حساسية عزلات *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من حالات سريرية مختلفة تجاه المضادات الحيوية والتحري عن بعض عوامل الضراوة خارج الجسم

وعد محمود رؤوف[1] ، شاميران محمود توفيق[2]

[1]كلية الصيدلة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

[2]كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة تكريت ، تكريت ، العراق

الملخص

اجريت الدراسة الحالية على65 عزلة تابعة لبكتريا *P.seudomonas* والتي تضمنت 30 عزلة بنسبة (46%) من حالات التهاب الحروق، 20 (30%)عزلة من التهابات المجاري البولية،15(23%) من التهابات الاذن الوسطى، اختبرت حساسية العزلات تجاه (19) مضاداً حيويا تعود الى (6) مجاميع مختلفة أظهرت العزلات تباينا واضحا وبنسب مختلفة في مقاومتها للمضادات الحيوية . إذ أظهرت مضادات(Cfepime و Ceftazidim و Imepenime و Amikacin و Tobramicin و Ciprofloxacin و Ofloxacin و Norfloxacin) أكفأ المضادات المستعملة على التوالي، اما المضادات (Cefotaxim, Augmentin, Cefixim , Streptomycin ، Gentamicin) فكانت متوسطة الكفاءة على التوالي، اما (Piprasilin , Azatrionam ,Naldixic acid ,ceftriaxone, Carbencilin، Cefotetan) ،فكانت الادنى تاثيرا . ابدت جميع العزلات 100% القدرة على انتاج انزيم Coagulase و (92.30%) لكل من انزيم Licithenase و Haemolycin و Protease،بينما اظهرت (84.61%) من العزلات فحصا موجبا لانزيمات β -lactamase.

المقدمة

تمتلك جرثومة *P.aeruginosa* العديد من عوامل الضراوة التي تساعدها في احداث مدى واسع من الاصابات وفي كل مناطق الجسم تقريبا عند توفر الظروف الملائمة ولاسيما في حالة ضعف دفاعات الجسم المناعية [1] ، فهي تمتلك عوامل الضراوة مثل الملصقات adhesins التي تساعدها على الالتصاق بالخلايا الطلائية والاهداب والمادة المخاطية Alginate التي تساعدها على مقاومة المضادات الحيوية كما تمتلك انزيمات مثل (Coagulase, Licithenase, Haemolycin Protease)، وافرازها للتوكسينات الخارج خلوية مثل exoS, exoU, toxA، كما تعرف بأن لها القدرة على التكيف للظروف غير الطبيعية وذلك بسبب الكم الكبير من جينات الأمراضية التي تمتلكها ، و بسبب امتلاكها لمستوى عال من المقاومة لمعظم أنواع المضادات الحيوية [2] ،تسبب *P.aeuroginos* حالات مرضية مختلفة قد تكون موضعية لاسيما بعد العمليات الجراحية وإصابات الحروق ثم تنتشر الإصابة وتسبب حالات تجرثم الدم المميت كما تسبب إصابات المجاري البولية [3] ، إن الإصابات الشديدة من هذه البكتريا تكون بسبب قدرتها على استعمار مواقع تشريحية مختلفة (لامتلاكها آليات التصاق فعالة ومتطلبات تغذية قليلة ولها ميول لغزو مجرى الدم وإحداث الإمراض الجهازية [4] ، إن *P.aeruginosa*بكتريا إنتهازية كما معروف وفي الاونة الاخيرة اصبحت من الممرضات المتعددة المقاومة مما جعلها من المشاكل الكبيرة التي تواجه المؤسسات الصحية [5] ، وترجع مقاومتها العالية للمضادات الحيوية الى الآليات الكثيرة التي تملكها مثل قدرتها في التعبير عن أنظمة الدفق المختلفة وانتاج الأنزيمات الخارجية مثل انزيمات β-lactamase الأعتيادية المقاومة للبنسلينات والسيفالوسبورينات والواسعة الطيف المقاومة للأجيال المتقدمة من السيفالوسبورينات والبتالاكتيميز الكروموسومية التي تشفر لإنتاج النوع Ampc والتي تستطيع مقاومة المضادات الحديثة والحاوية على مثبطات الأنزيمات [6] ، كما يمكنها مقاومة عدد كبير من مضادات الأمينو كلايكوسيدية وذلك أما عن طريق تغيير في موقع الهدف للمضاد أو إختزال في عدد وأقطار فتحات البورين الموجودة في الغشاء البلازمي ،كما تكتسب العديد من الجينات التي تملك صفة المقاومة للعديد من المضادات الحياتية عن طريق العناصر الجينية المتنقلة mobil genetic elements وتملك هذه العناصر مقاومة للكنيلونات quinolones والسلفانومايدات sulfonomides والترايميثوبريم[7] ، كما أن الطبقة المخاطية لبعض السلالات تجعلها بعيدة عن أية فعالية للمضاد ، وبما ان لهذه البكتريا صفة المقاومة المتعددة للمضادات multi drug resistance, وصفة المقاومة الذاتية للمضادات والمطهرات فضلا عن المقاومة التي تكسبها بعد التعرض للمضادات، الاصابات الخطيرة التي تسببها فقد هدفت البحث الحالي الى التحري عن بعض عوامل الضراوة لهذه البكتريا مختبريا في عزلات الاصابات المختلفة ودراسة حساسية ومقاومة الجرثومة لمضادات الحيوية

