وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية / كلية العلوم
قسم علوم الحياة

# انتشار أنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف نوع *TEM* بين عزلات *Proteus mirabilis* في مدينة الديوانية .

رسالة قدّمتها إلى
مجلس كلية العلوم - جامعة القادسية
وهي جزء من متطلبات نَيْل درجة الماجستير علوم في
علوم الحياة / أحياء مجهرية .

**نهى جواد كاظم**

( بكالوريوس علوم حياة/كلية العلوم/جامعة القادسية/2014 )

بإشراف

**ا.م.د.سيوف خومان الرماحي**

1437هـ 2016م

بِسْمِ ٱللَّهِ ٱلرَّحْمَٰنِ ٱلرَّحِيمِ

﴿ وَيَسْـَٔلُونَكَ عَنِ ٱلرُّوحِ ۖ قُلِ ٱلرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّى
وَمَآ أُوتِيتُم مِّنَ ٱلْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا ﴿٨٥﴾ ﴾

صَدَقَ ٱللَّهُ ٱلْعَلِيُّ ٱلْعَظِيمُ

الإسراء: ٨٥

** الإهداء **

الى . . من تشرفت السماء بوجودهم وتطهرت الارض برقدتهم فيها . . . الى من الذين اذهب عنهم الرجس وطهرهم تطهيرا . . . محمد وال بيته الطيبين الاطهار

الى . . . مصابيح الهدى وسفن النجاة . . . الى من انارو بدمهم دجى الحياة . . . الامام الحسين واخية ابى الفضل العباس عليهما السلام

الى . . . معلمتي الاولى ومن زرعت في نفسي بذور الصبر والعزيمة . . . . الى رمز العطاء ومن غمرتني بحنانها وساندتني في دربي الطويل . . . دكتورة سيوف خومان

إلى . . . الغائبَين الحاضرين في قلبي رحمهما الله أقدم هديتي لكما إنها بعضٌ من أفضالكما . . براً وحباً وشوقاً وافتقاداً . . . . والدي ووالدتي الغاليين

الى . . . من عليها اعتمد الشمعة المتقدة التي تنير ظلمة حياتي . . . الى من بوجودها أكتسب قوة ومحبة . . . . اختي زينة الغالية

إلى . . . . نبراس حياتي ومن بهم اشد ازري . . . . إلى سندي وعزوتي و ينبوع المحبة والحنان . . أخوتي وأخواتي

اهدي ثمرة جهدي المتواضع

نهى

# شـــــــــكر وتقـــــــــدير

بسم الله الرحمن الرحيم والحمد لله الذي قصرت عن رؤيته أبصار الناظرين وعجزت عن نعته أوهام الواصفين، والصلاة والسلام على أشرف الخلق أجمعين محمد سيد المرسلين وعلى أهل بيته الطيبين الطاهرين..

بعد ان منَ الله علي ووفقني لإكمال دراستي يطيب لي أن اقدم أسمى معاني الشكر والعرفان لأستاذتي الفاضلة **الدكتورة سيوف خومان** لاقتراحها خطة البحث وتشجيعها المتواصل طيلة مدة البحث وارشاداتها العلمية القيمة التي لها الأثر الكبير في اعداد هذه الرساله سائلة الله العلي القدير أن يمدها بدوام الصحة والرقي العلمي.

كما يدعوني الواجب أن اقّدم الشكر والامتنان إلى عمادة كلية العلوم/جامعة القادسية ممثلة بالدكتور **عبد الامير سمير** وإلى رئاسة قسم علوم الحياة واخص بالشكر والتقدير لإستاذي الفاضل الدكتور **جاسم حنون** لما قدمه لي من رعاية ومساعدات جمة على المستوى الإداري . كما أود أن أقدم شكري الجزيل إلى أساتذتي الفضلاء في قسم علوم الحياة ممن كانوا لي مثلاً في عطائهم العلمي .

وأقّدم وافر شكري وامتناني بالأخص البكتريولوجي **انمارحميد الفؤادي** والبايلوجيات **فرح احمد** و **سرى عزير** و **سوزان طعمة** وطالبات الماجستر **هيام عبد الله ونورداخل وزينب فالح و ومروة راهي وهند حسين** لما قدموه لي من مساعدة قيمة وتسهيلات خلال مدة البحث.

وفي الختام لا يسعني الا أن أحمد لله الذي أغناني بفضله وسخرّ لي جمعاً من النفوس الطيبة لإتمام هذا العمل وفي نهايته لا يسعني إلا أن أقدم خالص شكري وعرفاني لهم أجمعين وأسأل من الله أن يوفقهم.

نهى

## الخلاصـــــة

## Sumary

تعد بكتريا *Proteus mirabilis* من الاجناس واسعة الانتشار في البيئة وخاصة العدوى داخل المستشفيات كما وتتواجد كجزء من المستنبت الطبيعي لأمعاء الانسان وكما لها أهمية كبيرة في اخماج المسالك البولية والتهاب الحروق والتهابات الاذن الوسطى وحالات وتجرثم الدم لذلك كانت الدراسة الحالية شاملة للعينات السريرية المذكورة اعلاه كلها.

جُمعت عينات الدراسة من الحالات السريرية المختلفة بواقع 185 عزلة من مستشفيات مدينة الديوانية خلال المدة من تشرين الاول 2015 لغاية نيسان 2016 وقسمت العينات بحسب مصادر جمعها الى خمس مجموعات (44 مسحة أذن, 40 مسحة حروق , 37 عينة البراز, و57 عينة ادرار, 7عينة دم ) , اذ اظهرت نتائج الفحوصات الزرعية والكيموحيوية عائدية 69عزلة لبكتيريا *P.mirabilis* , وتم تأكيد تشخيصها بوساطة Api 20E واستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل .

اختبرت حساسية عزلات *P.mirabilis* تجاه 15 نوعاً من المضادات الحياتية بطريقة انتشار الاقراص, والعائدة لعشرة اصناف من المضادات الحياتية , اذ بينت نتائج اختبار الحساسية الاولي لعزلات لبكتيريا *P.mirabilis* , أن نسبة المقاومة عزلات بكتريا *P.mirabils* لمضادات البيتالاكتم المتمثلة بمضاد الاموكسيلين Amoxicillin كانت 84.05% , اما نسبة مقاومتها لمضاد الامبسلين Ampicillin فقد وصلت الى 84.05%,ولمضاد الاموكسيلين-كلافيولانك أسد Amoxicillin/cluvanic acid بنسبة47.82 % ,كل من المضادين التيكراسيلين Ticarcillin و السيفتازيديم Cefatozidime كانت نسبة المقاومة لهما 66.66% ,بينما المضاد الحيوي السيفوتاكسيم Cefotaxim بنسبة 53.62%, والميروبنيم Meropenem بنسبة 5.6%,. أما نسبة المقاومة لمضادات الأمينوكلايكوسيدات المتمثلة بمضادالأميكاسين Amikacinبنسبة 17.39%, ومضاد الجنتامايسين Gentamicin بلغت 33.33%,في حين مضادات الكوينولينات Quinolones المتمثلة بحامض النالديكسيك Nalidic acid بنسبة 75.36%, اما مضاد السبروفلوكساسين Ciprofloxacin فسجل اقل نسبة مقاومة 4.34%, سجل مضاد الترايميثوبريم Trimethoprim نسبة مقاومة 75.36% , أما الكلورامفينيكول Chloramphenicol سجل نسبة مقاومة عالية 82.60%, وكذلك كل من مضاد التتراسايكلين Tetracycline بنسبة 82.60%, ومضاد الريفامبين Rifampin بنسبة 91.30%.

وأظهرت الدراسة الحالية الى ان هناك 42 (60.86%) من العزلات مقاومة لخمس أصناف من المضادات الحياتية لذلك عُدت هذه العزلات ذات مقاومة متعددة للمضادات الحياتية (Multidrug resistance) وتمثل اعلى نسبة بين الانواع الثلاث للمقاومة , وأما العزلات ذات المقاومة الشاملة (Extensive drug resistance) نسبة المقاومة 24(34.78%) بينما سجلت

| رقم الفقرة | العنوان | الصفحة |
|---|---|---|

البكتريا مقاومة ( النوع الثالث) وبنسبة 3(4.78%) وتمثل المقاومة لكل أصناف المضادات الحياتية في الدراسة الحالية (Pand drug resistance) .

اختبرت 24 عزلة بكتيرية التي كانت ذات مقاومة شاملة لاصناف المضادات الحياتية المستخدمه في الدراسة وذلك للتحري عن قابلية انتاجها لمشتقات أنزيم $bla_{TEM}$ باستخدام (PCR) إذ كانت المورثة $bla_{TEM\text{-}177}$ هي الاكثر تواجداً بين عزلات بكتريا *P.mirabilis* وبنسبة 87.5% , اما المورثة $bla_{TEM\text{-}160}$ كانت بنسبة 59.38% ,والمورثة $bla_{TEM\text{-}72}$ بنسبة 56.25%,والمورثة $bla_{TEM\text{-}1}$ بنسبة 56.25%,والمورثة $bla_{TEM\text{-}156}$ وبنسبة 53.13% , والمورثة $bla_{TEM\text{-}89}$ بنسبة 31.25% ,أما المورثة $bla_{TEM\text{-}3}$ فسجلت أقل نسبة بين المورثات المدروسة في بكتريا *P.mirabilis* وبنسبة 6.25%.

حُلِّلت الشجرة الوراثية Phylogenetic tree analysis to $bla_{TEM}$ gene بوساطة برنامج Mega6 ,إذ أستخدمتُ تحليل الشجرة الوراثية من نوع UPGMAtree Test لنواتج 14 عينة من عزلات بكتريا *P.mirabilis* .إذ قورنت عزلتين من عزلات بكتريا *P.mirabilis* ذات المقاومة الشاملة للمضادات الحياتية والمنتجة لأنزيم المقاومة $bla_{TEM}$ لتحليل الشجرة الوراثية . وأظهرت نتائج التحليل وجود تقارب واضح في عزلات *P.mirabilis* لأنزيم $bla_{TEM}$ المحلية مع عزلات *P.mirabilis* العالمية بالمقارنة مع بقية الأنواع الأخرى الظاهرة في تحليل لشجرة الوراثية.

