doi.org/10.52866/esj.2020.07.16.08

تصميم البادئات المتخصصة لجينات عوامل الضراوة لبعض أنواع البكتريا اللاشائعة والمعزولة من مصادر أخماج مختلفة

لؤي مناع ابراهيم الدوري
الجامعة التقنية الشمالية

محمد نظير معروف
جامعة تكريت - كلية التربية للعلوم الصرفة

الخلاصة :

جُمع (220) عينة من مصادر أخماج مختلفة من مرضى مستشفى تكريت التعليمي ومستشفى سامراء التعليمي والذين ظهرت عليهم أعراض الأصابة ومن كلا الجنسين وبفئات عمرية مختلفة للفترة ما بين شهر نيسان 2017 الى كانون الثاني .2018 أظهرت نتائج العزل أن عدد العينات التي ظهر فيها نمو بكتيري موجب على الأوساط المستخدمة هي 135 عينة بنسبة (61.4 ٪)، في حين أن 85 عينة بنسبة (38.6 ٪) من مجموع العينات الكلية لم تعطي نمو بكتيري يذكر، احتلت العزلات الشائعة في دراستنا العدد الاكبر من العزل النوعي بمجموع 111 عينة وبنسبة (82.2 ٪)، أما بالنسبة للعزلات اللاشائعة أظهرت 24 عينة نمو بكتيري (17.8٪)، بينت النتائج ان بكتريا *Morganella morganii* شكلت النسبة الأكبر من العزلات اللاشائعة وبواقع 3عزلات(12.5 ٪)، تلتها ، *Aerococcus urinae* ، *Micrococcus luteus* ، *Pseudomonas stutzeri* بعزلتين (8.2 ٪) ،أما بقية الأنواع فقد تم الحصول على عزلة واحدة فقط بنسبة(4.2 ٪) ، أوضحت النتائج إن جميع العزلات أظهرت حساسية مطلقة بلغت (100 ٪) للمضاد Imipenem، ومقاومة مطلقة (100 ٪) تجاه 10 مضادات ، أظهرت النتائج إمتلاك كل من بكتريا *Ochrobactrum anthropi* ، *Kocuria kristinae* ، لثلاثة عوامل ضراوة وهي β-lactamase، Urease ، Protease ، في حين إشتركت الأنواع البكتيرية *Sphingomonas paucimobilis* ، *Gemella sanguinis* ، *Aerococcus urinae*، *Pseudomonas stutzeri* ، *Pseudomonas fluorescens*. ، في إنها أعطت نتيجة موجبة لأختباري إنتاج β-lactamase، Hemolysin بينما امتلكت *Alloiococcus Otitis* ، *Morganella morganii* عاملين Urease. β-lactamase ، ، أما بالنسبة للعزلتين *Kocuria rosea* ، *Pantoea agglomerans* فقد أظهرت قدرتها على إنتاج نوع واحد فقط من β-lactamase.، تم استخلاص الـ DNA البلازميدي للعزلات اللاشائعة ، والتي تم تحديد جيناتها المسؤولة عن عوامل الضراوة ، وعند مراجعة الدراسات السابقة لم يعثر على بادئات مصممة لهذه الجينات ، لذلك فقد قمنا بتصميم جميع البادئات المستخدمة في الدراسة الحالية وفق شروط خاصة ببرامج تصميم البادئات، وبالأعتماد على قاعدة البيانات الأساسية في المركز الدولي للتقنيات الحياتية (NCBI). وعند إستخدام الـPCR وترحيل نتائجه على الهلام، أظهرت 10 بادئات متخصصة حزم إمتازت بتباين الأوزان الجزيئية تتبع لـ6 أنواع بكتيرية وكما يلي *Morganella morganii*(B-lac-Mu9، UreE) ، *Ochrobactrum anthropi* (B-lac-OANT ،) (UreC) ، والبادئات (B-lac-SP6، Hem-Sp6) لبكتريا *Sphingomonas paucimobilis* ، و *Pseudomonas fluorescens* للبادئين (B-lac-PSF113، Hem-PSF113)، وبادئ لجين واحد الهيمولايسين لبكتريا *Pseudomonas stutzeri* (Hem-PSTAB) ، كذلك بادئ لجين واحد فقط لمقاومة المضادات الحيوية للبكتريا *Pantoea agglomerans* (B-lac-BEE12) ، إن جميع البادئات المتخصصة المصممة المذكورة أظهرت حزم متباينة على الهلام عند الترحيل الكهربائي .

الكلمات المفتاحية: بادئات متخصصة، عوامل الضراوة، انزيم البلمرة المتسلسل، المحتوى الوراثي .

Design of specific primers for the genes of the virulence factors for some types of uncommon bacteria isolated from Different Infection

L.M.I. Al-douri
Northen Technical university

M.N.Maaroof
Tikrit University-college of education for pure science

Abstract:

A total of 220 samples were collected from different sources of infection from the patients of Tikrit Hospital and Samarra Teaching Hospital who showed symptoms of infection, both sexes and different age groups for the period from April 2017 to January 2018. The results of the isolating showed that the number of samples that showed positive bacterial growth on the used media was 135 samples (61.4%),while 85 samples (38.6%) of total samples did not produce significant bacterial growth, The common bacteria isolates in our study were the highest number of isolates with a total of 111 samples and 82.2%, isolates uncommon bacterial showed 24 growth samples (17.8%). The results showed that *Morganella morganii* had the highest percentage of isolates by 3 isolates (12.5%), followed by *Aerococcus urinae, Pseudomonas stutzeri*, Micrococcus luteus with isolates (8.2%),the other species, only one isolate (4.2%) was obtained, All isolates showed an absolute sensitivity of 100% for Imipenem and 100% absolute resistance to 10 antibiotics,the results showed that both bacteria *Kocuria kristinae, Ochrobactrum anthropi*, have three virulence factors ,Protease, Urease, β-lactamase, While the bacterial species *Sphingomonas paucimobilis, Gemella sanguinis, Aerococcus urinae, Pseudomonas stutzeri, Pseudomonas fluorescens*, gave a positive test result for the production of β-lactamase, Hemolysin, while *Morganella morganii, Alloiococcus Otitis* have two factor ,Urease, , B-lactamase. As for the isolates *Pantoea agglomerans, Kocuria rosea* has shown its ability to produce only one type of β-lactamase, Plasmid DNA was extracted from uncommon isolates, whose genes responsible for the virulence factors were identified. In reviewing the previous studies, no primers were found for these genes, so we designed all the primers used in the current study under the terms of special programs for the design of primers and according on the basic database at the National Center for Biotechnology Information (NCBI). When using PCR and transmitting its results to the gel, 10 specific primers showed variation bands of molecular weight tracking for 6 bacterial species as follows: *Morganella morganii* (B-lac-Mu9, UreE), Ochrobactrum anthropi (B-lac-OANT , UreC) (B-lac-SP6, Hem-Sp6) for *Sphingomonas paucimobilis*, and *Pseudomonas Fluorescens* for two primer (B-lac-PSF113, Hem-PSF113), and one primer for hemolysin gene for *Pseudomonas stutzeri* (Hem-PSTAB),and Only one antibiotic resistance gene to the bacteria *Pantoea agglomerans* (B-lac-BEE12), all of the specific primers designed for the above indicated different pands on the gel in electrophoresis .

