM، كما لوحظ وجود مقاومة عالية اتجاه الصاد CAZ بنسبة 50%، أما بالنسبة للصاد AZM فكانت النسبة 40% .

كما حقق CPR نسبة مقاومة ضعيفة حيث بلغت 20%.

كما تميزت العزلات بحساسيتها العالية IMP إذ بلغت نسبة المقاومة 0%.

2. تحديد فعالية المطهرات:

أبدت العزلات الجرثومية مقاومة مختلفة تجاه تراكيز المطهرات المستخدمة، وقد يعود سبب المقاومة إلى اكتساب العزلات الجرثومية قيد الدراسة صفة المقاومة للمطهرات الكيمياوية عن الطفرات التي تؤدي إلى حصول تحورات في الاستقلاب الخلوي الذي يؤدي إلى زيادة محتوى الدهون ومن ثم مقاومتها لتلك المطهرات أو نتيجة لاكتساب مورثات المقاومة من البلازميدات أو المورثات القافزة Transposom [32].

أظهرت نتائج الدراسة أن السايدكس (انسترومنت N) بتركيز 100% و 50% و 25% هو الأكفأ في السيطرة على العزلات الجرثومية وهذه النتيجة جاءت مطابقة لما أورده [53].

أما عن البوفيدون فقد أظهرا انخفاضا في قطر هالة التثبيط وهذا دليل عدم كفائته اتجاه هذه العزلات.

المناقشة:

– أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن سلالات *P.aeruginosa* هي واحدة من أكثر المسببات المرضية المرتبطة بالمستشفيات، إذ إن من الظواهر الشائعة في معظم المستشفيات العامة ازدياد نسبة حدوث الإصابة بهذه الجراثيم التي لها القابلية على استعمار مواقع مختلفة من الجسم، إذ تفضل المناطق الرطبة مثل الأغشية المخاطية للأنف والأذن، الحلق، الإدرار، بالإضافة إلى البراز.

– عند عزل وتشخيص جراثيم *P.aeruginosa* بالاعتماد على الصفات المظهرية للمستعمرات النامية حيث ظهرت على وسط آغار الدم بلون غامق ومحاطة بهالة شفافة مما يدل على قدرتها على تحلل الدم .

– أظهرت العزلات مقاومة عالية اتجاه الأمبيسيلين وقد يعود ذلك إلى انتاج انزيمات البيتالاكتماز [49]، حيث أظهرت الدراسة [48] نتائج مطابقة لدراستنا حيث كانت نسبة المقاومة 100%.

– تطابقت نتائج دراستنا مع ما اظهرته [54] حيث كانت نسبة المقاومة للسيبروفلوكساسين تساوي 20%، وكانت قريبة جداً مما توصل إليه الباحث [21] الذي وجد أن نسبة المقاومة 18% في حين أن [22] ذكر أن نسبة المقاومة 29.2%.

– تخالفت نتائج الدراسة مع [20] و [47] حيث كانت نسب المقاومة 0% و 8% على الترتيب.

يعود السيبروفلوكساسين لزمرة الفلوروكينولينات والتي عرفت بفعاليتها العالية في مقاومة نمو هذه الجراثيم،حيث تعمل على تثبيط بناء DNA الجرثومي عن طريق إعاقة انزيم DNAgyrase مثبطة بذلك تضاعف واستنساخ DNA، أما مقاومة الزائفة الزنجارية لهذه المجموعة من الصادات فيعود إلى حدوث طفرة في الانزيم الهدف DNAgyrase [46]، أو بفعل نظام الدفق الخارجي [19].

– أما بالنسبة للسيفتازيديم فكانت النتائج متباعدة جدا حيث ظهر في احدى الدراسات نسبة مقاومة 9.1% [20] وفي دراسة أخرى [48] كانت النسبة 100%.

في حين تصدر الامبينيم الصادات بانه أكثر الصادات حساسية اتجاه الزائفة الزنجارية إذ بلغت نسبة المقاومة 0% وهذا ما أوردته معظم الدراسات مثل [48] و [49] و[47] في حين خالفت الدراسة [20] التي أظهرت نسبة مقاومة تساوي 90.90%.

– تعود حساسية العزلات إلى أن معظم سلالات *P.aeruginosa* قابلة للحث على صبغيات البيتالاكتاماز الموزعة في المجموعة (1) من تصنيف Bush [31]، والفئة C من تصنيف Ambler [26]، والفئة الأولى من مخطط ريتشموند وسايكس Richmond and Sykes [15].