المواد وطرائق العمل

عزل وتشخيص بكتريا*P.aeruginosa*:

جمعت العينات التي تناولتها البحث تحت إشراف الطبيب المختص من حالات مرضية مختلفة وتضمنت (30) و(20) و(15) من الحروق والادرار و الاذن على التوالي وزرعت النماذج على وسطي الدم والماكونكي واجريت الأختبارات البايوكيميائية اللازمة لتشخيص البكتريا وحسب الطرق القياسية المتبعة من قبل Koneman وجماعته [8].

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

درست حساسية بكتريا *P.aeruginosa* المعزولة من حالات مرضية مختلفة تجاه (19) مضادا من المضادات الحيوية وبالاعتماد على طريقة Kirby Bauer .

التحري عن انزيمات الليسيثينيز:

استعمل وسط وسط اكار مح البيضEgg Yolk Agar ، ومن ثم لقحت بالعزلات البكترية بطريقة نقطية[9].

انتاج الانزيم الحال للدم Production Of Haemolysin :

زرعت العزلات على وسط اكار الدم وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24ساعه لوحظت المستعمرات المنتجه لانزيم حل الدم (Haemolysin) إذ كانت محاطة بمنطقه شفافة غير ملونة فهذا دلالة على ان تحلل الدم من نوع بيتا (تحلل كامل للدم)[10].

التحري عن إنتاج البروتييز Protease production:

أجري هذا الاختبار حسب ما جاء فيCruickshank وجماعته [11] إذ حضر عالق بكتيري من العزلات البكتيرية النقية في وسط المرق المغذي لمدة 18 ساعة بدرجة 37 مْ ° وعملت ثقوب أو حفر في وسط اكار الحليب بواسطة ثاقب فليني معقم (Cork borer) بقطر 5 ملم , رفعت أقراص الاكار وأهملت وأخذ (0.1) من كل المزروع البكتيري بواسطة Micropipette ووضع في كل حفرة , ثم حضنت الأطباق لمدة 18-24 ساعة بدرجة 37مْ وبعد انتهاء مدة الحضن تم ملاحظة مناطق التحلل حول الحفر.

التحري عن انتاج انزيم Coagulase بطريقة الشريحة الزجاجية Slide test:

استخدم هذا الاختبار للتحري عن انزيم التجلط المرتبط Bound coagulase . وضعت قطرة من المحلول الملحي Normal saline على شريحة زجاجية نظيفة ثم نقلت اليها مستعمرة من بكتريا *P. aeruginosa* ومزجا جيدا ثم اضيفت قطرة من البلازما plasma. تعطي الجراثيم المنتجة لانزيم التجلط تجمعا خلال 15 ثانية اذ يرتبط عامل التجمع Clumping factor بخلية الجرثومة محللا الفايبرونوجين الى الفايبرين مباشرة .