المقدمة

تعرف الأخماج بأنها دخول وتضاعف الكائن الحي المجهري داخل جسم المضيف والذي يولد تفاعل معين في جسم المضيف ، إن أهم الأخماج المرضية المكتسبة للأنسان داخل المستشفيات هي أخماج الجروح Wound infection وأخماج الجهاز التنفسي Respiratory tract infection ، كما وتُعد الاصابة بالتهابات المسالك البولية (Urinary Tract Infection UTI) من أكثر الإصابات البكتيرية في الإنسان ولكافة الفئات العمرية المختلفة [1][2]. تعد البكتريا من المسببات الرئيسية والمهمة لهذه الأخماج وتتنوع البكتريا المسببة للخمج بين البكتريا واسعة الأنتشار (الشائعة) الاكثر شيوعاً *E.coli*، *Staph.aureus* ، *Pseudomonas. aeruginosa*، *Klebsiella.pneumonia* ، *Proteus.mirabilis* [3] [4]. والبكتريا ذات التواجد الضئيل (اللاشائعة) مثل أنواع الجنس Micrcoccus ، [5] Aeromonas ، Kocuria Citrobacter ، Acinetobacter ، والتي تمتاز بأمتلاكها عوامل الضراوة المتنوعة من خلال انتاجها للذيفانات وانزيم الـ Urease، أنزيم Protease ، والقدرة على تحلل كريات الدم من خلال إنتاج إنزيم الـ Hemolysin [4]. عرفت المضادات الحيوية بأنها مركبات عضوية تنتج بواسطة أنواع معينة من الإحياء المجهرية بصورة طبيعية أو مصنعة وتستطيع هذه المواد وبتراكيز ضئيلة قتل أو تثبيط أحياء مجهرية إخرى ، من خلال آليتين الأولى اعاقة التكامل البنائي حيث يمنع بناء الغشاء البلازمي والجدار الخلوي ، والثانية البناء الأيضي مثل بناء الأحماض النووية وصناعة البروتينات المختلفة والتي تلعب دوراً رئيساً في حياة الخلية البكتيرية[6]. تضم المضادات الحيوية مجاميع كبيرة من المضادات ومنها البيتالاكتام وتشترك هذه المجاميع بأحتوائها على حلقة البيتالاكتام تتفرع الى أربع مجاميع رئيسة هي الـ (Penicillin) (Cephalosporins) ، (Carbapenems) ، (Monobactams) [3]. اذ تعد الأكثر استعمالاً وشيوعاً بسبب تأثيرها العالي بالقضاء على البكتريا وقلة التأثيرات الجانبية وسميتها المنخفضة على خلايا الأنسان مقارنة مع المجاميع الأخرى[7]. تعد مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية بأنتاجها لأنزيمات البيتالاكتام وانتاجها لعوامل الضراوة من السموم وانزيمات Protease، Urease ، وتحليلها لكريات الدم واحدة من المشاكل الصحية الرئيسة ومن أخطر الظواهر الوبائية على المجتمع البشري والتي تسبب انتشار واسع للبكتريا ، لذا هدفت دراستنا عزل الأنواع البكترية اللاشائعة والكشف عن قدرتها على انتاج عوامل الضرواة ومقاومتها للمضادات الحيوية وتصميم البادئات المتخصصة لها للحد منها والسيطرة عليها.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات Specimens Collection

جمعت (220) عينة من مصادر مختلفة المصابين بالـ(UTI) والجروح والتهاب الأنف والأذن والحنجرة ، للفترة مابين 2017/ 4/ 1 الى 2018/ 1/ 1 ومن كلا الجنسين بفئات عمرية مختلفة من الراقدين والمراجعين لمستشفى سامراء ومستشفى تكريت التعليمي والذين يعانون من اعراض الاخماج المختلفة. سجلت المعلومات المتعلقة بالعمر والجنس ووجود إصابات سابقة بالخمج وتناول المضادات الحيوية لكل مريض على حدة .

تشخيص العزلات البكتيرية

Bacterial identification

الفحص المجهري Microscopic examination

أخذت مسحة من مستعمرات كل مزرعة بكتيرية ومزجت مع قطرة من الماء المقطر الموضوعه على شريحة زجاجية وصبغت بصبغة كرامGram stain ثم فُحِصَت بالمجهر الضوئي باستخدام العدسة الزيتية بقوة تكبير نهائي X100 لملاحظة استجابة الخلايا للصبغة وشكلها وترتيبها.

الأختبارات الكيموحيوية: .[8][9].

1 **-** مجموعة اختبارات الـ **IMViC** .

أ.اختبار إنتاج الاندول . Indole Production Test

ب- اختبار المثيل الاحمر Methyl Red Test (M.R).

جـ - اختبار فوكس بروسكور -Voges Proskaur Test (V.P).

د- اختبار استهلاك السترات Citrate Utilization Test.

2 - اختبار الكاتاليز Catalase test.

3 - اختبار الاوكسيديز Oxidase test .

4 - اختبار تخمر المانيتول Mannitol fermentation test.

تأكيد التشخيص بأستخدام جهاز

Vitek 2 compact system

استخدم هذا الجهاز في تأكيد تشخيص العزلات بعد تشخيصها في الطرق الاعتيادية، إذ يستخدم لتشخيص اغلب انواع البكتريا من خلال عدد تشخيصية خاصة بالجهاز، تحتوي عده التشخيص على 64 حفرة تلقح بمعلق بكتيري بعمر 24 ساعة ويحضن لمدة 24 ساعة ويسجل الجهاز التغيرات اللونية الحاصلة نتيجة لنمو البكتريا.

فحص الحساسية للمضادات الحيوية

Antibiotic sensitivity test

أجري اختبار الحساسية باستعمال (20) نوعا من المضادات الحيوية على العزلات البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كَرام قيد الدراسة بطريقة الانتشار بالإقراص على وسط مولر-هنتون وبحسب طريقة (Kirby-bauer, method) المعدلة والموصوفة من قبل منظمة الصحة العالمية [10].

التحري عن انتاج عوامل الضراوة

أختبرت قدرة العزلات اللاشائعة على تحليل كريات الدم الحمراء واليوريا وتحليل البروتينات والمقاومة للمضادات الحيوية بأستخدام الأختبارات[11] [12]:

1 - اختبار إنتاج إنزيم اليوريز **Urease test**.

2 **-** اختبار انتاج انزيم البيتالاكتاميز

β - Lactamase production test.

3 - اختبار إنتاج الهيمولايسين

Hemolysin production test.

4 – اختبار انتاج البروتيز

Alkaline protease test.

البادئات Primers

استعمل الدنا البكتيري المستخلص من 6 عزلات بكتيرية لاشائعة كـ (Template) في تقنية PCR بأستخدام 14 بادئ متخصص، صممت حسب ظروف خاصة وبرامج معدة لهذا الغرض ، وقد استعملت البادئات النوعية في تحديد التسلسل الخاص بجينات عوامل الضراوة المدروسة Hemolysin، β – Lactamase،Urease ، Protease.

العزل والتشخيص

Isolation and Identification

أظهرت النتائج بأن عدد العينات التي ظهر فيها نمو بكتيري موجب على الأوساط المستخدمة هي 135 عينة أي بنسبة (61.4 ٪) من مجموع العينات للمرضى المصابين بالأخماج المختلفة ، في حين أن 85عينة بنسبة (38.6 ٪) من مجموع العينات الكلية لم تعطي نمو بكتيري يذكر، هذه النتيجة مقاربة مع النتائج التي حصل عليها [13] في دراسته لأخماج الجروح والجهاز التنفسي والمسالك البولية في كركوك الذي وجد أن النتيجة الموجبة للنمو هي (62.22٪) وعدم وجود نمو لـ68 عزلة بنسبة (37.77٪). وقد احتلت العزلات الشائعة في دراستنا العدد الأكبر من العزل النوعي بمجموع 111 عينة وبنسبة (82.2٪)، أما بالنسبة للعزلات اللاشائعة أظهرت 24 عينة نمو بكتيري (17.8٪)، وهي تتطابق مع ماتوصل اليه الباحث[14] بحصوله على 23 عزلة من البكتريا اللاشائعة المشابهه لأنواع عزلات دراستنا من بين 286 عزلة.

شخصت العزلات النامية بالاعتماد على الفحوصات المجهرية والمظهرية والأختبارات الكيموحيوية ، وجهاز الـ Vitek 2 ، حيث اظهرت نتائج التشخيص الأختلاف في أنواع البكتريا المعزولة وأعدادها ونسبها وكما مبين في الجدول(1).