– يحفز الايميبينم انزيم البيتالاكتاماز بقوة ويتحلل ببطئ بوساطته حيث يستغرق حوالي دقيقة واحدة (Turnover Number{ K_{cat}} = 1/min) بالمقارنة مع السيفوتاكسيم الذي يتحلل ب 15/min.

وهكذا فإن قيم ال MIC_S للايمبنيم الخاص بسلالات البيتالاكتاماز المحفزة وطفراتها الخاصة بها تساوي (1 to 2) ميكروغرام/مللتر.

في حين أن الطفرات التي تعاني من نقص البيتالاكتاماز تكون قيمة ال MIC_S لها مابين (0.125 to 0.25) ميكروغرام/مللتر [7].

يتم تحلل معظم السيفالوبورينات والبنسيلينات المضادة للزوائف بسرعة أكبر من الامبنيم بوساطة البيتالاكتاماز ولكنها لاتحفز تركيبها وبالتالي فإن ال MIC_S الخاصة بسلالات البيتالاكتاماز التي تحفزها منخفضة مثل تلك الخاصة بالطفرات القاعدية، في حين ان الطفرات غير المحفزة تكون أكثر مقاومة [7،8].

إحدى النتائج المهمة لهذه الملاحظات هي أن البنسيلينات والسيفالوسبوريبنات تميل إلى اختيار المطفرات من المجموعة المحفزة في حين أن الامبينيم لا يميل إلى هذه المجموعة [7،9].

مع ذلك يمكن أن تنشأ مقاومة الامبنيم بسهولة في *P.aeruginosa* عن طريق الفقد الطفري ل D_2 porin [10،11]، ويشكل هذا البروتين مسام الغشاء الخارجي القابل للنفاذ للكاربمينات ولكن ليس للبنسيلين والسيفالوسبورين [12]، ومع ذلك لا يزال من غير المؤكد ما اذا كانت خسارة D_2 porin وحدها تسبب مقاومة الامبينيم أو ما إذا كان النشاط الضعيف للبيتالاكتاماز ضروري ايضاً.

جاءت نتيجة هذه الدراسة أيضاً أن السايدكس (انسترومنت N) بتركيز 100% و 50% و 25% هو الأكفأ في السيطرة على العزلات الجرثومية مطابقة لما أورده [53].

في حين أبدت بعض العزلات مقاومة عالية اتجاه هذا المطهر بالتراكيز الدنيا وقد يعود السبب إلى امتلاك الجراثيم السالبة لصبغة غرام مقاومة داخلية Intrinsic resistant المتمثلة بالطبقة الخارجية الحاوية على الدهون المتعدد السكريد، اذ تعمل هذه الطبقة على اعاقة دخول المركبات الكيمياوية إلى داخل الخلية الجرثومية [36]، أو قد يكون سبب المقاومة هو وجود خلل في استخدام المطهرات والصادات الحياتية في المستشفيات أو في أي مركز صحي من شأنه ان يؤدي إلى زيادة مقاومة الجراثيم لتلك المركبات الكيمياوية وفشل في عمليات التطهير والتعقيم ومن ثم تصبح تلك المراكز أو المؤسسات مواقع لانتشار العدوى بتلك الجراثيم رغم كونها المكان الذي يتلقى فيه المريض علاجه [34].

لذلك ينصح (2000) Autton [33] إلى ضرورة الانتباه إلى عمليات التعقيم والتطهير في المستشفيات والاهتمام بكل ما من شانه ان يعزز من تطبيق هذه العملية بصورة دقيقة لأنه ان حدث هذا فليس فقط لإنقاذ حياة المرضى الراقدين وإنما لإيقاف كوارث صحية قد تحل بالعالم كله.

أما عن البوفيدون فقد أظهر انخفاضاً في قطر هالة التثبيط وهذا دليل عدم كفاءته اتجاه هذه العزلات وهذا جاء موافقاً للدراسة [45] الذي برر عدم كفاءة البوفيدون بأحد العاملين:

- يصبح اليود I2 لدى تحرره من معقد PVP–I بالتمديد غير ثابت وأكثر عرضة للتصعد

  و/أو التحول لصيغ أخرى غير فعالة من اليود.
- من ناحية أخرى، إن انخفاض تركيز PVP كنتيجة للتمديد يقلل من دوره المساعد في إيصال جزيئات اليود لتصبح على تماس مع الخلايا الجرثومية.