## قائمة المحتويات

| | | |
|---|---|---|
| 1 | **Introduction** **الفصل الاول / المقدمة** | **1** |
| | **Literature Review** **الفصل الثاني / استعراض المراجع** | |
| 3 | **Historical Aspect** **نبذة تاريخية** | **1-2** |
| 3 | **Classifacation of Bacteria** **تصنيف البكتريا** | **2-2** |
| 4 | **General characterstics** **الصفات العامة** | **3-2** |
| 5 | **Pathogenincity** **الامراضية** | **4-2** |
| 7 | **Resistance bacteria to amtibiotics** **مقاومة البكتريا للمضادات الحياتية** | 5-2 |
| 8 | **ß-Lactam Antibiotics** **مضادات البيتالاكتم** | **1.5.2** |
| 9 | **Penicillins** **البنسلينات** | **1.1.5.2** |
| 10 | **Cephalosporins** **السيفالوسبورينات** | **2.1.5.2** |
| 11 | **Carbapenemes** **مضادات الكاربابينيم** | **3.1.5.2** |
| 12 | **Monobactam antibiotics** **مضادات المونوباكتام** | **4.1.5.2** |
| 12 | **الية المقاومة لمضادات البيتالاكتام** **β-lactamases Resistance Mechanesim** | **6.2** |
| 13 | **التحلل المائي للمضادات الحيوية بواسطة انزيمات البيتالاكتاميز** **Antibiotic hydrolysis by β-lactamases** | **1.6.2** |
| 14 | **تقليل الفة المضاد الحيوي لاستهداف البروتينات الرابطة للبنسلين:** **Decreased affinity of target pencillin binding proteins** | **2.6.2** |
| 14 | **Alteration in permeability barrier** **التغير في حاجز النفاذية** | **3.6.2** |
| 14 | **Efflux pump system** **انظمة الدفق** | **4.6.2** |
| 15 | **β-lactamase enzymes** **انزيمات البيتالاكتاميز** | **5.6.2** |
| 15 | **Mechanism of β-lactamase action** **الية عمل انزيمات البيتالاكتاميز** | **1.5.6.2** |
| 16 | **Classification of β-lactamases** **تصنيف أنزيمات البيتالاكتاميز** | **2.5.6.2** |
| 17 | **Esβl** **انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف** | **7.2** |
| 18 | **بيتالاكتاميز TEM** | **1.7.2** |
| 19 | **انزيمات SHV** | **2.7.2** |
| 19 | **انزيمات CTX-M** | **3.7.2** |
| 20 | **انزيمات OXA** | **4.7.2** |
| 21 | **β-lactamase inhibitors مثبطات البيتالاكتاميز** | **8.2** |
| | **الفصل الثالث /المواد وطرائق العمل** | |
| 22 | **Materials المواد** | **1-3** |
| 22 | **الاجهزة والادوات المختبرية** | **1-1-3** |
| 23 | **Chemical material** **المواد الكيميائية المستعملة** | **2-1-3** |
| 24 | **Antibiotic** **المضادات الحياتية** | **5-1-3** |
| 25 | **Polymerase Chain Reaction** **تفاعل البلمرة المتسلسل** | **6-1-3** |
| 25 | **عدة استخلاص DNA** | **1-6-1-3** |
| 25 | **بادئات DNA** | **2-6-1-3** |
| 27 | **Methods** **طرائق العمل** | **2-3** |
| 27 | **Culture media preparation** **تحضير الاوساط** | **1-2-3** |
| 28 | **Sterilization method** **تعقيم الاوساط** | **2-2-3** |
| 29 | **Reagents** **الكواشف** | **2-3-2-3** |
| 28 | **Solutions** **المحاليل** | **1-2-2-3** |

| | | |
|---|---|---|
| 30 | Collection of samples جمع العيـــنات | 4-2-3 |
| 31 | Identification Bacteria تشخيص البكتريا المعزولة | 5-2-3 |
| 31 | الخصائص الزرعية | A |
| 31 | Microscopic diagnosis التشخيص المجهري | B |
| 31 | Biochemical test الاختبارات الكيموحيوية | 6-2-3 |
| 33 | api 20 E diagnosis system التشخيص بنظام | 7-2-3 |
| 34 | حفظ وإدامة العزلات البكتيرية Preservation and Maintenance of Bacterial Isolates | 8-2-3 |
| 35 | Antibiotic Susceptibility Testing إختبار فحص الحساسية | 9-2-3 |
| 35 | (Polymerase Chain Reaction PCR تفاعل السلسلة المتبلمرة | 10-2-3 |
| 35 | (Genomic DNA extraction) إستخلاص الحامض النووي البكتيري | 1-10-2-3 |
| 37 | DNA examination فحص الحامض النووي المستخلص | 2-10-2-3 |
| 38 | PCR master mix تحضير مزيج تفاعل سلسلة البلمرة | 3-10-2-3 |
| 39 | PCR Thermocycler برنامج الدورات الحرارية لتضخي DNA | 1-3-10-2-3 |
| 40 | Agarose Gel electrophoresis الترحيل الكهربائي بالهلام | 4-10-2-3 |
| 41 | DNA sequencer method طريقة تسلسل الحمض النووي | 11-2-3 |
| 41 | Statistical Analysis التحليل الاحصائي | 12-2-3 |
| | الفصل الرابع / النتائج والمناقشة | |
| 42 | مجتمع الدراسة | 1-4 |
| 43 | Identification and Isolation العزل والتشخيص | 2-4 |
| 47 | Cultural characteristic الصفات الزرعية | 1-2-4 |
| 47 | Microscopic characteristic الصفات المجهرية | 2-2-4 |
| 47 | Biochmical Test الفحوصات الكيميوحيوية | 3-2-4 |
| 48 | تشخيص بكتريا *P.mirablis* بنظام API-20E | 1-3-2-4 |
| 48 | تشخيص بكتريا *P.mirablis* باستخدام جين*16S rRNA* | 2-3-2-4 |
| 49 | انتشار وتوزيع عزلات *P. mirablis* بحسب الجنس والعمر. Incident and distribution of *P.mirabils* isolates based on age and gender. | 3-4 |
| 53 | Antibiotic Sensitivity test اختبار فحص الحساسية | 4-4 |
| 60 | المقاومة المشتركة لاصناف المضادات الحياتية الأخرى | 5-4 |
| 62 | انتشار جينات المقاومة لمضادات البيتالاكتم Dissemination of β-lactam Antibiotics-Resistance Genes | 6-4 |
| 68 | العلاقة بين أنتشار جينات المقاومة TEM بيتالاكتاميز والعوامل المساعدة على انتشارها بين المرضى | 7-4 |
| 75 | تحليل الشجرة الوراثية لجينات المقاومة TEM | 7.4 |
| 84 | Conclusion الاستنتاجات | |
| 85 | Recommendation التوصيات | |
| | المصادر العربية | |
| | المصادر الاجنبية | |

# قائمة الجداول


| رقم الجدول | العنوان | الصفحة |
|---|---|---|
| 1-3 | بادئات الـ DNA التي استعملت في هذه الدراسة. | 26 |
| 2-3 | مكونات مزيج تفاعل انزيم البلمرة Monoplex PCR master mix وحجومها | 38 |
| 3-3 | الظروف المستعملة في جهاز الدورات الحرارية PCR . | 39 |
| 1-4 | النسب المئوية للبكتريا المعزولة حسب مصادر عزلها. | 43 |
| 2-4 | النسب المئوية لعزل انواع بكتريا *Proteus ssp* من المصادر السريرية المختلفة. | 44 |
| 3-4 | توزيع عزلات *P.mirabils* حسب العمر من الحالات السريرية المختلفة . | 51 |
| 4-4 | توزيع عزلات *P.mirabils* حسب الجنس من الحالات السريرية المختلفة. | 52 |
| 5-4 | عزلات *P.mirabils* حسب الجنس والعمر من الحالات السريرية المختلفة . | 52 |
| 6-4 | النسب المئوية لعزلات بكتريا *P.mirablis* المقاومة للمضادات الحياتية | 59 |
| 7-4 | النسب المئوية للمقاومة المشتركة لبكتريا *P.mirablis* لأصناف المضادات الحياتية المختلفة | 62 |
| 8-4 | النسب المئوية لجينات مقاومة مضادات البيتالاكتم لـــ24عزلة لبكتريا *P.mirablis* | 64 |
| 9-4 | النسب المئوية لانتشار جينات المقاومة *TEM* بيتالاكتاميز لبكتريا *P.mirablis* بحسب مصادر الاصابة | 69 |
| 10-4 | النسب المئوية لانتشار جينات المقاومة *TEM* بيتالاكتاميز بحسب الفئات العمرية | 70 |
| 11-4 | النسب المئوية لانتشار جينات المقاومة *TEM* بيتالاكتاميز بحسب الجنس | 71 |
| 12-4 | النسب المئوية لانتشار جينات المقاومة *TEM* بيتالاكتاميز بحسب المضادات الحياتية المستخدمة | 72 |
| 13-4 | يبين توزيع جين $bla_{TEM}$ بين عزلات بكتريا *P.mirabilis* | 73 |