أظهرت النتائج أن بكتريا *Morganella morganii* شكلت النسبة الأكبر من العزلات المتحصل عليها وبواقع 3عزلات (12.5 ٪)، عند الفحص المجهري وجدت بشكل عصيات قصيرة مائلة الى الشكل الكروي سالبة لصبغة كَرام ، ان هذه النتائج جاءت متقاربة لنتائج ماتوصل اليه الباحثان [15] بحصولهم على عزلتين من بين 220 عزلة في دراستهم المحلية في مدينة بغداد ، في حين إختلفت النتائج بشكل كبير مع الدراسة العالمية التي قام بها الباحث [16] بحصوله على 1219 عزلة من النوع البكتيري *Morganella morganii* من أخماج الجروح والمسالك البولية في مستشفيات تايلند وللفترة من 2007-2011 إن سبب هذا الاختلاف قد يعزى للموقع الجغرافي لمنطقة العزل أو اختلاف الظروف البيئية .

كما وجدت عزلة واحدة لبكتريا *Citrobacter koseri* وبنسبة (4.2 ٪) من أحد المصابين بالتهاب المسالك البولية وإنها مخمرة للاكتوز على الوسط الزرعي ، سالبة لكَرام عند الفحص المجهري، كما يوضح الجدول (1) ظهور عزلة وحيده وبنسبة (4.2 ٪) تابعة للنوع *Citrobacter frendii* مخمرة للاكتوز على وسط الماكونكي MacConkey agar ذات مستعمرات صغيرة ومشابهه في نتائج الاختبارات الكيموحيوية للنوع *Citrobacter koseri* ما عدا انها سالبة لأختبار الأندول. تقاربت هذه النتائج مع دراسة الباحث [17] في النيبال بحصولهم على 5 عزلات تتبع الجنس *Citrobacter* spp اثنان تعود للنوع *Citrobacter koseri* و3 عزلات عائدة للنوع *Citrobacter frendii* من مجموع 219 عزلة للمصابين بالـ UTI .

كما يشير الجدول(1) الى أعداد ونسب عزلات بكتريا *Ps.stutzeri* وبواقع عزلتين وبنسبة (8.2 ٪) من مجموع العزلات اللاشائعة ، ظهرت بشكل عصيات سالبة لكَرام تحت المجهر وغير مخمرة لسكر اللاكتوز على الـ MacConkey agar أما على وسط الـ Nutrient agar فكانت مستعمراتها صغيرة ومتراصة مع بعضها البعض بشكل كبير ، خشنة ، جافة، غير منتجة للصبغات

تكـون ذات لـون أبيـض شـفاف لـكلا العزلتـين، موجبـة لأختبـاري الكاتليـز والأوكسـيديز، وعنـد تشـخيصها بجهـاز الـ Vitek وجـد عـدم إمتلاكهـا للـ β-galactosidase واحتماليـة التشـخيص كانت 98٪ و99٪ عـلى التـوالي للعزلتين. إقتربـت الدراسـة الحاليـة مـع الباحـث[18] عنـد دراسـتهم لتلـوث القثاطـر والمسـالك البوليـة حيـث تحصلـوا عـلى 191 عزلـة تتبـع الجنـس Pseudomonas وكانـت نسـبة 8 ٪ من نصيب النوع *Ps.stutzeri* .

كـما أظهـرت النتائـج وجـود عزلـة واحـدة بنسـبة (4.2 ٪) تعـود الى النـوع *Ps.fluorescens* ، تـم عزلهـا مـن القشـع،كانت سـالبة لكَـرام عنـد فحصهـا مجهريـاً وبشـكل عصيـات واضحـة، وغـير مخمـرة للاكتـوز، موجبـة للأوكسـيديز والكاتليـز ، أن الدراسـات العديـدة المحليـة والعالميـة التـي قـام بهـا الباحثين بينـت إختـلاف مـع دراسـتنا مـن ناحيـة مصـدر العـزل الخمجـي ، حيـث أشـارت الدراسـة المحليـة في محافظـة ذي قـار للباحـث [19] الى حصولهم عـلى عزلـة واحـده مـن *Ps.fluorescens* معزولـة مـن الجـروح، وكذلـك الدراسـة التـي قـام بهـا كل مـن [20] بحصولهـم عـلى عزلـة واحـدة لنفـس النـوع عزلـت مـن الجلـد الخارجـي لأحـد المـرضى الراقديـن في مستشـفيات إيـران.

كـما أشـارت النتائـج وجـود عزلـة وحيـدة للنـوع *Ochrobactrum anthropi* بواقـع (4.2 ٪) مـن العـزل النوعـي وجـدت بشـكل عصيـات سـالبة عنـد التصبيـغ والفحـص تحـت المجهـر الضوئـي، ذات تحـدب منخفـض، ملسـاء، مسـتعمراتها دائريـة صغـيرة الحجـم عـلى الوسـط المغـذي وغـير منتجـة للصبغـات، تقاربـت هـذه النتائـج نسـبياً مـع الدراسـة المحليـة التـي قامـت بهـا الباحثـة [21] في محافظـة صـلاح الديـن بدراسـتها لمسـببات التهـاب المسـالك البوليـة لـدى الحوامـل بحصولهـا عـلى نسـبة (6.5٪).

كـما تـم الحصـول عـلى عزلتـين تابعـة للجنـس Acinetobacter لنوعـين مـن هـذا الجنـس وهمـا عزلـة للنـوع *Acinetobacter baumanii* بنسـبة (4.2٪) عزلـت مـن الجـروح وعزلـة إخـرى تابعـة للنـوع *Acinetobacter calcoaceticus* بنفـس نسـبة العـزل عزلـت مـن الأدرار، حيـث أظهـرت هـذه العزلتـان تشـابه كلي بالصفـات التـي تحملهـا مـن ناحيـة ظهورهـا بشـكل عصـوي مائـل للكـروي سـالبة لصبغـة كَـرام تحـت المجهـر ، إن تشـابه الصفـات بـين النوعـين يصعـب عـلى الباحـث تشـخيصها بدقـة ولكـن يمكـن تشـخيصها بواسـطة الـ Vitek أو بالأعتماد على التشـخيص الوراثـي الجزيئـي.

أظهـرت النتائـج الحصـول عـلى عزلـة واحـدة مـن بكتريا *Sphingomonas paucimobilis* وبنسـبة (4.2٪) ، ظهـرت بشـكل عصيـات وعنـد التصبيـغ كانـت سـالبة لكَـرام ،موجبـة لأختبـار الكاتليـز وسـالبة للأوكسـيديز وللأختبـارات الكيموحيويـة، توافقـت دراسـتنا مـع الدراسـة العالميـة للباحـث[22] في الهنـد والـذي حصـل عـلى عزلـة واحـدة مـن *Sphingomonas paucimobilis* مـن أحـد المرضى الـذي قـام بـزرع الكليـة. في حـين إختلفـت مـع الباحـث[23] بحصولـه عـلى نسـبة فاقـت الـ(20٪) لعـزل هـذا النـوع مـن التهـاب المسـالك البوليـة.

كذلـك تـم الحصـول عـلى عزلـة واحـدة بواقـع نسـبة عـزل (4.2 ٪) تابعـة لبكتريـا *Enterobacter ludwigii* وهـذا يتطابـق مـع ماذكـره الباحـث [24] في دراسـته المحليـة التـي أجراهـا في كربـلاء عـلى الأطفـال حيـث حصـل عـلى عزلـة واحـدة مـن هـذا النـوع قـام بعزلهـا مـن التهـاب المسـالك البوليـة، كـما أظهـرت نتائـج العـزل مـن المصابـين بالتهـاب الجـروح Wound infection الحصـول عـلى عزلـة تابعـة

للنوع *Aeromonas salmonicida* بنسبة (4.2٪) والتي تشير البحوث بأنها غير ممرضة للأنسان ، أظهرت تشابهه في قدرتها على النمو بدرجة حرارة محصورة بين 22-37 م° ولم تكون الصبغات حتى بعد نموها على الأكار لمدة 72 ساعة وأكثر ، كما أظهرت الأختبارات الكيموحيوية موجبة لأختبار الأندول والمثيل الأحمر ، وموجبة لأختباري الأوكسيديز ، والكتاليز ، وهذا ماتم تأكيده عند إعادة تشخيص العزلة بجهاز الـ Vitek . تطابقت النتيجة المتحصل عليها مع دراسة الباحثان [25] عند حصولهم على 17 عزلة تتبع الجنس Aeromonas واحدة فقط من هذه العزلات تابعة للنوع *Aeromonas salmonicida* عزلت من الجروح في دراستهم لأخماج مختلفة في مستشفيات مدينة الديوانية وبأستخدام جهاز الـ Vitek، فيما أشارت دراسة إخرى قامت بها الباحثة [21] إلى إمكانية عزلها من مصدر أخر غير الجروح حيث حصلت على 3 عزلات مصدرها التهاب عنق الرحم.