التحري عن انتاج انزيمات البيتالاكتيميز Betalactamase production بطريقة اليود:

تم التحري عن انتاج انزيمات البيتالاكتيميز بطريقة اليود القياسية السريعة حسب ما ورد في WHO [12] والتي تضمنت طريقة العمل تحضير مزارع بكتيرية بعمر 24 ساعة منماة على وسط اكار ماكونكي،نقلت عدد من المستعمرات بواسطة العروة إلى انبيب ابندروف الحاوية على 100 مايكروليتر من محلول النشا، ومزج جيداً مع محتوات الانبوبة، اضيف 20 مايكروليتر من محلول اليود، إذا نتج لون ازرق غامق من تفاعل اليود مع النشا. رجت الانابيب جيداً لمدة دقيقة واحدة، احتسبت النتيجة موجبة عند حصول تغيير لوني سريع من الازرق الغامق إلى الابيض بعد مرور اقل من دقيقة على إضافة الكواشف، اعيد الفحص عند ظهور نتيجة موجبة متأخرة اكثر من 5 دقائق.

النتائج

شخصت(65) عزلة تابعة لبكتريا*P.seudomonas* من حالات التهاب الحروق والتهابات المجاري البولية والتهابات الاذن الوسطى، حسب الطرق القياسية الموصوفة من قبل ،وكانت 30 عزلة(46%) من حالات التهاب الحروق، 20(30%) من التهابات المجاري البولية،15(23%) من التهابات الاذن الوسطى، اختبرت حساسية بكتريا *Pseudomonas aeruginos*a تجاه (19) مضادا حيويا وقد أظهرت العزلات تباينا واضحا وبنسب مختلفة في مقاومتها للمضادات الحيوية . إذ أظهرت بكتريا*Pseudomonas aeruginosa* نسب مقاومة (% 83.57%,89.23%,93.84) تجاه مضادات (سيفوتيتان سيفترياكسون,. كاربنسلين) على التوالي،(69% و58%)تجاه النالديسك اسيد وازتريونام واعطت ببراسلين نسبة 41,53% اما ستربتومايسين وجنتامايسين وسيفيكسيم واوكمنتين 38.46 و32.30% و32.30% و21.53% وسيفوتاكسيم 20% بينما اعطت مضادات (توبرامايسين واميكاسين ونورفلوكساسين واوفلوكساسين واميبينيم نسب مابين (16-12)%) بينما سجلت افل نسبة للمقاومة في مضادي سفيبيم وسفتازيديم (10%).وكما موضح في الجدول(1)، درست قدرة العزلات على انتاج بعض عوامل الضراوة كقدرة الجرثومة على انتاج Haemolycin، اذ اظهرت العزلات تباينا في انتاج الانزيم (خفيف, متوسط, قوي) ،كما اختبرت قدرة العزلات على انتاج البروتييز والليسيثينيز،اذ اعطت (92.30)من العزلات انزيم الليسيثينيز وبروتييز والانزيم الحال للدم,تم الكشف عن قابلية البكتريا على انتاج انزيمات البيتالاكتيميز بطريقة اليود القياسية ,واعطت (84.61%) من العزلات نتيجة موجبة للفحص، كما موضح في الجدول (2)، أن تلوث أو غزو البكتريا المرضية للأنسجة المصابة يحدث بطرق مباشرة عن طريق تلوث الحروق بالمواد والمعدات والآلات أو الأيدي العاملة في المراكز الصحية أو المستشفيات إثناء مراجعة أو رقود تعتبر المستشفيات وسطاً مهماً في نقل الإصابة أو تحدث الاصابة عن طريق تلوث المريض بنفسه من خلال جلد المريض الملوث او التلوث الغائطي للمرضى. يعتبر هذا الجرثوم من الجراثيم الانتهازية، ويتحول إلى جرثوم ممرض وبشدة في حالات خاصة هي المرضى الذين اجروا قثاطر بولية، المثبطين مناعيا ,اصابات الحروق ,الجروح بعد العمليات الجراحية , وتعد الانسجة المتعرضة للجروح والحروق وسطاً مثاليا لغزو البكتريا المبكر وخلال اليوم لأول من الاصابة.