# قائمة الاشكال


| رقم ا لشكل | العنوان | الصفحة |
|---|---|---|
| 1-2 | تركيب البنسلين( Samaha-Kfoury and Araj, 2003) | 10 |
| 2-2 | تركيب السيفالوسبورين (Henry *et al* .,2001) | 10 |
| 3-2 | آلية تأثير أنزيمات البيتالاكتاميز (Livermor ,2006) | 21 |
| 1-4 | شريط API-20Eالمستخدم في تشخيص عزلات بكتريا P *mirabilis* | 48 |
| 2-4 | الترحيل الكهربائي لهلام الاكروز والحاوي على نتائج فحص PCR لجين ال 16SrRNA gene الخاص بتشخيص جرثومة *Proteus mirabilis*. | 49 |
| 3-4 | الترحيل الكهربائي لهلام الاكروز والحاوي على نتائج فحص mPCR لجينات المضادات الحياتية من مجموعة Extended spectrum beta-lactamase genes في عزلات جرثومة *P. mirabilis*. لجين (*bla*TEM- وجين 177) gene (*bla*$_{TEM}$ -160) | 65 |
| 4-4 | الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز والحاوي على نتائج فحص mPCR لجينات المضادات الدوائية من مجموعة Extended spectrum beta-lactamase genes في عزلات جرثومة *P. mirabilis*. (*bla*$_{TEM}$-1)وجين (*bla*$_{TEM}$-3) | 66 |
| 5-4 | الترحيل الكهربائي لهلام الاكاروز والحاوي على نتائج فحص mPCR لجينات المضادات الدوائية من مجموعة Extended spectrum beta-lactamase genes في عزلات جرثومة *P. mirabilis*.لجين (blaTEM- وجين 72) gene (*bla*TEM-89) | 67 |
| 6-4 | الترحيل الكهربائي لهلام الاكروز والحاوي على نتائج فحص PCR لجينات المضادات الدوائية من مجموعة Extended spectrum beta-lactamase genes في عزلات جرثومة *Proteus mirabilis*. | 67 |
| 7-4 | تحليل متعددة اصطفاف تسلسل القواعد الجينية (Multiple sequence alignment analysis) باستخدام برنامج (MEGA6) لناتج فحص تفاعل تسلسل البلمرة PCR لجين beta-lactamase TEM gene في جرثومة *P.mirabilis*.لجين (*bla*TEM-156) | 76 |
| 8-4 | تحليل الشجرة الوراثية Phylogenetic tree analysis باستخدام برنامج (MEGA 6) حيث تم استخدام تحليل الشجرة الوراثية من نوع ( UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic (tree Mean) | 77 |
| 9-4 | تقيم الاختلافات الوراثية في تسلسل القواعد الجينية بين جينات beta-lactamase TEM genes في جرثومة *P.mirabilis* المحلية ومقارنتها مع beta-lactamase TEM genes في جرثومة *P. mirabilis*المسجلة عالميا. | 79 |

# قائمة الملاحق


| رقم الملحق | عنوان الملحق |
|---|---|
| ملحق (1) | الاختبارات الكميوحيوية التشخيصية لبكتريا *Proteus mirabilis* |
| ملحق(2) | نتائج تشخيص *Proteus mirabilis* بنظام Api 20E |
| ملحق(3) | نتائج تسجيل جينات المقاومة نوع TEM لـ14عزلة لبكتريا *Proteus mirabilis* المحلية في بنك الجينات NCBI |

# قائمة المختصرات

| المختصر | تـــعريـــفـــة |
| --- | --- |
| **A/A** | Acid/Acid |
| **UTI** | Urinary Tract Infection |
| **XDR** | Extensive-Drug Resistance . |
| **PDR** | Pan-Drug Resistance. |
| **MBL** | Metallo Beta-lactamase. |
| **MDR** | Multi Drug Resistance. |
| **NCBI** | National Center for Biotechnology Information. |
| **CLSI** | Clinical and Laboratory Standard Institute. |
| **No.** | Number |
| **bp** | Base pair |
| **EDTA** | Ethylene-Diamine Tetra  Acetic acid |
| **dNTP** | dineuclotide tri-phosphate |
| **PCR** | Polymerase chain Reaction |
| **api** | Analytical Profile Index. |
| **β** | Beta |
| **16SrRNA** | 16 Svedberg units ribonucleic acid . |
| **F** | Forword Primer |
| **R** | Reverse Primer. |
| **UV** | Ultra-Violet. |
| **WHO** | World health organization . |

| | |
|---|---|
| ***TEM*** | β-lactamase named after the patient (Temoneira) providing the first sample |
| ***SHV*** | β-Lactamase (Sulfhydryl Reagent Variable) |
| ***CTX-M*** | Cefotaximase, -lactamase active on cefotaxime |
| ***OXA*** | Oxacillinases, -lactamase active on oxacillin |
| **PBPs** | Pinicillin Binding Proteins |
| ***bla* gene** | β-Lactamase Gene |
| **ESBLs** | Extended-Spectrum β-Lactamases |

# الفصل الاول

# المقدمة

# Introduction

## المقدمة Introduction

تعد بكتيريا *Proteus mirabilis* واحدة من اهم الانواع البكتيرية السالبة لصبغة گرام التي تنتمي للعائلة المعوية ولهذه البكتريا اهمية كبيرة في تفشي العدوى المكتسبة من المستشفيات Nosocomial infections (Jacobsen & Shirtliff, 2011 ; Armbruster and

(Mobley ,2012 . كما وتعد من الممرضات الاكثر شيوعاً التي تسبب الاخماج المكتسبة من المجتمع Community acquird infections , ولكونها بكتريا انتهازية Opportunistic لذا فهي تسبب الكثير من الاصابات المرضية عندما تتواجد في غير بيئاتها الطبيعية (Jacobsen & Shirtliff, 2011: Pellegrino *et al*.,2013).

ان مقاومة عزلات بكتريا *P.mirabilis* ولاسيما المقاومة المتعددة للمضادات الحياتية multi drug rsistance اصبحت مشكلة متزايدة مع الزمن بالاضافة الى ان انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف يكون متزامناً مع المقاومة المتعددة للمضادات الحياتية (Mollenkopf ,2012).

إن إنزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف تنتج من قبل البكتريا السالبة لصبغة كَرام أذ تمنح البكتريا التي تنتجها زيادة في مقاومة المضادات الحياتية شائعة الاستخدام ومنها مضادات البيتالاكتم (Dhillon and Clark, 2011) . لذلك يعد التحري عن إنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف من الأمور المهمة والضرورية للحد من العزلات المنتجة لها وتقليل من انتشارها. أذ لاتوجد طرائق ذات كفاءة عالية للتحري عن جميع أنواع إنزيمات البيتالاكتاميز في الأنواع البكتيرية ، وهذا يعود الى كثرة أنواعها وتباين خواصها التحليلية والتثبيطية (Singh *et al*., 2010).

تسبب أنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف فشل الكثيرمن العلاجات المستعملة في السيطرة على الاصابات البكتيرية ، لذلك كانت مقاومة للمضادات الحياتية موضع اهتمام الباحثين بسبب انتشارها وتفشيها في المجتمع(D'Andrea ,2012) اصبحت هذه إنزيمات البيتالاكتاميز تتزايد بصورة مستمرة مع الزمن وتتطور بسرعة وخاصة في عدوى المستشفيات والبكتريا المرضية التي تمتلك صفة المقاومة العلاجية المتعددة للمضادات الحياتية (Meervenne,2012) .

على الرغم من قلة الدراسات على المستوى العالمي والمحلي لجينات المقاومة نوع TEM بيتالاكتاميز , لكن شخَص كل من الجناحي والموسوي (2013) في مدينة الديوانية مورثة المقاومة *bla* $_{TEM}$ لبكتريا *P.mirablis* إذ وجدتا ان جميع عزلات هذه البكتريا ممتلكة لهذا الجين وبنسبة 100% .وكما حصل الباحث Abreu وجماعتة (2011) في شمال شرق البرازيل على مورثة $bla_{TEM}$ في عزلات بكتريا *P.mirabilis*.

وبالنظر لاهمية المقاومة للمضادات الحياتية وتفشيها وخصوصا الشائعة الاستخدام منها في مدينة الديوانية ولقلة الدراسات متخصصة على مستوى الجزيئي للتحري عن هذه الانزيمات في هذه المدينة لذلك هدفت الدراسة الحالية التحري عن انتشار مشتقات أنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف $bla_{TEM}$ بين عزلات *Proteus mirabilis* في مدينة الديوانية من خلال الخطوات التالية :

١. عزل بكتيريا *P.mirabilis* وتشخيصها باستخدام جين 16RNA في تفاعل البلمرة المتسلسل PCR من حالات سريرية مختلفة في مستشفيات مدينة الديوانية .

٢. دراسة نمط المقاومة البكتيرية لعزلات بكتريا *P.mirabilis* تجاه عدد من المضادات الحياتية الشائعة الاستخدام بطريقة انتشار الاقراص.

٣. التحري عن انتشار جينات المقاومة لمضادات البيتالاكتم بين عزلات بكتريا *P.mirabilis* ومنها إنزيمات ألبيتالاكتاميزنوع $bla_{TEM}$ بأستخدام التفاعل الجزيئي المتبلمر PCR.

٤. إجراء تحليل الشجرة الوراثية Phylogenetic tree analysis لمورثات المقاومة $bla_{TEM}$ بيتالاكتاميز لعزلات بكتريا *P.mirabilis* في مدينة الديوانية بوساطة جهاز ABDNA sequencing system ومقارنتها من حيث التشابه والاختلاف مع العزلات العالمية في بنك الجينات NCBI gene.

# الفصل الثاني

# إستعراض المراجع

# Literature review

**2: استعرا ض المراجع** **Literatures review**

**2-1: نبذة تاريخية** **Historical Aspect**

اكتشفت بكتريا المتقلبات أول مره من قبل الباحث Hauser في عام 1885عزلها من الغائط ومياه المجاري والمواد العضوية المتفسخة واطلق تسمية المتقلبات *Proteus* وذلك لانها تمتلك ظاهرة تعدد الاشكال Pleomorphism منها الشكل الخيطي والمنحني والحبيبي(O'Hara *et al.*, 2000). إذ تتواجد بكتريا المتقلبات على نطاق واسع في البيئة الطبيعية، بما في ذلك المياه الملوثة والتربة والسماد . تتميز بقدرتها على تحلل اليوريا إلى أمونيا وثاني أكسيد الكربون، فضلا عن نزع الأمين بأكسدة الأحماض الأمينية، وتشارك هذه البكتيريا في تحليل المواد العضوية للكائنات الحية وقد عُزلت هذه البكتريا من الانسان والكلاب والأبقار والطيور، والخنازير والفقريات ذوات الدم البارد (Manos and Belas, 2006) . وتعد المتقلبات من النبيت الطبيعية في أمعاء الإنسان, مع بكتريا *Klebsiella* , *Escherichia coli* ( Struble *et al* .,2009 ) .