كما تم الحصول على عزلة واحدة وبواقع (4.2٪) من بكتريا *Pantoea agglomerans* تابعة لأحد المرضى الأطفال المصابين بالتهاب المسالك البولية (UTI) ،كانت موجبة لأختبار الـ Catalase وسالبة للأوكسيديز Oxidase ، وأظهرت الأختبارات الكيميوحيوية ايجابية للسترات والفوكس بروسكر ، وكما جاء في تقرير جهاز الـ Vitek عند تأكيد تشخيصها وبنسبة تشخيص بلغت 99٪. أشارت دراسة قام بها الباحث[26] في مستشفى Houston للأطفال في ولاية تكساس الأمريكية من خلال مراجعة سجلات تشخيص البكتريا وبأستخدام جهاز الـ Vitek من يناير للعام 2000 الى ديسمبر 2006 وجدوا تشخيص 88 طفل مصاب بالـ *Pa. agglomerans* من مصادر مختلفة عزلتين مصدرها خمج المسلك البولي وهو مقارب لما وجد في دراستنا، في حين إختلفت مع الباحث[27] بحصوله على 18 عزلة من الأطفال الرضع الراقدين في مستشفى الأطفال بماليزيا.

كما أظهر الجدول (1) الخاص بالبكتريا اللاشائعة ظهور عزلتين من بكتريا ، *Aerococcus urinae*، عزلت من الأدرار بنسبة عزل بلغت (8.2 ٪) ، التصبيغ والفحص المجهري أثبت إيجابيتها لصبغة كَرام وظهرت بعده أشكال كروية مفردة وبشكل ازواج كروية ،وسلاسل قصيرة ، سالبة للأختبار الكتاليز والأوكسيدز ، جاءت هذه النسبة مقاربة لما توصل اليه الباحث [14] في دراسته المحلية بحصوله على عزلة وحيدة من الأدرار للـ *Aerococcus urinae* من بين 286 عزلة وبأستخدام جهاز الـ Vitek في التشخيص بدقة 89٪ .

تميزت دراستنا بالحصول على عزلتين من الجنس البكتيري kocuria غير الممرضة للأنسان الا في حالات ضعف المناعة ،اذ عزل من الأدرار نوعين هما عزلة للنوع *K.rosea* وعزلة للنوع *K.kristinae* بنسبة عزل بلغت (4.2٪) لكل عزلة،إن العديد من البحوث التي إجريت لأنواع الجنس kocuria بينت إمكانية عزل أنواع هذا الجنس من أخماج مختلفة عن التهاب المسلك البولي. منها دراسة [28] حيث قام بعزلها من تجرثم الدم، والدراسة التي قام بها [29] والذي حصل على النوع *K.rosea* من أحد الأطفال المصابين بالتهاب شغاف القلب، في حين بينت دراسة حديثة قام بها [30] حصوله لأول مرة على عزلة من النوع *K.rosea* معزولة من إدرار أحد المرضى البالغ من العمر 65 عام في الهند وبأستخدام تقنية الـ Vitek بالتشخيص، كما أشار الباحث [31]

لحصوله لأول مرة على بكتريا *K.kristinae* من إدرار أحد المرضى المصابين بخمج المسالك البولية والذي يبلغ من العمر 20 عام، وهذا ما يتطابق مع دراستنا بحصولنا على عزلتين من المصابين بالتهاب المسالك البولية بواقع عزلة لكل نوع.

كما أشار الجدول(1) الى أعداد ونسب عزلات بكتريا *Micrococcus luteus* وبواقع عزلتين من الأدرار وبنسبة (8.2 ٪) من مجموع العزلات اللاشائعة ، تقاربت الدراسة الحالية مع دراسة عالمية للباحث [32] عند حصولهم على عزلتين تابعة للنوع *Micrococcus luteus* من بين 55 عزلة معزولة من إدرار المرضى المصابين بخمج المسلك البولي في إحدى مستشفيات نيجيري، وأوجدت النتائج وجود عزلة واحدة بنسبة (4.2 ٪) تتبع النوع *Gemella sanguinis* ، أظهرت نمو بشكل مستعمرات صغيرة جداً بعد 24 ساعة من التحضين بدرجة 37م° على وسط الـ Nutrient agar وإكمل نموها بعد 48 ساعة من التحضين وكانت مستعمراتها بشكل دائري، ملساء، لونها أبيض مائل الى شفاف ولم تفرز أي صبغات تذكر.

كما تم الحصول على عزلة (4.2 ٪) من بكتريا *Alliococcus otitis* ظهرت موجبة لصبغة كَرام كروية الشكل مترتبة بشكل أزواج ورباعيات tetrads ، وعند زراعتها على الوسط المغذي إستغرقت أكثر من 72 ساعة لظهور النمو ، سالبة للـ Oxidase، موجبة لأختبار الـCatalase ومن خلاله تم تفريقها عن النوع *Streptococcus sobrinus* للتشابه الكبير بينهما عند الفحص المجهري والمظهري لكلا النوعين ، وتم تأكيد تشخيصها بالـ Vitek وبدقة بلغت 89٪. تقاربت هذه النتيجة مع النتيجة المتحصل عليها في الدراسة العالمية في جنوب أفريقيا من قبل الباحث [33] عند حصوله على عزلتين من *Alliococcus otitis* من المرضى المصابين بجروح قريبة من الأذن وتم تشخيصها وراثياً بأستخدام الـ PCR.

وأخيراً تم الحصول على عزله واحدة من البكتريا اللاشائعة بنسبة (4.2 ٪) من بكتريا *Streptococcus sobrinus* كانت موجبة لصبغة كَرام كروية الشكل مترتبة بشكل أزواج وسلاسل ، وعند زراعتها على الوسط المغذي لوحظت مستعمرات صغيرة الحجم، ملساء ، ذات لون أبيض شفاف ، وسالبة لأختباري الـ Oxidase، والـ Catalase ، وتم تأكيد تشخيصها بجهاز الـ Vitek وبدقة بلغت 93٪. وهذا ماجاء متوافق مع دراسة [14] عند تشخيصه للعزلات الموجبة لصبغة كرام بجهاز الـ Vitek حيث إستطاع من الحصول على عزلة واحدة من *Streptococcus sobrinus* عزلت من عينه إدرار أحد المرضى الراقدين في مستشفى مدينة السليمانية وبدقة 89٪ .

أختبار الحساسية للمضادات الحيوية

أظهرت نتائج أختبار الحساسية ان جميع العزلات اللاشائعة المدروسة السالبة والموجبة لصبغة كَرام مقاومة بصورة مطلقة بلغت (100٪) تجاه 10 مضادات من المضادات المستخدمة وهي Ampicillin /Cloxacillicn، Cephalothin ،Oxacillicn ، Metronidazole، Piperacillin ، Ceftazidime ، Aztreonam ، Carbenicillin ، Neomycin ، Rifampin ، ، وحساسية تامة (100 ٪) بالنسبة لمضاد واحد فقط للمضاد Imipenem ،كما موضح في الصورة(1) ولجميع العزلات السالبة والموجبة.