الاستنتاجات والتوصيات:

1. الاستنتاجات:

تميزت جميع عزلات *Psedumonas aeruginosa* بحساسيتها التامة اتجاه الصاد الحيوي الايمبنيم مما يعطي مؤشراً على إمكانية استعمالها في علاج الأخماج التي تسببها هذه الجرثومة وخاصة القيحية منها، وأظهرت العزلات مقاومة متوسطة اتجاه الصادين الحيويين السيفتازيديم والأزيتروميسين والتي يمكن ان تساعد في علاجها.

بينت الدراسة أن الامبيسيلين غير فعال في العلاج حيث أظهرت العزلات مقاومة عالية جداً نحو هذا الصاد.

كما توصلت دراستنا إلى معرفة فعالية المطهرات وقدرتها على قتل الجراثيم الضارة ومعرفة أفضل التراكيز الفعالة ضد الأنواع المستخدمة في هذه الدراسة، وبناءً على مجمل النتائج المستخلصة نلاحظ أن مطهر السايدكس فعالا في جميع العزلات وبكافة التراكيز في حين كان البوفيدون قليل الفعالية اتجاهها.

2. التوصيات:

توصي هذه الدراسة بما يلي:

1. اجراء فحص الحساسية للصادات الحيوية للجراثيم المعزولة قبل إعطاء العلاج للمريض.
2. استخدام المطهرات ذات المواد الفعالة المعلومة في مخابر الاحياء الدقيقة.
3. عدم استخدام المطهرات عشوائياً.
4. استخدام كل مطهر أو معقم على حسب الغرض المصنع لأجله.

المراجع References:

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

[2] 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.

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

[4] **Gawish**, A.; Mohammed, N.; El-Shennawy, G. and Mohammed, H. (2013). An investigation of type 3 secretion toxins encoding-genes of *Pseudomonas*
aeruginosa isolates in a university hospital in Egypt. J. of Microbio. and Infec. Dise, 3 (3): 116-122.

[5] Cicek, A.C.; Saral, A.; Duzgun, A.O.; Cizmeci, Z.; Kayman, T.; Balci, P.O.; Dal, T; Firat, M.; Yazici, Y.; Sancaktar, M.; , Osman Birol Ozgumus, O.B. and Sandalli, C. (2013). Screening of class 1 and class 2 integrons in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* collected from seven Hospitals in Turkey: A Multicenter Study. J. Med. Microb., 3:227-233 .

[6] Pellegrino , F. P. C. ; Teixeira , L. M. ;Carvalho , M. G. S. ; Nouer , S.A. ;Oliveire , M. P. ; Sampaio , J. L. M. ;Freitas , A. D. ; Ferreira , A. L. P. ;Amorim , E.L.T. ; Riley , L. W. andMoreira, B. M. (2002). Occurrence of amultidrug resistant Pseudomonasaeruginosa clone in different hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. J Clin Microb.40(7):2420-2424.

[7] Livermore, D. M., and Y.-J. Yang. 1987. ,-Lactamase-lability and inducer power of newer P-lactam antibiotics in relation to their activity against 13-lactamase-inducibility mutants of Pseudomonas aeruginosa. J. Infect. Dis. 155:775-782.

[8] Curtis, N. A. C., R. L. Eisenstadt, C. Rudd, and A. J. White.1986. Inducible type I P-lactamase of Gram-negative bacteria and resistance to P-lactam antibiotics. J. Antimicrob. Chemother.17:51-61.

[9] Ashby, J., B. J. Kirkpatrick, L. J. V. Piddock, and R. Wise.1987. The effect of imipenem on strains of Enterobacteriaceae

expressing Richmond and Sykes class I P-lactamases. J. Antimicrob.Chemother. 20:15-22.

[10] Buscher, K.-H., W. Cullmann, W. Dick, and W. Opferkuch.1987. Imipenem resistance in Pseudomonas aeruginosa resulting from diminished expression of an outer membrane protein.Antimicrob. Agents Chemother. 31:703-708.

[11] Quinn, J. P., E. J. Dudek, C. A. Divencenzo, D. A. Lucks, and S. A. Lerner. 1986. Emergence of resistance to imipenem during therapy for Pseudomonas aeruginosa infection. J. Infect. Dis.154:289-294.

[12] rias, J., and H. Nikaido. 1990. Outer membrane protein D2 catalyzes facilitated diffusion of penems and carbapenems through the outer membrane of Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob.Agents Chemother. 34:52-57.

[13] Todor,K.(2004).University ofWisconsin-Madison.Departement of Bacteriology. Pseudomonas aeruginosa.