## 2-2: تصنيف البكتريا Classifacation of Bacteria

تعود بكتريا *Proteus* إلى المجموعة الخامسة على وفق تصنيف العالم Bergy 1994 (Holt *et al.*, 1994) إذ تتضمن البكتريا العصوية السالبة لصبغة كَرام وتحت المجموعة (subgroup 1) العائلة المعوية *Enterobacteriaceae* وإلى قبيلة Tribe تعرف بـ *Proteeae* (Karlowsky *et al.*, 2003) تتضمن *Proteae* ثلاثة اجناس هي : *Proteus* ، *Providencia* ، *Morganella* (Rozalski and Staczek, 2011: Jabur *et al* ., 2013 ) .

بعد ذلك تغيرت مواقع هذه الانواع إذ تمكّن العالم Henriksen عام 1950 التمييز بين جنسي *Proteus* ، و *Providencia* أذ اعتمد على الفحوصات الكيموحيوية ، وعلى قابلية انتاجهما لانزيم Deaminase الذي لاتستطيع ان تنتجة بقية افراد العائلة المعوية ، واوضح ان جنس *Proteus* ينتج انزيمين Lipase، و Gelatinase ولا ينتج حوامض من تخمر سكريات المختلفة مثل : ارابيتول ، ومانوز ، ومانيتول بخلاف جنس *Providence* (Swierzko *et al* ., 2000)

وبالاستناد الى دراسات تهجينDNAوالاختلافات التركيبية في بروتينات معينة والخواص المظهرية تسببت بنقل النوع *Proteus rettgeri* الذي وصف من قبل Rettger عام 1904 الى جنس *Providencia* ليكون النوع *Providence*

*rettgeri* (Penner, 1981)، امـا النـوع *P.inconstans* لـنفس الاسـباب وضـع ضـمن جـنس *Providence* وصـنف الـى نـوعين: *Providence alcalifaciens* و *Providence stuartii* فـي الوقـت الحـالي وضـع النـوع *P.morganii* ضـمن الجـنس *Morganella* ليصـبح *M.morganii* اسـتنادا علـى نسـبة الكـوانين و السايتوسـين (G + C) تشـكل نسـبة كبيـرة 50% فـي هـذا نـوع عنـدما تقـارن بـالأنواع الباقيـة التـي تعـود الـى جـنس *Proteus* التـي تشـكل نسـبة أقـل 39% ( O'hara *et al*., 2000).

فـي الوقـت الحـالي إسـتند علـى التصـنيف الحـديث بـأن جـنس الـ *Proteus* يضـم خمسـة أنـواع *P.mirablis* ,*P. penneri* , *P.vulgaris*, *P.myxofaciens* و *P. hauseri* علـى اسـاس التفـاعلات الكيميائيـة الحيويـة (O'hara *et al*., 2000; Janda *et al*., 2006).

## 3-2:الصفات العامة General characterstics

إن بكتريـا *Proteus* عصـيات قصـيرة سـالبة لصـبغة گـرام تحـت المجهـر ، إذ تتـراوح قطرهـا مـن (١,٠-٠,٣) مـايكرومتر ,وطولهـا (٦,٠-٠,٦) مـايكرومتر غيـر مكونـة للسـبورات و متحركـة (Abbott, 2007) تحتـوي علـى اهـلاب Fimberiae واسـواط Flagellae وغيـر مكونـة للكبسـولة , تنـتج انـزيم اليـوريز وتنـتج كبريتيـد الهيـدروجين $H_2S$ ، سـالبة لفحـص الأوكسـيديز , تكـون سـالبة لفحـص Vogus Proskaur وموجبة لفحص احمر المثيل Methyl red (Holt *et al*., 1994) .

تسـتطيع المتقلبـات أن تكـون حـامض Phenyl pyruvic acid عنـدما تنمـى علـى وسـط حـاوي علـى Phenylalanine حيـث تعتمـد علـى انتـاج انـزيم الـ Phenylalanine deaminase (Greenwood *et al*., 2002)، تكـون موجبـة لفحـص الكـاتليز و كـل أنـواع بكتريـا المتقلبـات تكـون نتيجتهـا سـالبة لفحـص الانـدول ماعـدا *P.vulgaris* لـذلك يعـد فحـص تفريقـي بـين *P.vulgaris* و *P.mirabilis* وذلـك لكثـرة تواجـدهما ،و تكـون لـون مسـتعمرات بكتريـا المتقلبـات علـى وسـط أكـار مـاكونكي أصـفر باهـت وذلـك لعـدم تخميرهـا لسـكر اللاكتـوز و لكنهـا تخمـر كـل مـن سـكر الكلوكـوز

Abbott ,السكروز و الكالاكتوز ( Holt *et al.*, 1994) وتتميز بأنها بكتريا هوائية ( Coker *et al* ,2000; ,2007).

بكتريا *P.mirabilis* تكوّن مايسمى باسم بظاهرة العج Swarming وتستطيع ان تستوطن المجاري البولية (Jiang *et al* 2010)، فعند زراعة هذه البيكتريا في وسط المرق المغذي تتمايز خلاياها الى خلايا خضرية سابحة قصيرة تسمى الخلية المنثالة Swimmer cell ولكن عند زراعتها على وسط صلب تبدأ هذه البكتريا بتمايز الى خلايا منثالة ضعف طول الخلايا السابحة ويحيط بها الاسواط المحيطية اذ تتحرك معا على الوسط وبمعدلات جدا عالية (Carey *et al.*,2013 ) , وتنمو البكتريا أيضاً على وسط اكار الدم أو الأكار المغذي وبشكل نادر إذ يمكن ملاحظة انتشار امواج الانثيال المتوالية مع حلقات نمو كثيفة (Liaw *et al.*, 2000;Greenwood *et al.*, 2002) .

## 4.2: الامراضية Pathogenicity

تعد بكتريا المتقلبات من العوامل المرضية المهمة في الاصابات المكتسبة من عدوى المستشفيات Nosocomiol Infections أذ تكون الاصابة بصورة مفردة او مختلطة مع اجناس بكتيريا اخرى (Filimon and lacob,2007 ) وعلى الرغم من ان هذه الجرثومة جزء من النبيت الطبيعي في القناة المعوية للانسان مع بقية انواع البكترية المعوية لكن تؤدي في بعض الظروف الى اصابة الاشخاص الذين يكونون ضعيفين المناعة (Kearns, 2010). تقاوم بكتريا *P.mirabilis* العديد من المضادات الحياتية كما ان ما يزيد من امراضية بكتريا المتقلبات هو ظهور سلالات مقاومة للعديد من المضادات الحياتية نتيجة الاستعمال المتكرر والعشوائي لهذه المضادات (Elmanama *et al.*,2006).

تمتلك بكتريا المتقلبات عوامل الضراوة متعددة التي تشارك في أمراضيتها ومنها الانزيم الحال للدم Hemolysin ، إنزيم اليوريز urease، الأهداب Fimbria و الاسواط Flagella(Himpsl *et al.*,2008: Baldo and Rocha., 2014).كما وتعد ظاهرة الانثيال Swarming من أهم عوامل الضراوة حيث بأستطاعة البكتريا غزو اجزاء مختلفة من موقع الاصابة عن طريق حركة الانثيال مما يزيد من امراضية

بكتريا المتقلبات (Liaw *et al*., 2001). تعمل ظاهرة الانثيال على توسيع مساحة الاستعمار لبكتريا المتقلبات ممايزيد من امراضيتها (Jacobsen *et al*.,2008).

تقوم بكتريا المتقلبات بأنتاج انزيم اليوريز الذي يكون ذات فعالية عالية اكثر فعالية من أنزيم اليوريز المنتج من قبل الاجناس البكترية الاخرى يعمل على تكوين الغشاء الحيوي البلوري الذي يكون اكثر انواع الاغشية تعقيد أذ يعمل على أغلاق القثاطر البولية للمرضى وكذلك يحمي البكتريا من المضادات الحياتية (Jones *et al*.,2005 ; Sosa; Schlapp; and Zunino, P. 2006; Stickler, 2008; Nielubowicz and Mobley, 2010 ).

يعد النوع *P.mirabilis* الثاني بعد بكتريا *E.coli* في احداث التهاب القناة البولية وتكثر الاصابة بها في المرضى الراقدين في المستشفيات ويضاً المستخدمين للقثاطر البولية لفترات طويلة (Nielubowicz and Mobley, 2010) . ويعد النوع *P.mirabils* اكثر انواع جنس المتقلبات تواجد في القناة البولية والاكثر تكرار في احداث التهابات المسالك البولية (Jacobsen , 2008)

وتسبب بكتريا *P.mirabilis* التهابات الاذن الوسطى المزمن إذ تحتل المتقلبات المرتبة الاولى( في التهاب الاذن الوسطى كما أشار لها الباحثان( Piet and Erice) 2002., وبنسبة 74 % من مجموع الاصابات البكترية . وقد يتطور التهاب الاذن الوسطى المزمن الذي يسببه النوع *P.mirabilis* الى التهاب السحايا meningitis تصاحبه خراجات في الدماغ وحدوث خثر دموية في الجيوب الدموية الموجودة في الأذن نتيجة للإصابة المتصالبة cross infection ما بين *Clostridium spp* و *P.mirabilis* ( Bodur *etal*.,2002 ).

تسبب المتقلبات الالتهاب الرئوي كما يمكن أن تسبب التهابات دموية المنشأ وانتان دموي Sepsis وتجرثم الدم Bacterimia عندما تصل الى مجرى الدم ويصاحب ذلك ارتفاع في درجة الحرارة وتتسبب في نقص خلايا الدم البيض العدلة (Janda *et al* ., 2006 ; Okimoto *et al* .,2010 ; Bloch *et al*., 2010) , فهي قادرة على العبور خلال الشعيرات الدموية أذ تسبب العدوى لانحاء الجسم جميعها ( Morgenstein , 2011 ).