إن الدراسات البحثية التي تضمنت حساسية البكتريا اللاشائعة للمضادات الحيوية قليلة

نسبياً نذكر منها ، دراسة الباحث [23] في الهند الذي إستخدم 10 مضادات لفحص مقاومة وحساسية بكتريا *Sphingo.paucimobilis* حيث وجد نسبة مقاومة إتجاه 9 مضادات بلغت (90٪) وحساسية إتجاه مضاد واحد هو Cotrimoxazole ولكنها إختلفت بكونه وجد مقاومة إتجاه المضاد Imipenem وهذا ما يتضاد مع دراستنا بحصولنا على حساسية مطلقة لنفس المضاد،كما أشار الباحثان[20] في دراستهم 61 عزلة من أنواع الجنس Pseudomonas في شمال إيران الى وجود مقاومة للمضاد Imipenem بنسبة (10 ٪) ومقاومة للمضادات الأخرى بنسب مختلفة Oxytetracycline (67٪)، Doxycycline (83 ٪)، فيما توصل الباحث[18] في العاصمة الكورية سيولSeoul الى إمكانية علاج النوع البكتيري *Ps.Stutzeri* من خلال ظهور حساسية مطلقة (100 ٪) للمضادات المستخدمة وهي ، Levofloxacin ، Imipenem Meropenem، Piperacillin ، Ceftazidime Aztreonam ، كما أشار [26] في دراستهم لبكتريا *P.agglomerans* الى وجود حساسية لهذه البكتريا بنسبة (92.5 ٪) إتجاه المضادات Meropenem، Trimethoprim، ampicillin ، Ofloxacin.

انتاج عوامل الضراوة

اختبرت قدرة 11 عزلة من البكتريا اللاشائعة والمعزولة من أخماج مختلفة على إنتاج 4 عوامل ضراوة وهي: تحليل كريات الدم الحمراء من خلال أنتاج إنزيم الهيمولاسين Hemolysin enzyme ، إنزيم اليوريا Urease ، تحليل البروتينات بواسطة إفرازها لأنزيم الـ Protease ومقاومتها للمضادات الحيوية من خلال تشفيرها لأنزيم البيتالاكتاميز β–Lactamase الذي يعمل على كسر حلقة البيتالاكتام في المضاد الحيوي وتثبيط فاعليته، وكما هو موضح بالجدول (3).

بينت النتائج للكشف عن عوامل الضراوة إمتلاك كل من بكتريا *Kocuria kristinae*،*Ochrobactrum anthropi* ، لثلاثة عوامل ضراوة وهي ،β–lactamase ، Protease Urease ، وعدم قدرة هاتين العزلتين على إنتاج الـ Hemolysin بينما أظهر العدد الأكبر من البكتريا اللاشائعة وبواقع 7 عزلات إيجابية لعاملين فقط من عوامل الضراوة حيث أظهرت كل من بكتريا ، *Morganella morganii* *Alloiococcus Otitis* قابليتها على إنتاج الـ Urease ، والـ β–lactamase وكما هو موضح في الصورة(2)، وسالبة لأنتاج Protease وتحليل الدم بواسطة الـ Hemolysin ، وقد إشتركت الأنواع البكتيرية *Sphingomonas paucimobilis* ، *Gemella sanguinis* ، *Aerococcus urinae*، *Pseudomonas stutzeri* ، *Pseudomonas Fluorescens*، في إنها أعطت نتيجة موجبة لأختباري إنتاج الـ β–lactamase والـ Hemolysin من نوع التحلل الكامل بيتا β–hemolysin ، وكانت سالبة لأنتاج ،Urease Protease، أما بالنسبة للعزلتين الأخيرتين *Kocuria rosea* ، *Pa. agglomerans* فقد أظهرت قدرتها على إنتاج نوع واحد فقط من عوامل الضراوة المدروسة بأيجابية للـ β–lactamase ، ولم تبدي أي تفاعل إتجاه Protease ،Urease ، ولم تظهر أي نوع من أنواع التحلل عند زراعتها على وسط الـ Blood agar لعدم إحتواءها على انزيم Hemolysin.

إن الكشف عن إنتاج عوامل الضراوة في البكتريا اللاشائعة قد بين إختلاف في قدرة البكتريا على إنتاج هذه الأنزيمات بأختلاف البكتريا المعزولة حيث كانت بنسب مختلفة، فقد أظهرت جميع العزلات القدرة على إنتاج انزيم β-lactamase بنسبة (100٪) ، بينما كانت 5 عزلات لها القدرة على إنتاج إنزيم Hemolysin وبنسبة بلغت (45.5٪) من مجموع العزلات التي درست ، تلتها 4 عزلات تمكنت من إنتاج إنزيم Urease بواقع (36.4٪) ، في حين إن عزلتين فقط أثبتت قدرتها على إنتاج الـ Protease وبنسبة قد بلغت (18.2٪) من العزلات المدروسة في قدرتها على إنتاج عوامل الضراوة ، وكما هو موضح في الشكل(1) .

المحتوى الوراثي للعزلات البكتيرية

تم عزل الـ DNA الكلي للعزلات البكتيرية بأستخدام عدة أستخلاص وتنقية الـDNA البلازميدي(Pure yield plasmid mini prep system) المجهزة من قبل شركة (USA) Promega ، حيث تم أستخلاص الـ DNA من 11عزلة من البكتريا اللاشائعة الموجبة والسالبة لصبغة كَرام ، كما انه تم تنمية العزلات على وسط نقيع القلب والدماغ Brain Heart Infusion Broth قبل عملية أستخلاص الـ DNA، الغرض من خطوة الأغناء للعزلات هي لزيادة أعداد الخلايا البكتيرية وبالتالي زيادة أعداد نسخ تتابع الهدف كقالب للدنا لإرتباط البادئات المكملة لها في تفاعل البلمرة المتسلسلPCR [34] .

وقد تم الكشف عن الـ DNA المعزول بترحيل العينات كهربائياً على هلام الأكاروز بتركيز 1 ٪ حيث تم الترحيل في بداية الأمر عند فرق جهد 30 فولت وامبيرية 45لمدة 15 دقيقة ثم عند فرق جهد 45 فولت وامبيرية 60 لمدة 90 دقيقة (لحين أن تصبح مقدمة الصبغة على بعد 2 سم من النهاية الموجبة) ، أعقبها فحص الهلام بعد عملية التصبيغ ببروميد الأثيديوم ، وأظهرت نتائج الدراسة الحاليه وجود حزم الـ DNA وبوزن جزيئي عالي ، وكما موضح في الصورة (3).

تفاعل انزيم البلمرة المتسلسل

Polymerase Chain Reaction (PCR)

عند إستخدام الـ PCR وترحيل نتائجه على الهلام، أظهرت 10 بادئات متخصصة حزم إمتازت بتباين الأوزان الجزيئية تتبع لـ6 أنواع بكتيرية وحسب الحزم المتوقعه عند تصميم البادئات وكما يلي *M.morganii* (B-lac-Mu9، UreE) حيث أظهرت حزم بحدود ، (254، 956) bp *O. anthropi* (B-lac-OANT ، UreC) بحزم بلغت bp (352،578) على التوالي ، والبادئات (B-lac-SP6 ، Hem-Sp6) لبكتريا .*Sph paucimobilis* أظهرت حزم bp (368،500)، فيما كانت الحزم الظاهرة على الهلام بحدود bp (223،267) لبكتريا *Ps.fluorescens* للبادئين (B-lac-PSF113 ، Hem-PSF113)، وبادئ لجين واحد الهيمولايسين لبكتريا *Ps.stutzeri* bp (Hem-PSTAB) (459) ، كذلك بادئ لجين واحد فقط لمقاومة المضادات الحيوية لبكتريا .*Pa agglomerans* (B-lac-BEE12) والذي أظهر حزمة جزيئية بلغت bp (254) وكما هو موضح في الصورة(4).

المصادر

1- **Mahon**, **C**. **R; Lehman**,**D**.**C**. ; **Manuselis**, **G**. (**2007**). Textbook of Diagnostic microbiology .3th ed . U.S.A.

2- **Godaly G** , **Ines A**, **Catharina S**.(**2015**). Innate immunity and genetic determinants of urinary tract infection susceptibility .J. wal. K. health; vol 28 (1).