اتفقت نتائج هذه الدراسة تقريبا مع دراسةXiao وجماعته [13] الذين اثبتوا حساسية *P. aeruginosa* للـ Imepenem و Cefepime ، بينما أعطت (50%)من عزلاته مقاومة للـPiperacillin و Ceftazidimeو Amikacin و Azterionam اذ كان Imepenem الأكفا و Azterionam الأقل كفاءة،كما أظهرت عزلاته مقاومة تامة تجاهCiprofloxacin ،اذ اشار[13] إن العوامل التي تؤدي إلى ظهور ألأصابات المكتسبة وتحور الفلورا الى ممرضة (العلل الشديدة ،الرقود المسبق في المستشفى ،الحالة التغذوية السيئة،تعاطي

المضاد،المصابين بالربو)، كما اتفقت نتائج الدراسة مع دراسة Mahmoud وجماعته [14] الذين اظهرت عزلاتهم التي عزلوها من مواقع مختلفة حساسية لـ Amikacin وتلاها Imepenem و Gentamycinو Augmentin و Ceftriaxone و Ceftazidime و Cefepim كما أبدت جميع عزلاتهم مقاومة لـ Carbencillin وكانت عزلات الحروق أكثر العزلات التي كانت مقاومة ، في حين لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Mirsalehian وجماعته [2] اذ كانت معدل المقاومة بين عزلاتهم التي عزلوها من الحروق عالية تراوحت بين (100%–66) ،وأتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسةMoradian وجماعته [6] في دراسة أجروها في إيران اذ أظهرت 12 عزلة مقاومة لكل المضادات وأعطت عزلاتهم الباقية حساسية للمضادين Imepenem و Cefepim ،ان المضادات التي اظهرت تاثيرا على البكتريا هي السيفيبيم والسفتازيديم قد يعود السبب الى قلة استعمال هذين المضادين.

التحري عن انزيماتβ–lactamase:

ابدت 84.61% من العزلات نتيجة موجبة للفحص ،استخدم هذا الاختبار لغرض التحري السريع عن انزيمات β-lactamase ليعطي دليلا على ان العزلة لن تستجيب لمضادات بيتا لاكتام المناظرة ، مما يوفر الوقت والجهد وكذلك يجنبنا مخاطر استخدام العلاج الخاطيء التي تؤدي إلى ظهور عزلات مقاومة لمضاد أو أثنين أو ثلاث أو أربع مضادات حياتية ومما تؤدي إلى فشل العلاج وتحول الأصابات إلى مزمنة[15] وجاءت نتيجة الدراسة متقاربة معBjarnsholts وجماعته [16] و Moradian [6] حيث أعطت عزلاتهم نسبة (100%) نتيجة موجبة لهذا الفحص، في حين تعزى سلبية النتيجة في العزلات الاخرى إلى إفراز أنزيمات البيتالاكتميز بكميات قليلة مما يجعل من الصعوبة الكشف عنها بهذه الطريقة،واشار الباحثونJakovjevicei وجماعته [17] و Tournier وجماعته [18] إلى انتاج أربعة أنواع من انزيمات β-lactamases من قبل العزلات المرضية *P. aeruginosa* والتي عزلوها من مختلف الأصابات ، كما ان العزلات ابدت درجة عالية من انتاج انزيمات الضراوة وهذا يعود الى شدة العلل التي تسببها هذه الجرثومة .

التحري عن Coagulase :

كانت العزلات منتجة وبنسبة 100% لانزيم coagulase، اتفقت نتيجة هذه الدراسة مع دراسةLim وجماعتها [19]الذي أعطى عزلاتهم نسبة 59(93.65%) من مجموع 63 عزلة ،إن قدرة *P. aeruginosa* على افراز انزيم coagulase يعد احد عوامل الضراوة المهمة التي تساهم في امراضية هذه الجرثومة.