وتسبب افراد هذا الجنس وخاصة *P.mirabilis* الآفات البؤرية focal lesions في الأشخاص المثبطين مناعياً والأشخاص الذين يتعاطون السوائل عن طريق الوريد Intravenous infusions مثل الأملاح المغذية والدم ومشتقاته وقد تسبب للمرضى التهاب الرئة (Jawetz *et al.*,1984) . توصف بكتريا *P.mirbilis* كمسبب لالتهابات المفاصل الرثويه Rheumatoide Arthriti (RA) (Rashid *et al.*, 2001). كما تسبب *P.mirabilis* تلف الاغذية وتعفنها لذلك تسبب تسممات والتهابات للمعدة والامعاء gastroenteritis (Madigan *etal.*,2003) .

## 5.2: مقاومة البكتريا للمضادات الحياتيه

## Resistanceof bacteria to antibiotics

المضادات الحياتية مركبات عضوية تنَتج من قبل الاحياء المجهرية وبصورة طبيعية اوقد تكون صناعية وتستطيع المضادات وبتراكيز قليلة قتل الاحياء المجهرية او تثبيطها (Bradford, 2001) ويتركز عمل المضاد في جانبين ،الأول اعاقة التكامل البنائي، أذ يمنع تكوين كل من الجدار الخلوي والغشاء البلازمي , والاخر يعيق الايض الوظيفي مثل اعاقة تكوين البروتين، والاحماض النووية، وحامض الفوليك ( Malion and Manuselis., 1995).

من اسباب مقاومة البكتريا للمضادات الحياتية امتلاكها آليات مختلفة لمقاومة المضادات مثل تغيير حاجز نفاذية وتغيير موقع الهدف او انتاجها الانزيمات المحللة للمضادات مثل انزيمات البيتالاكتاميز التي تحطم حلقة البيتالاكتم وتحويلها الى جزيئات غيرفعالة وازداد هذا النوع من المقاومة في الاونة الاخيرة بشكل سريع وملحوظ (Singh *et al.*, 2010). إذ تعد المقاومة التي تتوسطها البلازميد , والجينات القافزة (Transposons) من اكثر انواع المقاومة أهمية أذ تمتلك القدرة على الانتقال من خلية الى خلية بكتيريه اخرى وتؤدي الى انتشار المقاومة للمضادات الحياتية للعديد من البكتريا (Webster, 2002 ).

### 1.5.2.: مضادات البيتالاكتم ß-Lactam Antibiotics

يطلق مصطلح البيتالاكتم على المضادات الحياتية التي تحتوي في تركيبها على حلقة البيتالاكتم (Wilke *et al*.,2005) وتُعد هذه المجموعة من المضادات الاكثر استخداما منذ اكتشافها ويرجع ذلك الى فعاليتها العالية نسبيا أذ تمثل ٦٠% من جميع المضادات الحياتية المستخدمة والنموذجية لعلاج الاصابات الناجمة عن البكتريا السالبة لصبغة كَرام(Livermore and Woodford ,2007) وتضم هذه المجموعة البنسلينات Penicillins ,السيفلوسبورينات Cephalosporins ,كاربنيمCarbapenims, المونوبكتم Monobactam (CLSI,2012).

تختلف هذه الاصناف بطبيعة حلقة الاضافية التي تتصل بحلقة البيتالاكتم , أذ تضاف في صنف البنسلينات حلقة 5-Thiozolidin,اما في السيفالوسبورينات تضاف حلقة 6-Cephem , اما صنف الكاربنيم فيحتوي في تركيبة على حلقة مزدوجة التركيب , وهذه حلقة تكون غير متواجدة في صنف المونوبكتم حيث تقتصر فقط على حلقة البيتالاكتام ,توجد اختلافات بين المضادات للصنف نفسه إذ يكون سببه اختلافها هو في نوع السلسلة الجانبية التي تتصل بحلقة البيتالاكتام (Levinson,2010;Babic *et al*.,2006).

ولاتصل مضادات البيتالاكتم الى موقع هدفها بسهولة في البكتريا السالبة لصبغة كَرام وتحتاج بذلك الى قدرة على الانتشار خلال القنوات البروتينية المتواجدة في الغشاء الخارجي لذلك فهذه المضادات تكون اقل تأثيراً في بكتريا سالبة لصبغة كَرام منها في البكتريا الموجبة (Goering and Mims 2008) . حيث آلية عمل مجموعة المضادات الـ *β*-lactame هو عرقلة عملية تصنيع الجدار الخلوي حيث تعمل على منع تكون الجسور الببتيدية التي تربط وحدات الاحماض الامينية في طبقة الببتيدوكلايكان الواقعة ضمن جدار الخلية البكتيرية (Haldorsen and Samuelsen,2012; Goering and Mims 2008) .

### 1.1.5.2: البنسلينات Penicillins

تنفرد هذه المجموعة عن المضادات بأنها من المضادات المحدودة الطيف وذات طيف فعالية ضيق Narrow-spectrum حيث تكون البنسلينات ذات فعالية عالية

ضد البكتريا الموجبة لصبغة كًرام وبعض البكتريا السالبة لصبغة كًرام, وتشمل كل من بنسلينG Penicillis (Benzyl Penicillis) وهو أول البنسلينات الذي دخل الاستخدام الطبي وبنسلين V Penicillis ( Phenyl methyl Penicillis) وهذين المضادين من المضادات الطبيعية التي تكون ذات طيف محدد (Livermore and Wood,2006).

وتشترك كل مضاد في صنف البنسلينات بالتركيب نفسه الأساس وهو حامض البنسيلانك الاميني ( 6-aminopenicillanic acid) الذي يتكون من حلقتين الاولى والرئيسة تتكون من خمس ذرات، وتدعى بحلقة الثايزولدين (Thiazolidin ring)، ترتبط هذه الحلقة مع حلقة البيتالاكتام غير ثابتة والمتكونة من اربع ذرات ، وتعتمد صفات البنسلين على السلسلة الجانية لذرة الكاربون6 التابعة لحلقة البيتالاكتم (Samaha-Kfoury and Araj, 2003 ) كما في الشكل (2-1).

## 2.1.5.2: السيفالوسبورينات Cephalosporins

عُزلت السيفالوسبورينات لاول مرة سنة 1948 من مزارع الفطر *Cephalosporium acremonium* (Forbes *et al* ., 2007). تشتق مضادات صنف السيفالوسبورينات جميعها من اصل واحد هو السيفالوسبورين C ( Fuda *et al.*, 2006 ) أذ تتألف مضادات هذا الصنف من حلقة البيتالاكتام المتصلة مع حلقة Dihydrothiazin مكونة نواة7-amino cephalosporanic acid مع تواجد سلسلتين جانبيتين متغيرتين R1,R2 تعود الى نوع المشتق (Brook *et al.*, 2007) كما في الشكل (2-2).

تُصنف السيفالوسبورينات إلى أربعة أجيال، إستناداً إلى فعاليتها المضادة للنمو البكتيري وهي:-

**الجيل الأول** : ويتضمن السيفالوسبورينات ذات الطيف الضيق، مثل السيفالوثين Cephalothin، والسيفازولين Cephaloridin, والسيفالوكسين Cephalexin وهذه المركبات تمتلك نشاطاً بسيطاً ضد البكتريا السالبة لصبغة كًرام، (Moya *et al.*, 2010).

**الجيـل الثـاني** : وهـذه المركبـات مسُـتقرة نوعـا مـا بالاعتمـاد علـى تواجـد انزيمـات البيتالاكتـاميز ممـا يزيـد مـن نشـاطها ضـد البكتريـا السـالبة لصـبغة كَـرام ومنهـا مضـاد السـيفاروكزيم Cefuroxim, السيفوكسـتين Cefoxitin , والسـيفوتيتان Cefotetan (Samaha-Kfouy and Araji,2003).

**الجيـل الثالـث** : تكـون هـذه المضـادات اكثـر نشـاطاً مـن المضـادات ذات الطيـف الضـيق وتكـون اكثـر اسـتقراراً بتواجـد إنزيمـات البيتالاكتـاميز وتمتلـك القـدرة علـى عبورالجـدار خـارجي للبكتريـا السـالبة لصـبغة كَـرام ومنهـا مضـاد اليفوتاكسـيم Cefotaxime و السفيكسـيم Cefixime , السيفترياكسـون Ceftriaxon والسـيفتازيدم Ceftazidime (Moya *et al.*, 2010; Greer .,2006) . ان مضـادات السيفالوسـبورينات وبالخصـوص الجيـل الثالـث هـي اكثـر الاجيـال فعاليـة ضـد بكتريـا المتقلبـات وخاصـة *P.mirablis* التي تصيب القناة البولية (Okesola and Makanjuola., 2009)

**الجيـل الرابـع** : تظهـر هـذه المضـادات زيـادة كبيـرة فـي الاسـتقرارية مثـل السـيفيم Cepheme لـيس فقـط للانزيمـات البيتالاكتـاميز التـي تتوسـطها الكروموسـومات ولكـن حتى الانزيمات التي تكون مورثاتها تحمل على البلازميدات ( Kalai *et al.*,2005) .

### 3.1.5.2: مضادات الكاربابينيم Carbapenemes

ان لمضـادات الـ Carbapenem لهـا تركيـب يشـابه لتركيـب البنسـلينات ولكـن الاخـتلاف فـي ذرة الكبريـت فـي البنسـلينات التـي اسـتبدلت بـذرة كربـون فـي صـنف الكـاربنيم , إذ يتميـز هـذا الصـنف مـن المضـادات بكونـه يمتلـك طيفـاً واسـعاً مـن الفعاليـة ضـد البكتريـا السـالبة والموجبـة لصـبغة كَـرام وأيضـاً البكتريـا اللاهوائية.لـذلك يعـد هـذا الصـنف مـن اكفـأ المضـادات لعـلاج الاخمـاج البكتيريـة ومنهـا المضـاد الامبنـيم Imipenem والميـروبنيم Meropenem والاتـرابنيم Ertapenem ، ويُعـدّ مضـاد الأميبينـيم Impenem هـو أول مضـاد فـي هـذا الصـنف يمتلـك الفعاليـة العاليـة ضـد مجـاميع البكتريـا لانـة مركـب جـدا مسـتقر ولايتـأثر بانزيمـات البيتالاكتـاميز التـي تنتجهـا البكتريـا (Queenan and Bush,2007 ;Jacoby and Bush,2009 ) .