3- **Haghi-Ashteiani**, **M**.; **Sadeghifard**, **N**.; **Abedini** , **M**.; **Soroush**, **S**. ; **Taheri-Kalani**, **M**. (**2007**) Etiology and antibacterial resistance of bacterial urinary tract infections in children's medical center, Tehran, Iran., Acta. Medica. Iranica.,45(2): 153 - 157.

4- **Tortora**, **G**.**J**.; **Funke**, **B**.**R**. ; **Case**, **C**. **L**. (**2004**). Microbiology an infection. 8 thed.; pearsom Benjamin Cummings, sanfrancisco, boston, New York, Sanfrancisco.

5- **J**.**M**.**Janda** ; **S**. **L**.**Abbott** (**2010**). The genus Aeromonas taxonomy, pathogenicity and infection . clin . Microbiol .Rev.,13 (23) . 35 - 73.

6- **Balat**, **A**. ; **Hill**, **L**.(**2003**). Genitourinary abnormalities is children with urinary tract infection., J. Med. Sciences. 29: 59 - 63.

7- **Helio S**., **Sadera b**., **Ronald N** ; **Jonesa C**. (**2005**). Review; Antimicrobial susceptibility of uncommonly isolated non-enteric Gram negative bacilli. Intern. J. Anti. Agents 25, 95–109.

8- **Koneman**, **E**. **W**.; **Allen**, **S**. **D**.; **Janda**, **W**. **M**.; **Schreckenberg**, **P**. **C**. ; **Winn**, **W**. **C**. (**1997**). Color Atlas & Text Book of Diagnostic Microbiology. 5th ed., J. B. Lippincott Com., Philadelphia. New York.

9- **Forbes**, **B**.**A**.; **Sahm**, **D**.**F**. ; **Weissfeld**, **A**.**S**. (**2002**). Bailey and Scott`s ,Diagnostic Microbiology .11th ed.Mosby,Inc.St.Louis.USA.

10- **Vandepitte** , **J** . ;**Verhaegen** , **J** . ; **Engbaek** , **K** . ; **Rohner** , **P**. ; **Piot** , **P**. ; **Heuck** , **C** . (**2003**) . Basic laboratory Prodceduresin Clinical bacteriology . 2nd ed .WHO . Geneva .

11- **Macfaddin**, **J**.**F**. (**2000**). Biochemical test for identification of medical bacteria. 3ed ed. The Williams and Wilkins-Baltimor USA. PP. 51 - 482.

12- **Atlas**, **R**.**M**.; **Snyder** , **J**.**W**.(**2013**). Handbook of Media for Clinical and Public Health Microbiology.New York, CRC Press. pp578.

13- **Al Jomard**, **Mustafa Maher Kheder**. (**2015**).Possible association between Quorum sensing Genes and Antibiotics Resistance among Isolates from different Clinical Sources .master thesis. College of Science . Tikrit University.

14- **Faraj**,**Rahman Karim** .(**2017**) Isolation and identification of uncommon bacterial species in different clinical sample by new automated system and PCR technique using specific primers

and Antimicrobial Susceptibility of Pseudomonas spp. Isolated from Hospital Environment in Tonekabon, North of Iran, J. Envi. Microbiology ,. 2, (4), 97 - 101 .

21 - العبيدي ، إيمان موفق عزيز (2017). عزل وتشخيص بعض أنواع الجراثيم من النساء المصابات بالتهابات المسالك البولية وعنق الرحم في محافظة صلاح الدين . رسالة ماجستير، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة تكريت.

22- **Krishna S**, **Ciraj AM**, **Bairy I**, **Shobha KL** (**2011**). Sphingomonas paucimobilis urinary tract infection in a renal transplant recipient: A rare case. Int J Med Public Health;1: 47 - 9.

23- **Mukesh** ,**Kumar**(**2015**). Sphingomonas paucimobilis urinary tract Infection in an immunecompetent patient. Inter. J. Medi. P. Health, 5, (2) , DOI: 10.4103 /2230 - 8598.153840.

24- **Tuama M.A**. (**2006**). Urinary tract infection in children in pediatric under five years hospital of karblla. Thesis ph D. University of Babylon.

25 - سلمان، صفاء منعم: حسين ، أزهار نوري(2015) . دراسة جزيئية لأنواع جرثومة Aeromonas المعزولة من عينات سريرية وبيئية. مجلة جامعة القادسية للعلوم الصرفة ، المجلد 20، العدد 2.

26- **A**. **T**. **Cruz; Andreea C**. **Cazacu**, **; Coburn H**. **Allen** (**2007**). Pantoea agglomerans, a Plant Pathogen Causing Human Disease. J. C.Microbiology,. 45,. (6). P 877 - 882 .

27- **Habsah**, **H**., **M**. **Zeehaida**, **H**. **Van Rostenberghe**, **R**. **Noraida**, **W**. **I**. **Wan Pauzi**, **I**. **Fatimah**, **A**. **R**. **Rosliza**, **N**. **Y**. designed for their virulence factor . phD Thesis,College of Education for pure sciences, Tikrit university .

15- **Auda J**. **Gh**. **; Al-Grawi I**. **Gh**. (**2009**). Isolation, Identification, and Antimicrobial Susceptibility of Uropathogenic Morganella Morganii Al- Kindy Col Med J; .5 (1) P: 32 - 35.

16- **Chen YT**, **Peng HL**, **Shia WC**, **Hsu FR**, **Ken CF**, **Tsao YM**(**2012**). Whole-genome sequencing and identification of Morganella morganii KT pathogenicity-related genes. BMC Genomics;13; (7).

17- **Baral1**, **Sanjiv N;**, **Bishnu Prasad M;**, **Kashi Ram G;Binod Lekhak ; Basudha S** (**2012**) High prevalence of multidrug resistance in Bacterial uropathogens from Kathmandu, Nepal . BMC Research Notes 1756 - 0500 / 5 / 38.

18- **S**. **W**, **Park**, **Ji H**, **SeoungW**.**L**, **Joon Song**, **Chun H**, **Gyung E**, **Moon-JaeKim** (**2013**). Successful antibiotic treatment of Pseudomonas stutzeri-induced peritonitis without periton ealdialysis catheterre movalin continuous ambulatory peritoneal dialysis. Kidney Res Clin Pract 32 . 81–83.

19-**Abas Y**.**A**., **Khudaier ; Salih Y**.**A**. (**2014**). Detection of Multidrug Resistant Pseudomonas spp. in Clinical Cases and Hospital Environments at Thi-Qar Province. J. Edu. P. Sci. 4.

20- **Masood Ghane; Zahra Azimi** (**2014**). Isolation, Identification

analysis of microbial constituents of the healthy human outer ear. J Clin Microbiol 41: 295–303.

34- **Wu**, **D**. **Y**.**; Vgozzoli**, **L**.**; Pal**, **B**. **K**.**; Qian**, **J**. **and Wallace**, **R**. **B**. (**1991**). The effects of temperature and oligonucleotide primer length on the specifity and efficiency of amplification by polymerase chain reaction. DNA and cell boil.10: 233 - 238 .

Nik Sharimah, **; H**. **Maimunah**(**2005**). An outbreak of Pantoea spp. in a neonatal intensive care unit secondary to contaminated parenteral nutrition. J. Hosp. Infect. 61: 213 – 218 .

28- **Lai CC**, **Wang JY**, **Lin SH**, (**2011**). Catheter-related bacteraemia and infective endocarditis caused by Kocuria species. ClinMicrobiol Infect.;17: 190 – 2 .

29- **Rushani D**, **Kaufman JS**, **Ionescu-Ittu R**,(**2013**). Infective endocarditis in children with congenital heart disease:cumulative incidence and predictors. Circulation.; 128: 1412 – 9.

30- **Venkataramana K**, **Padmawali P**, **Ritu V**, **Vinod K**, **Maheshwar R**. **Ki**, **Mohan Rao B**.(**2016**). A case of urinary tract infection caused by Kocuria species and identified by conventional methods .perspectives in medical Research. 4, (2).