التحري عن Haemolycin :

اعطت الدراسة الحالية نسبة (92.30%) من Haemolycin، اتفقت نتيجة هذه الدراسة تقريبا مع دراسات Lamholt [20] و Adam [21] والمشهداني [22] الذين اثبتوا انتاج هذا الانزيم من قبل عزلات *P. aeruginosa* المرضية وبنسبة (100%)، اذ تكون المستعمرات كبيرة ولها رائحة التفاح الفاسد تحيطها مناطق رائقة نتيجة تحلل الدم تحللا كاملا من نوع β-hemolytic، بينما في دراسة Mathee وجماعته [23] كانت (60%) من جرثومة *P. aeruginosa* منتجة لـHaemolycin،

التحري عن Licithenase :

اعطت العزلات(92.30%) لـLicithenase، اتفقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة Trun وجماعته [24]و الراوي[25]الذين اكدوا أنتاج Lecithinase من قبل بكتريا *P. aeruginosa*، واكدت[25] ان بكتريا *P.aeruginosa* اظهرت اعلى انتاج لانزيم Lecithinase مقارنة بعدد الكتريا العصوية ، تأتي أهمية Licithinase كونها سامة تجاه فوسفولبيد(فوسفوتيدايل كولين يعتبر من أهم مكونات سطوح الخلايا الطلائية) ، وأكد[24]ان عزلات *P. aeruginosa* المعزولة من الدم تنتج كميات اكبر من انزيم Lecithenase مقارنة بالعزلات غير المعزولة من الدم.

التحري عن Protease :

اعطت عزلات الدراسة(92.30%) لـProtease، وقد كانت نتائج هذه الدراسة مقاربة لنتائج دراسةMartin وجماعته [26] والشويخ[27] ، حيث اعطت جميع عزلات *P. aeruginosa* المختبرة لها القدرة على انتاج انزيم Protease ، وجاءت نتائج هذه الدراسة مقاربة لما توصلت اليه العديد من الدراسات، اذ وجد في دراسة Mathee [23]ان فعالية Protease الموجودة في 82 عزلة تكون بنسبة (86.58%) من عزلات *P. aeruginosa* المرضية. وكانت أكفأ فعالية Protease موجودة في إصابات الحروق والجروح والقصبات ، وان الفعالية الحالة للبروتينات لعزلات *P. aeruginosa* تكون مختلفة ولها صلة بموقع العزل واصل وشكل المستعمرة ، وان وجود العزلات المنتجة لـProtease في الدم تقوي الدليل على دور هذا الانزيم في الغزو ويشير وجود العزلات المنتجة لـProtease إلى الحاجة إلى علاج مضاد للاحياء المجهرية لمنع الانتشار الجهازي في المضيف، وكانت نتيجة هذه الدراسة مقاربة لنتيجةSumerville وجماعتها [28]و Smith وجماعته [29] الذين وجدوا بان 88%و86% من عزلات *P. aeruginosa* تنتج انزيم Protease على التوالي والتي عزلوها من من مواقع مختلفة ، يوجد مستويات مرتفعة معنويا من فعالية لانزيم Protease المنتج من قبل عزلات *P. aeruginosa* المعزولة من الحروق والدم والتليف الكيسي وسائل النخاع الشوكي والجروح والعيون والحنجرة ومستويات منخفضة معنويا لفعالية انزيم Protease المنتج من قبل العزلات المعزولة من الأذن والادرار، وان انتاج Protease يعمل على زيادة الغزو والامراضية، اما النتيجة السالبة للعزلات ترجع الى ان *P. aeruginosa* يمكن لها ان تنتج اربعة انزيمات بروتييز خارج خلوي وهي ElastaseA, Protease4, ElastaseB, Alkalhne protase ووجود مختلف البروتييز يعتمد على السلالة ونوع الوسط المستعمل في زرع البكتريا[30]و[31].