### 4.1.5.2:مضادات المونوباكتام Monobactam antibiotics

تتميز مضادات المونوباكتام بامتلاكها حلقة البيتالاكتام المفردة وغير مرتبطة بحلقة ثانية (Marin and Gudiol, 2003) ، ولذا فهي تفتقر للشكل ثنائي الحلقات المتواجد في مضادات البيتالاكتام الاعتيادية (Forssten, 2009)، مضادات المونوباكتام تكون فعاله ضد بكتريا السالبة لصبغة كَرام وغير فعالة ضد البكتريا الموجبة لصبغة كَرام والبكتريا اللاهوائية، كما ويعدّ الازترونيم Aztreonam هو اول مضاد أستخدم في هذا الصنف من المضادات (Samaha-Kfoury and Araj, 2003 ) .

## 6.2: الية المقاومة لمضادات البيتالاكتام

## β-lactamases Resistance Mechanesim

مضادات البيتالاكتام من المضادات القاتلة للبكتريا Bactericidal antibiotics إذ تعمل على تثبيط بناء الجدار الخلوي الذي يحتوي على طبقة الببتيدوكلايكان Peptidoglycan layer ولذا فأن هذه المضادات ذات سمية انتقائية عالية Selective toxicity، حيث تكون تاثيراتها على خلايا الانسان معدومة مقارنة بأصناف المضادات الاخرى، لعدم تواجد طبقة الببتيدوكلايكان في خلايا الانسان (Brooks *et al.*, 2007) أذ تتكون هذه الطبقة من السكريات الامينية Amino sugars تكون على نوعين N-acetylglucoseamine و N-acetylmuramic acid، حيث ترتبط هذه السكريات الامينية بسلاسل ببتيدية قصيرة عادةً ما تتكون من اربع احماض امينية ، ويتم بعد ذلك بناء الجسور الببتيدية المستعرضة ( Brooks *et al.*,2007 ;Fisher.,2005) . ان الخطوة الاساسية لعمل مضادات البيتالاكتام الاتصال بالمستقبلات الخلوية التي يطلق عليها اسم البروتينات الرابطة للبنسلين ( PBPs Penicillin binding proteins وبسب التشابه التركيبي للمضادات وبين جزء D-alanyl-D-alanine من طبقة الببتيدوكلايكان (Brooks *et al.*, 2007).

## 1.6.2: التحلل المائي للمضادات الحيوية بوساطة انزيمات البيتالاكتاميز

## Antibiotic hydrolysis by β-lactamases

تمتلك الكثير من المضادات الحياتية اواصر حساسة لها القابلية على التحلل المائي، مثل اواصر الاستر و الامايد، اذ تنتج هذه الانزيمات من قبل العديد من البكتريا التي تعمل على شطر الاواصر و تعطيل عمل المضاد قبل الوصول الى هدفه ومنها إنزيمات البيتالاكتاميز، إن ميكانيكية عمل انزيمات البيتالاكتاميز تكمن في تكسير الاواصر الامايدية لحلقة البيتالاكتم في ظروف التحلل المائي وتنتج حامض البنسلويك ، ويوجد نوع اخر من هذه الانزيمات تدعى بِـ السيفالوسبورينيز Cephalosporinases حيث تنتج حامض السفالوسبوريك لصنف السيفالوسبورينات والتي تحمل صفاتها على الكروموسوم البكتيري . كما وتنَتج هذه الانزيمات من قبل البكتريا السالبة والموجبة لصبغة كَرام (Picao *et al* ., 2009 ;Drawz and Bonomo., 2010).

## 2.6.2: تقليل الفة المضاد الحيوي لاستهداف البروتينات الرابطة للبنسلين:

## Decreased affinity of target pencillin binding proteins

يعد الجدار الخلوي للبكتريا هدافا انتقائياً ممتازاً لمضادات البيتالاكتام، ولكن عند حدوث الطفرات في البروتينات الرابطة للبنسلين (PBPs) يمكن ان ينتج عنه تقليل الالفة تجاه المضاد , كما ان آلية المقاومة هذه تكون مرتفعه في اعداد مهمة سريريا من البكتريا السالبة والموجبة (Livermore, 2002 ) اذ أمكنت هذه الالية البكتريا من تطوير المقاومة لانواع كثيرة من مضادات الحياة. حيث عند حدوث طفرات جينية مفردة تؤدي الى تغير موقع الهدف بصورة تامة،ومن ثم تنقص الفة المضاد لهذا الموقع (Walsh, 2000).

## 3.6.2: التغير في حاجز النفاذية Alteration in permeability barrier

يحيط بالبكتريا السالبة لصبغة كَرام غشاء خارجي Outer membrane يعمل منع الكثيرمن المركبات السامة المتواجدة في المحيط الخارجي واعاقتها من الدخول الى الخلية ,كما ان الغشاء الخارجي يحتوي على الثغور البروتينية التي تعرف بالـPorins والتي تكون مسؤولة عن تبادل المود مع المحيط الخارجي ، أذ تكون هذه الثغور على شكل قنوات مملوءة بالماء، عندما تختزل هذه الثقوب في الغشاء الخارجي في بعض أنواع البكتريا المعوية يؤدي الى انخفاض تدفق المضادات الحياتية عبر هذه

الأغشية وبذلك تؤدي الى مقاومة لبعض لتلك المضادات (Denengelsen *et al* 2009).. تدخل معظم المضادات مثل مضادات البيتالاكتام والفلوركوينولونات Fluroquinolones عبر الغشاء الخارجي من خلال البورينات (Nikaido, 2003) .اذ ان من احد آليات المقاومة لمضادات البيتالاكتام في البكتريا السالبة لصبغة كَرام تغير بروتينات البورينات في الغشاء الخارجي مسببة في تقليل النفاذية المضادات خلالها (Ferguson, 2007).

## 4.6.2: انظمة الدفق Efflux pump system

يستهدف هذا النوع من المقاومة طريق الوصول الى الموقع الهدف للمضاد Target site وذلك من خلال طرحها للمضاد خارج الخلية ( Mims *et al.*, 2004)، اذ تكمن ميكانيكية عمل هذه الانظمة من خلال قذف المضاد خارج الخلية البكتيرية حيث تحتجزه البكتريا في اغشية بروتينية خاصة يساعدها في ذلك الغشاء الداخلي وفسح الفراغ المحيطي (Lambert *et al.*, 2001) , إذ وجد هنالك نظام دفق فعال يعمل على تخفيض تراكم المضادات الحياتية داخل الخلية البكتيرية ويسمح لانزيمات ذات قابلية تحليلية تعمل على تثبيط المضاد قبل الوصول الى هدفهِ (Tenover, 2006).

## 5.6.2: انزيمات البيتالاكتاميز β-lactamase enzymes

البيتالاكتاميز عبارة عن انزيمات تعمل على تقليل فعالية مضادات البيتالاكتام وتعدّ هذه الوسيلة من اكثر وسائل المقاومة شيوعاً لمضادات البيتالاكتام اذ تتواجد هذه الانزيمات في البكتريا السالبة و الموجبة لصبغة كَرام .إذ تعمل هذه الانزيمات على شطر آصرة الامايد لحلقة البيتالاكتم وتجعل المضاد غير فعال قبل وصولة الى موقع الهدف (Babic *et al* .,2006 ). ويشفر لهذه الانزيمات عن طريق الكروموسومات والبلازميدات ويختلف موقعها باختلاف البكتريا حيث تكون معظمها خارج خلوية في بكتريا موجبة لصبغة غرام بينما تتواجد في periplasmic في بكتريا السالبة لصبغة غرام ويوجد حوالي 1890 انزيم مشخص من انزيمات البيتالاكتاميز (Bush,2010).

وتنتشر آليات المقاومة في البكتريا ، ومن اهم هذة آلاليات المنتشرة انتاج انزيمات البيتالاكتاميز β-lactamases، إذ تم اكتشافها في البكتريا السالبة لصبغة گرام , اذ وجد ان المورثات المسؤولة عن توارث هذه الانزيمات تكون محمولة اما على الكروموسومات او البلازميدات او العوامل القافزة (Jacoby and Bush, 2009). لذلك البكتريا التي تحمل هذه الانزيمات تتميز بامتلاكها مقاومة عالية وحساسية قليلة تجاه مضادات الحياتية التي تستخدم في العلاج الطبي، مما أدى الى تشكيل خطر على صحة الإنسان (Livermore,2012).

### 1.5.6.2: الية عمل انزيمات البيتالاكتاميز

### Mechanism of β-lactamase action

انزيمات البيتالاكتاميزتعمل على تحفيز التحلل المائي لحلقة البيتالاكتام ، إذ تقوم انزيمات البيتالاكتاميز بشطر حلقة البيتالاكتام الموجودة في البنسلينات والسيفالوسبورينات الحساسة لها وذلك من خلال تكسير الأواصر الآميدية في ظروف التحلل المائي تنتج بذلك حامض البنسلويك Pencillioc-acid او حامض الـCephalosporic acid غير الفعالة تجاه البنسلينات والسيفالوسبورينات ونتيجة لذلك تنشا مقاومة للمضادات (Drawz and Bonomo., 2010). تنتج انزيمات البيتالاكتاميز محفزةً عندما تتعرض مضادات البيتالاكتام فقط وبمجرد التوقف عن اعطاء مضادات البيتالاكتام يتوقف انتاج الانزيمات المحفزة ، اما الانزيمات الذاتية المقاومة فهي انزيمات موروثة ويتم انتقالها عبر السلالات وتنتج في حال وجود المحفز أوعدم وجوده (Koneman *et al*., 1992).