[14] Marthez,J.L. and Baquero,F.(2002).Interactions among strategies associated with bacterial infection pathogenicity, Epidemicity and antibiotic resistance.Clinical Microbiology Revews.15(4):647-679.

[15] Cotter , C.S. ; Avidano , M. A. ; Stringer ,S.P. and Schultz , G.S. (1996).Inhibition of proteases in Pseudomonas otitis media in chinchillas . Otolaryngol Head Neck Surg. 115 (4): 342-51.

[16] Van Delden, C.; Pesci, E. C.; Pearson, J. P. & Iglewski, B. H. 1998. Starvation selection restores elastase and rhamnolipid production in a Pseudomonas aeruginosa quorum-sensing mutant. Infect. Immun., 66:4478-4502.

[17] King, A. & Phillips, I. 1985. Pseudomonas and related bacteria in isolation and identification of microorganisms of medical and veterinary importance. Academic press. PP. 1-12. .

[18] Kates, S. G.; Me Ginley, K. J.; larson, E. L. & Leyden, J. J. 1993. Indigenous multiresistant bacteria from flowers in hospital environments. Am. J. Infect. Control. 19: 156-161. In year book of Infections Disease.

[19] Sheng, W.H.; Chen, Y.C.; Wang, J.T.; Chang, S.C.; Luh, K.T. and Hsieh, W.C. (2002). Emerging fluoroquinolone-resistance for

common clinically important gram negative bacteria in Taiwan. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 43:141–147.

[20] Al-Dahmoshi,Hussin Oleiwi Muttaleb,(2013). Genotypic and Phenotypic Investigation of Alginate Biofilm Formation among *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Burn Victims in Babylon, Iraq**.** Babylon University, Science Faculty-Biology Department, Iraq.

[21] DeMiguel Martinez, I.;Del Rosario Quintana, C.; Bolanos, Rivero, M. and Ramos Macias, A. (2005). Aetiology and therapeutic considerations in chronic otitis media. Analysis of a 5 years period. Acta. Otorrinolaringol. Esp. 56 (10): 459 – 462.

[22] 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.

[23] J.R.W.Govan.Practical Medical Micropiology.(1996).314-424.

[24] P.R.Murray,k.Rostental.Medical Micropiology.Edition(1998)-chap32.page258-561.

[25] Westwood, S.; Tommassen, J. and Jaeger, K.E. (2005). A novel lipolytic enzyme located in the outer membrane of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Bacteriol.181(22): 6977-6986.

[26] Knott-Hunziker, V., S. Petursson, S. G. Waley, B. Jaurin, and T.

Grundstrom. 1982. The acyl enzyme mechanism for P-lactamas action. The evidence for class C P-lactamases. Biochem.J. 207:315-322.

[27] Block, S. S. (1991)**.** Historical review. *In* Block, S. S. Disinfection, sterilization, and preservation. (4th ed). Philadelphia: Lea & Febiger. (3–17).

[28] Larson, E. L. (1996). Antiseptics. *In* Olmstad, R. N. APIC infection control & applied epidemiology: principles and practices. (191–197). U.S: Mosby-Year Book, Inc. St. Louis, Mo.

[29] Rutala, WA. APIC *guidelines for selection and use of disinfectants*. American Journal of Infection Control. **23,** 1995**,** 313–342.

[30] Drosou, A; Falabella, A; Kirsner, RS. *Antiseptics on wounds: an area of controversy.* Wounds. **15**, 2003, 149-166.

[31] Bush, K. 1989. Classification of ,-lactamases. Antimicrob. Agents Chemother. 33:259-276.

[32] McDonell,G.and Russell,A.(1999). Antiseptic and disinfectants Activity ,Action and Resistance ,Clin .Microbiol.Rev.12:147-176.

[33] Autton,M.E.(2000). Principle of sterilization In :Pharmceutic .the science of dosage from design .P.475**.**

[34] Mims, C. A.; Dockrell , H. M.; Goering , R. V.; Roitt , I.; Wakelin , D. and Zuckerman , M. (2004). Medical Microbiology .3rd ed. Mosby Company .USA.

[35] Wilson, G. (1983). "Bacterial resistance disinfections and Sterilization. P: 70-96. In: Topley andWilson's principles of Bacteriology, Virology and Immunity.", Vol. 1, 7th ed., Edward Arnold.

[36] Kim, J.Y.; Park, Y.J.; Kwon, H.J.; Han, K.; Kang, M.W. and Woo, G.J. (2008). Occurrence and mechanisms of amikacin resistance and its association with b-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: a Korean nationwide study. J Antimicrob Chemother. 62:47983,doi:10.1093.