جدول(1) النسبة المئوية لمقاومة بكتريا *P.aeruginosa* للمضادات الحيوية المختلفة

عزلات الحروق n=30	عزلات الادرار n=20	عزلات الأذن n=15	نسبة المقاومة الكلية %	اسم المضاد
5(%16.6)	3(%15)	1(%6.6)	13,8	**Amikacin**
8(%26.6)	5(%25)	1(%6.6)	21.53	**Augmentin**
30(%100)	20(%100)	8(%53.3)	89.23	**Carbencillin**
30(%100)	20(%100)	4(%26.6)	83.57	**Cefotetan**
12(%4)	7(%35)	1(%6.6)	30.76	**Cfixime**
10(%33.3)	3(%15)	0	20	**Cefotaxime**
5(%16.6)	2(%10)	0	10.67	**Ceftazidime**
30(%100)	20(%100)	11(%73)	93.84	**Ceftriaxone**
8(%26.6)	2(%10)	0	15.38	**Ciprofloxacin**
25(%8303	12(%60)	8(%53.3)	69.23	**Naldixic acid**
8(%26.6)	3(%15)	0	16.92	**Norfloxacin**
7(%23.3)	3(%15)	0	15.38	**Ofloxacin**
15(%50)	10(%50)	2(%13.3)	41.53	**Piperacillin**
20(%66.6)	5(%25)	0	38.46	**Streptomycin**
7(%23.3)	3(%15)	0	15.38	**Tobramicin**
19(%63.3)	2(%10)	0	32.30	**Gentamicin**
5(%16.6)	2(%10)	0	10.76	**Cefepime**
7(%23.3)	2(%10)	0	13.84	**Imipenem**
30(%100)	8(%40)	0	58.46	**Azterionam**

جدول(2) النسب المئوية للعزلات المنتجة لعوامل الضراوة

عوامل الضراوة	أعداد العزلات المنتجة	النسبة المئوية%
Licithenase	60	92.30
Idometric	55	84.61
Haemolycin	60	92.30
Protease	60	92.30
Coagulase	65	100

References:

1- Typas, A.; Barembruch, A.; Possling, A. and R. Hengge. (2007). Stationary phas reorganisation of the *Escherichia coli* transcription J. Bacteriol., 178(1): 46-53

2- Mirsalehian, A.; Fezabadi, U.; Akbari, N. and Ameli. (2008). Prevalence of extended spectrum beta lactamases among strains of *P. aeruginosa* isolates from burn patients. Iranian. Medical. J. ISSN., 11 (3): 244-255.

3- Mittal, R., Aggarwal, S.; Sharma, S.; Chhibber, S.; and Harjai , K . (2009) . Urinary tract infection causing by *P. aeruginosa* :Aminireview. J.inection and Public Health.,2,101-111.

4- Bradbury, L.; Roddam, A. ;Merritt, D.; Reid, M.; and Sanre, A.(2010) .Champion Virulence gene distribution in clinical, nosocomial and environmental isolates of *Pseudomonas aeruginosa*.J. Medical Microbiology.,84(5-6):499-510.

5- Annette, A.; Angus, G.; David, E.; Jossph, B.; Barbieri, L.; and Fleiszin ,K. (2010). The ADP-Ribosylation Domain of *P. aeruginosa* exoS is reguired for membrane Bleb nich formation and bacterial survivial within epithilial cells. Infect. Immun., 78(11): 4500-4510.

6- Moradian, F.; Perdosi, E.; and Molana, Z. (2012).Molecular detiction of integron genes and pattern of antibiotic in *P. aeruginosa* strains isolates from intensive unit.Iran .J. MAM.,1(4):424.

7- Bahmani, N.; Rashid, E.; Ramazanzadeh, Y. (2013).; Detection of SHV type extended-spectrum B-lactamase and risk factors in *pseudomonas aeruginosa* clinical isolates. Pak. J. Med. Sci.,29(3):788-792 2.

8- Koneman, E.; Winn, W. ; Allen, S.; Janda, W.;Procop, G.;Woods, G.; and Schreckenberger, P. (1997). 'Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology,' 6th[ed],. Lippincott Williams & Wilkins, London

9- Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A. (1996). "Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology". 14th ed., Churchill Livingstone, New York, pp. 413-423.