### 2.5.6.2: تصنيف إنزيمات البيتالاكتاميز

### Classification of β-lactamases

وضع أول تصنيف لانزيمات البيتالاكتاميز من قبل العالم فلمنك وجماعته 1963إذ صنف فيها الانزيمات الى مجموعة البنسلينيز التي تحلل مركبات البنسلينات، والسيفالوسبورينز التي تحلل مركبات السيفالوسبورين وبعد ذلك جاءت تصانيف اخرى منها تصنيف امبلر الجزيئية عام 1982 (Ambler molecular

(classification shceme) الـذي يعتمـد فـي تصـنيفه علـى التركيـب الجزيئـي للانزيمـات معتمـدا علــى التشــابه فــي تتــابع الاحمــاض الامينيــة وهــي انزيمــات الســيرين-Serine β lactamases، والصــــنف B الـــــذي يمثـــــل الانزيمـــــات المعدنيـــــة -Metallo-β lactamases التــي تمتلــك بقايــا الحــامض الامينــي الســيرين فــي الموقــع الفعــال للانــزيم وتعتمد على ايون الزنك $Zn^{+2}$ (Jacoby and Bush, 2009).

امــا التصــنيف الــوظيفي (Bush-Jacoby-Medeiros scheme) والــذي يعــد اكثــر شــمولية ومعتمــدا فــي تصــنيفه علــى الخصــائص الوظيفيــة والكيموحيويــة للانزيمــات مثــل علـى نـوع المـادة الاسـاس التـي يـؤثر عليهـا الانـزيم وترتيبهـا ، ومثبطـات الانـزيم او شـحنتة النهائيـة او نسـبة التحلـل المـائي وغيرهـا وتشـمل اربـع مجـاميع رئيسـيةً Group 1,2,3,4 وتعـد المجموعـة الثانيـة اكبـر المجـاميع لانهـا تضـم مجـاميع فرعيـة بالاضـافة الـى مجـاميع الرئيســية 2a, 2d ,2be ,2br ,2c ,2d , 2e ,2f (Paterson and Bonomo,2005 ;Jacoby and Bush, 2010).

**7.2: انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف**

## Extended spectrum β-lactamase

انزيمــات البيتـالاكتــاميز مــن اكثــر اليــات المقاومــة شــيوعا وانتشــارا التــي تعطــل نشــاط مضـــادات البيتالاكتـــام ,تـــزداد هـــذه الانزيمـــات بزيـــادة اســـتعمال مضـــادات البيتـــالاكتم خصوصــا الجيــل الثالــث مــن السفالوســبورينات التــي اصــبح ارتباطهــا واضــحاً بظهــور. انزيمـــات البيتـالاكتـــاميز وكـــذلك مضــــادات المونـــوبكتم , أن هـــذه الانزيمـــات تتســـبب فـــي مقاومـــة البكتريـــا لمضـــادات واســـعة الطيـــف extended spectrum (CLSI ,2012). ولكنهـــا غيـــر مقاومـــة لكـــل مـــن سيفامايســـين Cephamicin والكـــاربنيم Carbapenems , (Bush and Fisher ,2011; Mirsalehian *et al* .,2010) تنـتج هـذه الانزيمـات عـن طريـق البكتريـا السـالبة لصـبغة غـرام واغلبهـا مـن بكتريـا القـالون *K.pneumoniae & E.coli* (Lal *et al* .,2007). ان معظـم انزيمــات البيتــالاكتم

تعود الى الصنف A الذي يتألف من ثلاث مجاميع رئيسة من الانزيمات (***blaOXA*** , ***blaTEM, blaSHV*** ولكن الانواع الرئيسة ***blaCTX-M, blaSHV ,blaTEM***) وهذه الانزيمات على الاغلب تتواجد في *E.coli* و*K.pneumoniae* (Sharma *et al*.,2010) وانزيمات البيتالاكتاميز الجديدة تتواجد بشكل شائع في العائلة المعوية العصوية وخاصة الانزيمين (***bla$_{TEM-1}$,bla$_{SHV-1}$***) التي وحدها تكون ثابتة عند التحلل المائي (Shoba *et al* ., 2007) . وقد وصفت مجموعة متنوعة من الجينات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف ومنها ***bla*CTX-M, *bla*GES, *bla*OXA, *bla*OXY, *bla*SHV, *bla*SPM, *bla*VEB, *bla*VIM, ampC** ومن الجينات الاكثر شيوعاً جين *bla*TEM-1 الذي وصف بأنه أول أنزيم البيتالاكتاميز.يوجد 150انزيم للبيتالاكتاميز واسعة الطيف وكانت معظمها من مشتقات انزيمي الـTEM وSHV، حيث وجد مايزيد عن 90 نوعا تعود للنوع ***blaTEM*** ووجد مايزيد عن 25 نوعاً ***blaSHV*** (Tasli and Bahar, 2005 :Lachmayr *et al*., 2009) . كما و تعد إنزيمات البيتا-لاكتاميز المعدنية العائدة الى نوع B في تصنيف Alamber(Metalo-β-lactamases) من الأنواع المهمة إذ لها القدرة على تحطيم المضادات الواسعة الطيف على رغم من قلة أنواعها مقارنة مع الإنزيمات البيتالاكتاميز الأخرى، كما وتتميز بقابليتها على تحليل معظم مضادات البيتا-لاكتام .(Vella *et al*., 2011)

### 1.7.2: إنزيمات *TEM*

يمثل البيتالاكتاميزنوع ***blaTEM*** احد الانزيمات المهمة سريريا في عائلة البيتالاكتاميز , أذ إنّ ***bla$_{TEM-1}$*** هو أول انزيم اكتشف من انزيمات البيتالاكتاميز محمولا على البلازميد, ويُعدّ واسع الطيف ومحلاً مائياً مبكراً للسيفالوسبورينات بالاضافه الى انواع من البنسلينات في البكتريا السالبة لصبغة كَرام . إذ كان أول اكتشاف لهذا الانزيم الذي حُصل عليه في بداية الستينات في عزلة مفردة لبكتريا الـ*E.coli* من مريضة يونانية اسمها Temonera ومن هنا جاءت تسمية هذا الانزيم (Turner, 2005) ، انتشرت مشتقات ***bla$_{TEM}$*** بين افراد البكتريا السالبة لصبغة كَرام ,كما ووصف الانزيم***bla$_{TEM-2}$*** كأول مشتق من مشتقات الانزيم ***bla$_{TEM-1}$*** أذ حدث تطور بوساطة الطفرات النقطية لانزيم ***bla$_{TEM-1}$*** من خلال استبدال lysine الى glutamine في الموقع رقم 39 (Al-Agam *et al* ., 2009). اما ***bla$_{TEM-3}$***

فقد سجل لاول مرة عام 1989 كأول انزيم يُظهر نمط الانزيمات واسعة الطيف EBSLs حيث يمتلك زياده في ركيزة الطيف يتضمن الجيل الثالث للسفالوسبورينات ولكنه يتأثر بشكل سريع بالمثبطات البيتالاكتاميز مثل clavunlanc acid. ويمتلك فعاليه كبيرة إتجاه السيفالوسبورينات واسعة الطيف (Bradford, 2001) .

وصف مايزيد عن 90 انزيم من مشتقات الـ $bla_{TEM}$ اغلبها EBSLs (Rasheed *et al.*, 2002; Barlow and Hall, 2002) , يوجد اكثر من 165 مغاير لجين الـ$bla_{\mathrm{TEM}}$ وهي مقاومة للمثبطات انزيمات البيتالاكتاميز مثل Clavulanic acid (Jacoby and Bush, 2009)، إذ تضمنت بكتريا *P. mirabilis* بعض مشتقات التي تعود **لأنزيم** $bla_{TEM}$ **وهي** $bla_{TEM-3}$ , $bla_{TEM-8}$ , $bla_{TEM-10}$ , $bla_{TEM}$ -15 , $bla_{TEM-20}$ , $bla_{TEM-21}$ , $bla_{TEM-24}$ , $bla_{TEM-26}$ , $bla_{TEM-50}$ $bla_{TEM-52}$ , $bla_{TEM-66}$ , $bla_{TEM-72}$ , $bla_{TEM-92}$ , $bla_{TEM-85}$ ) (De Champs *et al*., 2001 ) . وإنَ توارث الجينات المسؤولة عن $bla_{TEM}$ بيتالاكتاميز يكون اما عن طريق الكروموسوم أو البلازميد (Sharma *et al*., 2010.) , وان الجينات التي تشفر لهذه الانزيمات عانت من طفرات مستمرة مما أدى ذلك الى ظهور انزيمات جديدة (Bush and Fisher ,2011 ;Mollenkopf ,2012) .

## 2.7.2:انزيمات *SHV*

يعدّ انزيم الـSHV-1 variable sulfhydryl الذي اكتُشف عام 1972 مسؤول عن ٢٠% من مقاومة البكتريا للامبسلين و يشفر لهذا الانزيم من قبل جينات تحمل على البلازميد في بكتريا *K. Pneumonia* ،(Bush,2008). وان أول مشتق من مشتقات الانزيم SHV الانزيم SHV-2 بوساطة الطفرات النقطية للـ $bla_{SHV-1}$ (Al-Agam *et al* ., 2009) . وتتشابه انزيمات **الـ** $bla_{TEM}$ **والـ** $bla_{SHV}$ من حيث التركيب إذ يشترك انزيم $bla_{SHV-1}$ بحوالي 68%من احماضه الامينية مع انزيم $bla_{TEM-1}$, كما و تعاني انزيمات البيتالاكتاميز في هذه العائلة من تبدل حامض اميني حول الموقع الفعال في الموقع 238 أو 238 و240 ( Turner 2005). وفي الاونة الاخيرة بين كل من (Bush and Jacoby, 2009 ). بوجود تقريبا 120 مغايرللـ$_{1}$ $bla_{SHV}$عالمياً , ومن اكثرها شيوعا $bla_{SHV-5}$, $bla_{SHV-2}$ ) Paterson *et al*.,

2003), ويعـدّ ***bla$_{SHV-5}$*** مسـؤولاً عـن كثيـر مـن الاصـابات المكتسـبة مـن عـدوى المستشفيات nosocomial في كثير من البلدان (Jmima and Verghes, 2008).