[37] Clinical and Laboatory Standerds (CLSI).(2010) Performance Standerard for antimicrobial disk susceptibity Test ,Vol. (30),No.(1).

[38] Fraise, A. P; Lambert, P. A; Maillard, JY. (2008). Russell, Hugo and Ayliffe's Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization. (4th ed). England: John Wiley & Sons.

[39] Koseoglu, O., Kocagoz, S. Gur, D., and Akova, M. (2001)."Nosocomial blood streaminfection in a Turkish University Hospital: Study of Gram-negative bacilli and their sensitivity patterns.", *Inter. J. of Antimicrobial Agents.*, 17: 477-481.

[40] Deep, A.; Ghildiyal, R.; Kandian, S. and Shinker, N. (2004).“Clinical andMicrobiological Profile of Nosocomial Infections in the Pediatric Intensive unit (PICU).”, *Indian Pediatrics*, 41: 1238.

[41] Porbes, B. A.; Saham, D. F. and Weissfeld, A.S. (2002). "Baily and Scott's Diagnostic Microbiology.", 10th ed.,Mosby Company.Missouri.

[42] Dorchis, F. (2005). "Nosocomial infection and air filtration in operating Suites-Application of French Standard NFS 90-351:2003.".

[43] Baron, E. J., and Finegold, S. M. (1990). "Baily and Scotts diagnostic microbiology.", 8th ed., Mosby company. Missouri.

[44] Pommerville, J. C. (2013). Fundamentals of Microbiology. (10th ed). U.S: Jones & Bartlett Learning.

[45] Pelczer, M. J; Chan, E; Krieg, N. R. (2010). Microbiology: An Application Based Approach. New delhi: Tata McGraw Hill Education Private Limited.

[46] Martinez, J. L. and Baquero, F. (2002). Interactions among strategies associated with bacterial infections: Pathogenicity, epidemicity and antibiotic resistance. C. M. R. 15 (4): 647 – 679.

المراجع العربية

[47] أحمد،.زهراءعابد. زين العابدين، صلاح سلمان،(2015). التحري عن انزيمات البيتالاكتميز المستحثة في بكتريا الزائفة المعزولة من نماذج مرضية *Pseudomonas aeruginosa*الزنجارية مختلفة في مدينة كركوك .رسالة ماجستير،كلية العلوم، جامعة كركوك.

[48] الدوري،لؤي مناع إبراهيم.معروف،محمد نظير ،(2018).عزل وتشخيص أنواع من البكتريا اللاشائعة من أخماج مختمفة والتحري عن بعض عوامل ضراوتها. مجلة علوم الرافدين، المجلد 27، العدد 4/ عدد خاص بالمؤتمر العلمي الثالث لعلوم الحياة ، ص321-333.

[49] الفحام، سجاد كاظم حسين،(2017).دراسة جزيئية مقارنة لحساسية جرثومتي Pseudomonas aeruginosa و Proteus mirabilis لعدد من المضادات الحيوية والمستخلصات النباتية. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة القادسية.

[50] عبد الفتاح،سئلى،(2004).دور الزوائف الزنجارية في الأخماج البولية المشفوية وتحسسها للصادات. رسالة ماجستير، كلية الطب البشري-قسم الأحياء الدقيقة، جامعة دمشق.

[51] سمرة، سوزان، الزوائف Psedomonads والراكدات Actinobacters والجراثيم سالبة الغرام غير الشائعة. المحاضرة التاسعة، ميكروبيولوجيا(1)، كلية الصيدلة، جامعة الشام الخاصة.

[52] تكريتي، عدنان، (1993). الجراثيم الممرضة ومداواة أمراضها، الطبعة الأولى، دار ابن النفيس للنشر، الصفحة (244-239).

[53] الناشي، علي عبدالرحيم، الأوسي،غيداء رحيم لطيف،(2013). عزل وتشخيص البكتريا المتواجدة في مستشفيات مدينة الديوانية وبيان آليات السيطرة عليها باستخدام المضادات والمطهرات. مجلة القادسية للعلوم الصرفة، المجلد18، العدد3.

[54] العادلي،زينب فالح،الرماحي،سيوف خومان،(2016).مقاومة بعض أنواع المضادات الحيوية لعزلات*Pseudomonas aeruginosa* في مستشفيات مدينة الديوانية. رسالة ماجستير ،كلية العلوم، جامعة القادسية.