10- Lennette, E.H.; Ba;ows, A.; Hausler, W.J. and Shadomy, H.J. (1985). "Manual of Clinical Microbiology". 4th ed., American Society for Microbiology, Washington, D.C., pp. 350-372.

11- Cruickshank, R.; Duguid, J.P. and Swain, R.H.A. (1975). Medical Microbiology, a Guide to the Laboratory Diagnosis and Control of Infection. 11th ed., Churchill Livingstone, Edinburgh and London and New York.

12- WHO ,World Health Organization. (1978). Technique for the detection of βLactamas production strain of Enterobacteriaceae. P 52-77.

13- Xiao, H.; Qingzhong, X.; Liui, G.; and Liu, U. (2013). Antibiotic susceptibility and genotype patterns of *Pseudomonas aeruginosa* from intensive care units mechanical ventilation-associated pneumonia in Biomedical reports 1, 589-593.

14- Mahmoud, A.; Wafaa, A.; Ghada, M.; Rashad, K.; Hindawi, W.; and Amir, R.(2013). Prevalence of Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Patients with Nosocomial Infections at a University Hospital in Egypt, with Special Reference to Typing Methods .Journal of Virology and Microbiology .,33(4):2344-2357.

15- Kong, K.; Suriya, A.; Ravi, M.; Jayawardena,Y.; Shalaka, K.; Dayaram, F.; Indulkar, K.; and Aimee, d.(2005). *Pseudomonas aeruginosa* AmpR Is a Global Transcriptional Factor That Re gulates Expression of AmpC and PoxB -Lactamases, Proteases, Quorum Sensing, and Other Virulence Factors. J. Antimicrob. Chemother., 49 (11): 4567–4575.

16- Bjarnsholt, T.; Jensen, P.; Jakobsen, H.; Phipps R.; Nielsen, A.;Rybtke, M.; Nielsen, T.; Givskov, A.; Hoiby, N.; Ciofu, O.(2010). Quorum sensing and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* during lung infection of cystic fibrosis patients. PLOS.ONE, journal. pone. 5(4): 1371.

17- Jakovljevice, V.; Leonardy, S.; Hoppert, M.; and Anderson ,L. (2008). PilB and Pil Tare ATPase acting antagonistically in type IV pilus function in *P. aeruginosa*.,. J. Bacteriol., 192(1): 994- 998.

18- Tournier, D.; Richardot,C.;Emeline, E.; Franke, M.; Smith, P.;Asperilla, Q.; and Muller, E. (2013). Co-dexity of resistance mechanisms to Imipenim intensive care unit strains of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Antimicrob. Chemother ., 68(8): 1772-1788.

19- Lim, A.; Pirnay, S.; Vosed, D.; and Vandenelad, C.(2007).Direct detection and identification of *Pseudomonas aeruginosa* in clinical samples such as skin biobsy specimens and exopectorations by multiple PCR on two outer membrane lipoprotien genes, OprL and OprI. J. Clin. Microbiol., 35(6): 1295-1299.

20- Lamholt, J.; Poulsen, K.; and Killian, J. (2001). Epidemic pobulation structure of *P. aeruginosa* : Evidence for clone that is pathoginic tothe Eye and that has adistinic combination of virolence factors Infect. Immun., 69(10): 6284- 6295.

21- Adam ,B.; Vasil, A.;A.; and Michael, V. (2004). Anovel extracellular phospholipase C of *Pseudomonas aeruginosa* requireds of phospholipid monolipid. J. Mol. Mrobiology.,54(4):1089-1098.

22- المشـــهداني،كوكب غـــدريس محمـــود حســـين.(2004) دراســـة تشخيصية وامراضية لجرثومة *P.aeruginosa* المعزولة من المصادر المختلفة في مدينة الموصل .اطروحة دكتوراه. كلية العلوم.جامعة الموصل.

23- Mathee, K.; Narasimhan, G.; Valdes, C.; Qiu, X.; Matewish, M.; Koehrsen, M.; Rokas, A.; Yandava, N.; Engels, R.; Zeng, E.; Olavarietta, R.; Doud, M.; Smith, S.; Montgomery, P.; White, J. R.; Godfrey, A.; Kodira, C.; Birren, B.; Galagan, E.; Lory, S. (2008). Dynamics of *Pseudomonas aeruginosa* genome evolution. Proceedings of the National Academy of Sciences 105 (8): 3100–3105.