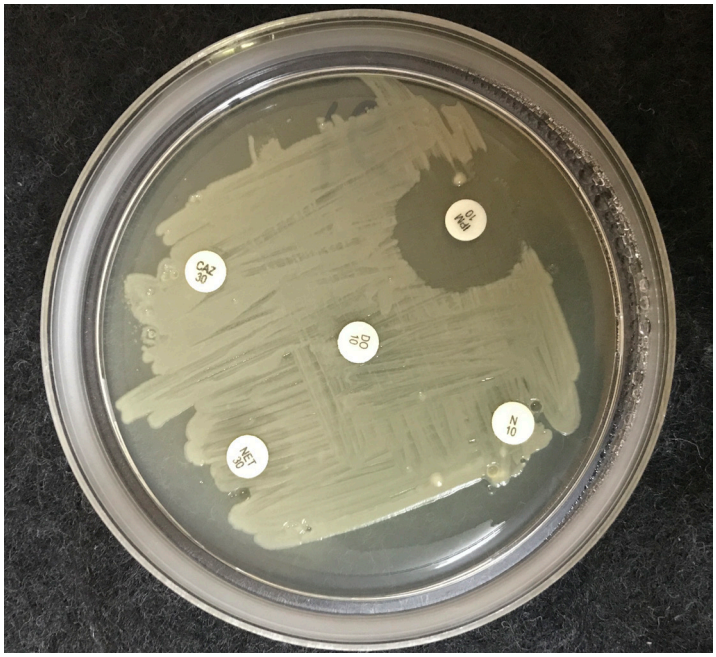
31- **Tewari R**., **Dudeja M**., **Das A**.**K**. **Nandy S**. (**2013**). Kucuriae kristinae in catheter asociated urinary tract infection: a case report. J. Clin. Diag. Res. 7(8): 1692 - 1693 .

32- **Ayoade**, **F**., **Osho**, **A**. **Fayemi**, **S**.**O**., **Oyejide**, **N**.**E**., **Ibikunle A**.**A**.(**2013**). Unusually high prevalence of asymptomatic bacteria among male university students on redemption . Ogun State, Nigeria. AFR. J. Clin. Microbial 14 (1): 19 - 22.

33- **Frank DN**, **Spiegelman GB**, **Davis W**, **Wagner E**, **Lyons E** , **Pace NR** (**2003**). Culture-independent molecular

الجدول(1) الأنواع البكتيرية اللاشائعة المعزولة ونسبها المئوية.

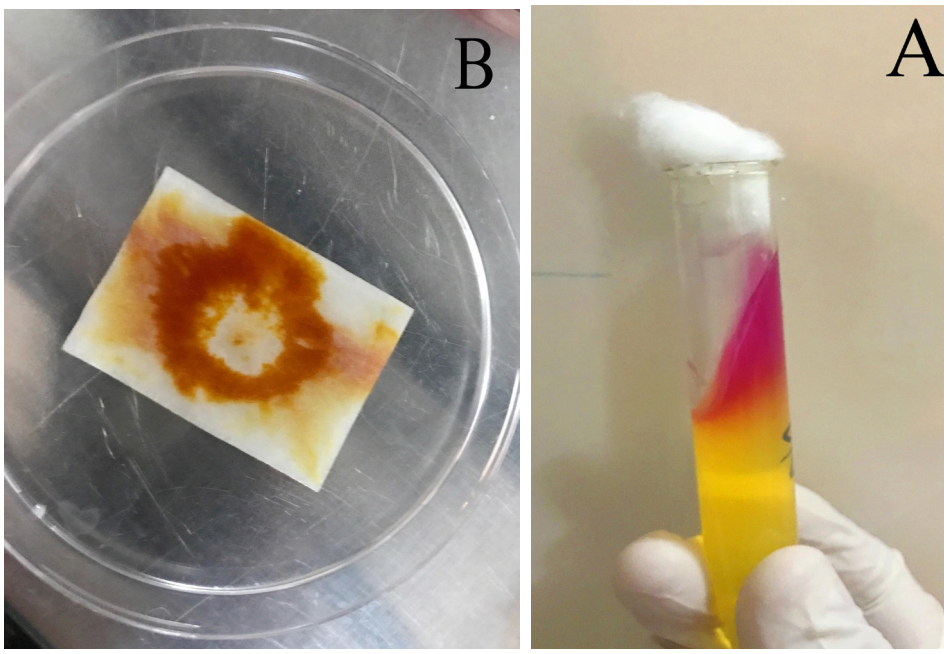
عزلات البكتريا اللاشائعة	مصدر العزل	عدد العزلات	النسبة المئوية للعزل الإجمالي*	النسبة المئوية للعزل النوعي**
Citrobacter freundii	الإدرار	1	0.45	4.2
Citrobacter koseri	الإدرار	1	0.45	4.2
Acinatobacter calcoaceticus	الإدرار	1	0.45	4.2
Acinatobacter baumanii	الجروح	1	0.45	4.2
Sphingomonas paucimobilis	الإدرار	1	0.45	4.2
Morganella morganii	الإدرار الجروح	3	1.36	12.4
Enterobacter ludwigii	الإدرار	1	0.45	4.2
Pseudomonas fluorescens	القشع	1	0.45	4.2
Aerococcus urinae	الإدرار	2	0.91	8.2
Pantoea agglomerans	الإدرار	1	0.45	4.2
Ochrobactrum anthropi	الإدرار	1	0.45	4.2
Pseudomonas stutzeri	الإدرار والجروح	2	0.91	8.2
Kocuria rosea	الإدرار	1	0.45	4.2
Kocuria kristinae	الإدرار	1	0.45	4.2
Micrococcus luteus	الإدرار	2	0.91	8.2
Aeromonas salmonicida	الجروح	1	0.45	4.2
Alloiococcus otitis	الجروح	1	0.45	4.2
Gemella sanguinis	الإدرار	1	0.45	4.2
Streptococcus sobrinus	الإدرار	1	0.45	4.2
المجمــوع		24		٪100



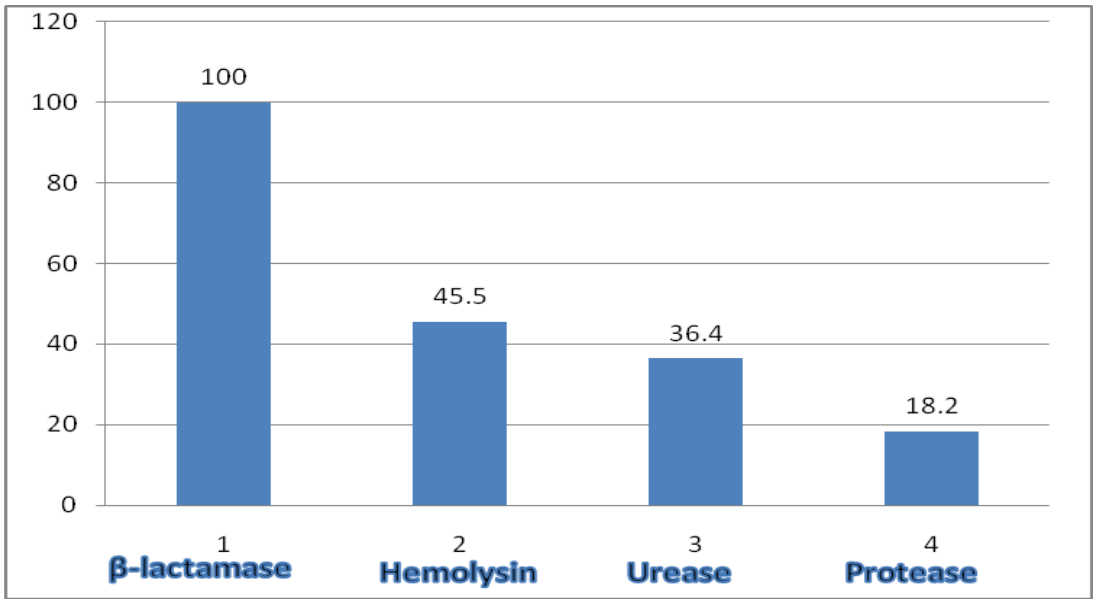
الصورة (1) حساسية بكتريا *E.ludwigii* للمضاد Imipenem ومقاومتها للمضادات الاخرى.