24- Trun,I.; Adriana ,V.; Martin, B.; Michael, L.; Vasil, B.; Ehmke, H.; and Pohl, A.(2013). High-level over-expression, purification, and crystallization of a novel phospholipase C/sphingomyelinase from *Pseudomonas aeruginosa* journal Protein Expression and Purification Mol. Microbiol., 90, 40–46.

25-الراوي،ندى فاضل.(1999).دراسة تشخيصية وفسلجية لعدد من الاجنـاس التابعـة لمجموعـة الجـراثيم العصـوية السـالبة غيـر المخمـرة .اطروحة دكتراه. كلية العلوم. جامعة الموصل.

26- Martin, J.; Zenilman, J.; Lazarus, G. (2007) Molecular microbiology: new dimensions for cutaneous biology and wound healing. J. Invest Dermatol 130, 38–48.

27- الشويخ، رنا مجاهد عبدالله. (2006). انتاج وتوصيف البروتييز من بكتريـا الزوائـف الزنجاريـة المعزولـة مـن حـالات مرضـية وعلاقتـه بـبعض مضـادات الحيـاة. اطروحـة دكتـوراه. كليـة العلـوم. الجامعـة المستنصرية.

28- Sumerville, G.; Mikoryak, C.A. and Reitzer, L. (1999). Physiological characterization of *Pseudomonas aeruginosa* during exotoxin A synthesis: glutamate, iron limitation and aconitase activity. J. Bacteriol., 181(4): 1072-1078.

29- Smith, L.; Barbara, O.; Pholawat, N.; Tingpej, R.; Hua, D.; Tim, F.; Conibear, N.; Jim, H.; and Willcox, M. (2011). Protease IV production in *Pseudomonas aeruginosa* from the lungs of adults with cystic fibrosis. Am .J. Respir. Crit. Care Med., 183, 1674–1679

30- النيسـاني،علياء لطيـف سـلمان.(2011). عـزل وتشـخيص بكتريـا الزوائف الزنجاريـة ودراسـة بعض عوامل ضراوتها باستخدام المؤشرات الوراثية. رسالة ماجستير . كلية العلوم. جامعة تكريت.

31- Alvarez, C.; Martinez, A.; and P.; Christie, B. (2009). Biological diversity of type IV secretion systems. Microbiol. J. Mol. Biol., 37:775-808

Sensitivity of *Pseudomonas aeroginosa* Isolated from patients with different clinical state to Antibiotics and determination of some virulance factors in vitro

Waad M. Raoof [1] , A.L. Shameran M. Tawfiq [2]

[1]*College of pharmacy , University of Tikrit , Tikrit , Iraq*
[2]*College of Education for pure science ,University of Tikrit , Tikrit , Iraq*

Abstract

Present study was conducted on 65 isolates belonging to the bacteria *P.aeruginosa* which included 30 isolates by (46%) of burns, 20 (30%) isolated from urinary tract infections15 (23%) of middle ear infections , tested the sensitivity of the isolates towards (19) antibiotic belonging to (6) groups for different isolates showed a clear divergence in different proportions and in their resistance to antibiotics. It showed antibiotics (Cfepime, Ceftazidim, Imepenime, Amikacin, Tobramicin, Ciprofloxacin, Ofloxacin, Norfloxacin) the most efficient antibiotics used, either antibiotics (Gentamicin ,Streptomycin, Cefixim Augmentin, Cefotaxim, Tobramicin) was medium efficiency either (Cefotetan, Carbencilin, ceftriaxone, Azatrionam, Naldixic acid Piprasilin) was the lowest influential . expressed, 100% of all isolates have ability to produce the enzyme Coagulase and (92.30 %) for each of the enzyme (Licithenase, Haemolycin and Protease), while showed (84.61 %) of the isolates were positive for the examination of enzyme β-lactamase.