الجدول (3) عوامل الضراوة للعزلات البكتيرية اللاشائعة.

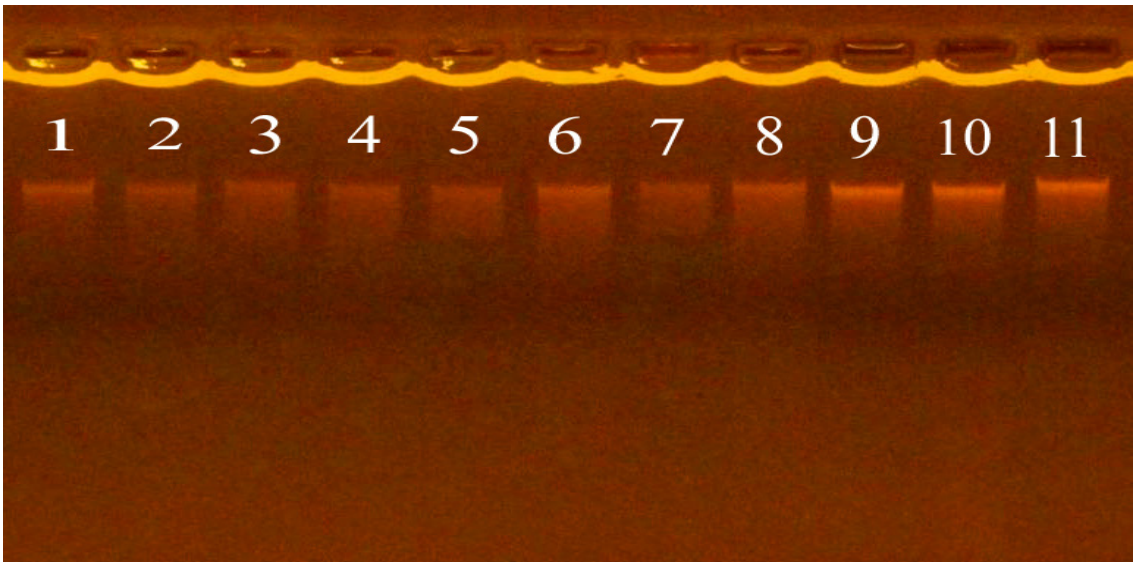
الأنواع البكتيرية	عوامل الضراوة			
	Urease	Protease	Hemolysin	β–lactamase
Morganella morganii	+	–	–	+
Kocuria kristinae	+	+	–	+
Ochrobactrum anthropi	+	+	–	+
Alloiococcus Otitis	+	–	–	+
Sphingomonas paucimobilis	–	–	+	+
Gemella sanguinis	–	–	+	+
Pseudomonas Fluorescens	–	–	+	+
Aerococcus urinae	–	–	+	+
Pseudomonas stutzeri	–	–	+	+
Pantoea agglomerans	–	–	–	+
Kocuria rosea	–	–	–	+



الصورة (2) عوامل ضراوة بكتريا *Morganella morganii*
.β-lactamase (B). Urease (A).

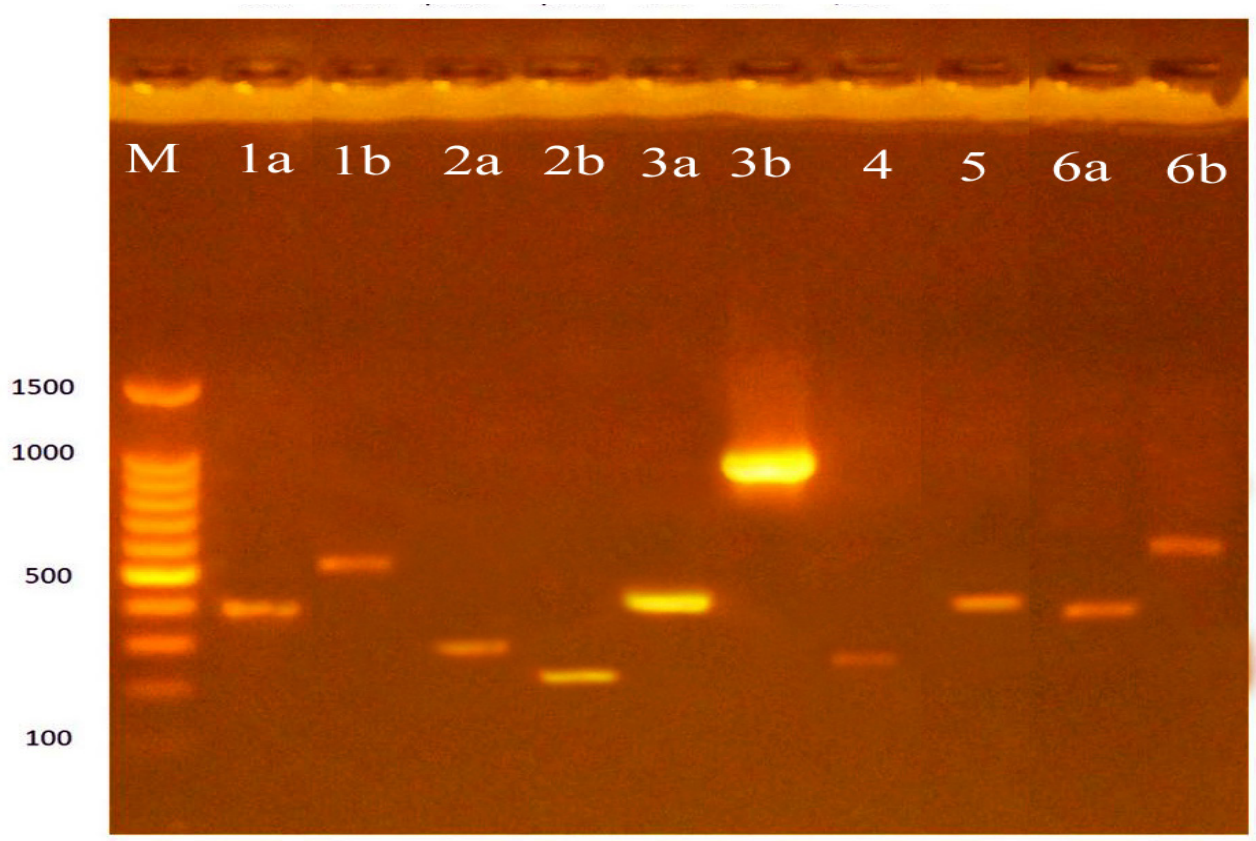


الشكل (1) النسبة المئوية لقدرة البكتريا على انتاج عوامل الضراوة المختلفة.



صورة (3) ترحيل الـ DNA للعزلات البكتيرية اللاشائعة على هلام الأكَاروز بتركيز (1٪).

1 – *Morganella morganii*، 2 – *Ochrobactrum anthropi*.
3 – *Alloiococcus Otitis*، 4 – *Kocuria kristinae*.
5 – *Kocuria rosea*، 6 – *Pantoea agglomerans*
7 – *Pseudomonas stutzeri*، 8 – *Pseudomonas fluorescens*.
9 – *Aerococcus urinae*، 10 – *Gemella sanguinis*.
11 – *Sphingomonas paucimobilis*.



صورة (4) الترحيل الكهربائي لناتج تفاعل إنزيم البلمرة المتسلسل PCR لعزلات البكتريا اللاشائعة على هلام الاگاروز بتركيز (1٪).

1 – Ochrobactrum anthropi. (a– UreC / b– B–lac–OANT)

2 – Pseudomonas fluorescens. (a– Hem–PSF113 / b– B–lac–PSF113)

3 – Morganella morganii (a– UreE / b– B– B–lac–Mu9)

4 – Pantoea agglomerans (B–lac–BEE12).

5 – Pseudomonas stutzeri. (Hem–PSTAB).

6 – Sphingomonas paucimobilis (a–Hem–Sp6، b–B–lac–SP6).