## 3.7.2: انزيمات الـ*CTX-M*

انـزيم الـ CTX-M أكثر حداثة فـي عائلة انزيمـات البيتـا لاكتـاميز إذ أصبح مألوفـا و بصـورة كبيـرة (Hawkey, 2008), أذ تعـود تسـمية هـذا الانـزيم الـى انزيمـات **C**efo**t**a**x**i**m**ases التـي تسـبب مقاومـة الـCefotaxime لـذلك اشـتق اسـم هـذه المجموعـة مـن مقاومتهـا لمضـاد Cefotaxime اكثـرمن بقيـة مضـادات البيتالاكتـام مثـل Ceftazidime، Ceftriaxone وCefepime (Lewis *et al* ., 2007), ويعـد ***blaCTX-M*** الاكثـر شـيوعاً بـين انزيمـات البيتالاكتـاميز فـي جميـع انحـاء العـالم (Hawkey,2008;Hartmann *et al* .,2012;Fayros., 2012).

شـكل انـزيم***blaCTX-M*** مجموعـة حديثـة مـن انـواع الانزيمـات إذ تمتلـك هـذه المجموعـة مقاومـة عاليـة تجـاه مضـادات البيتالاكتـام وانـه قـادر علـى احـداث التحلـل المـائي للسيفالوسـبورينات يكـون ذات مقاومـة عاليـة اتجـاه مضـاد Cefotaxime علـى عكـس مضـاد Ceftazidime الـذي يظهـر فعاليـة واطئـة لـه (Fam and El-Damarawy, 2008; Bush,2010) , ولكنـه كثيـر الحساسـية للمثبطـات البيتالاكتـاميز أذ يثـبط بفعـل المثبطـات مثـل Clavulanic، Sulbactam وTazobactam، وكـذلك سيفامايسـين (Mollenkopf *et al* ., 2012). وإن حـدوث الطفـرات النقطيـة فـي تسلسـلات حـوامض الامينيـة لانـزيم الـ***blaCTX-M -1*** يـؤدي الـى المقاومـة الحاصـلة لمضـاد السـيفاتوزايدم (Pitout,2010) . يوجـد حـوالي اكثـر مـن 100 نـوع مختلـف***blaCTX-M*** تقسم الـى 6 مجـاميع مختلفـة تعتـد علـى تسلسـل الاحمـاض الامينيـة (Rossolin *et al* ., 2008)***وهـي blaCTX-M-1*** ، ***blaCTX-M-2 blaCTX-M-8*** ، ***blaCTX-M-9*** و ***blaCTX-M-25*** (Worether *et al* ., 2010.; Smet *et al* ., 2010)كمـا لا يوجـد أي اتصـال وثيـق بـين ***blaCTX-M*** و ***blaTEM*** أو ***blaSHV*** لكنـه يكـون مشـابهاً لأنزيمـات البيتالاكتـاميز الكروموسـومية فـي بكتريا *Klebsiella oxytoca* (Prescott,2008) .

## 4.7.2: انزيمات الـــ *OXA*

صـنفت هـذه الانزيمـات عـن طريـق Ambler ووضـعها فـي الصـنف الجزيئـي D امـا فـي التصـيف الـوظيفي فـي المجموعـة 2d , اكتشـفت هـذه الانزيمـات لاول مـرة فـي فرنسـا وتركيـا فـــي عـــزلات الزوائـــف الزنجاريـــة *Ps.aeruginosa* وتبـــين ان هـــذة الانزيمـــات تقـاوم مضـــادات البيتـــالاكتم (Sridhar , 2012) , إذ تتميـز هـذه الانزيمـات بالفعاليـة التحليلـة كبيـرة التـي هـي اكبـر مـن فعاليـة البنسـلين مثـل بنسـلين G بـأربع مـرات ويكـون شـديد الفعاليـة ضـد كـل مـن oxacillin , cloxacillin , isoxazolylpenicillins, (Paterson and Bonomo , 2005). انزيمـات البيتالاكتـاميز نـوع ***blaOXA*** تقـاوم السيفالوســـبورينات ومنهـــا مضـــاد الســـيفاتازيديم والنـــوع ***blaOXA-10*** الـــذي يمـــنح المقاومة للسيفاتاتوكزيم (Fatama *et al* ., 2012 ).

## 8.2: مثبطات البيتالاكتاميز β-lactamase inhibitors

تعـد مثبطـــات البيتالاكتـــاميز مركبـــات تســـتخدم لتثـــبط فعاليـــة انزيمـــات البيتالاكتـــاميز أو تحطيمهـا إذ تكـون فعالـة جـدا ضـد انزيمـات البيتالاكتـاميز صـنف A بحسـب تصـنيف امبلـر Ambler، وخصوصـــاً انزيمـــات الـــ $\boldsymbol{bla_{TEM}}$، والـــ $\boldsymbol{bla_{SHV}}$ ، وتكـــون هـــذه المثبطـــات قليلـة الفعاليـة ضـد البروتينـات الرابطـة للبنسـلين , بينمـا تـزداد فعاليـة هـذه المثبطـات عنـدما تتحـد مــع مضـــادات البيتالاكتـام (Miro *et al*., 2004 : Livermore,2012 ).إذ يكـون تأثيرهـا عنـة طريـق تفاعلاتهـا مـع انزيمـات البيتالاكتـاميز تكـون بـذلك معقـد يسـمى آسـيل – انـزيم بتفـاعلات عكسـية وبـذلك يـؤدي الـى فقـدان فعاليـة الانـزيم ). وتصـنف هـذه المثبطـــات الـــى مجمـــوعتين الاولـــى تشـــمل Clavulanic acid ، والمجموعـــة الثانيـــة تشـمل حـامض Penicillanic acid sulfonase (Moya *et al*., 2010). اذ يـؤثر حـــامض كلافوينـــك وبالتـــآزر مـــع مضـــادات البنســـلينات والسيفالوســـبورينات فـــي البكتريـــا الســـالبة لصـــبغة كَـــرام التـــي اغلبهـــا تنـــتج انزيمـــات البيتالاكتـــاميز، وكـــذلك حـــامض البنســـيلانك ســـلفونيز، مثـــل Sulbactam، Tazobactam ، إذ تـــرتبط هـــذه مركبـــات هيكليـاً بالمضـادات الحياتيـة إذ يتحـد حـامض السـالبكتم مـع الامبسـلين و حـامض التازوبـاكتم مـع البيراسـلين لتكـون اكثـر فعاليـة ضـد انزيمـات البيتالاكتـاميز (Jacoby and Bush, 2005). والشكل (2-3) يوضح الية عمل المثبطات على انزيمات البيتالاكتاميز .

# الفصل الثالث

# مواد وطرائق العمل

# Materials and Methods

## 3.المـــواد وطرائـــق العمـــل Materials and Methods

### 1.3: المواد Materials

### 1.1.3:الأجهزة والأدوات المختبرية Apparatus and Equipments

| الاجهزة والادوات | الشركة المصنعة |
|---|---|
| كابينة التعقيم Hood | Marubeni( Japan) |
| مؤصدة Autoclave | Gallen Kaamp (England) |
| حمام مائي Water bath | Kotterman (Germany) |
| مسخن حراري Hot plate | GallenKaamp (England) |
| ميزان ألكتروني حساس Sensitive electronic balance | A& DCo. (Japan) |
| فرن كهربائي Oven | Cyan(Belgium) |
| حاضنة Incubater | Olympus(Japan) |
| مصدر الأشعة فوق البنفسجية UV–Transilluminater | |

| | |
|---|---|
| Scie – plas(Belgium) | Electrophoresis unitوحدة الترحيل الكهربائي |
| MelroseePark (USA) | Vortex mixerالمازج الدوار |
| Olympus( Japan | Compound light microscopeمجهر ضوئي مركب |
| Sony(Japan) | Digital camera كاميرا رقمية |
| GFL(Germany) | Distiller جهاز تقطير |
| Salmed(Germany) | Microliter pipettes ماصات دقيقة |
| Techin(USA) | Thermo cycler apparatus (PCR) جهاز المضخم الحراري |
| Concord(Lebanon) | Refrigerator ثلاجة |
| Himedia(India) | Standard wire loop (1µL) الناقل الزرعي القياسي |
| Sun(China) | Disposable petri أطباق بتري بلاستيكية مختلفة الاحجام dishes |
| Janetzki(Germany) | High speed centrifuge منبذة عالية السرعة |
| | Cooling centrifuge (مبردة) منبذة |
| Superestar(India) | Slide شرائح زجاجية |
| | Test tube أنابيب اختبار |
| China | Calipersفيرنيا |
| Cruma( Spain) | Laminar flow cabinate كابينة الزرع المجهري |
| Sigma( England) | Ependroff tubes انابيب ابندروف |
| THERMO. UK | Nanodrop spectrophotometer جهاز |
| Bioneer/ korea | Exispin vortex centrifuge |
| Superestar( India) | Disposable Syringes محاقن |
| Macrogen( korea) | AB DNA sequencing systemجهاز |

## Chemical materials 2.1.3: المواد الكيميائية المستعملة

| الشـــركة المصنعة | أســـــم المـــادة |
|---|---|
| BIOBASIC INC (USA) | Agarose الاكاروز |
| | TBE10X buffer دارئ |
| | $BaCl_2$ كلوريد الباريوم |
| | Isoamyalcohol كحول ايزواميلي |
| | Ethanol (96%) كحول الإيثانول |

| | |
|---|---|
| BDH (England) | جيلاتين Gelaten |
| | كلوريد الصوديوم NaCl |
| | حامض الكبريتيك $H_2SO_4$ |
| | كليسرول Glycerol ($C_3H_8O_3$) |
| | ألفا– نفثول α-naphthol ($C_{10}H_8O$) |
| | حامض الهيدروكلوريك HCl |
| | المثيل الأحمر Methyl red ($C_{15}H_{15}N_3O_2$) |
| SDI(Iraq) | بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ |
| Teba(Iraq) | الكحول الأثيلي ٩٦ % Ethyl alcohol |
| Bioneer (Korea) | ماء سلسلة البلمرة PCR water |
| Bioneer/ Korea | سلم الحمض النووي القياسي ( DNA ladder (100bp |
| BIO BASIC INC/ USA | انزيم تحليل الخلايا Lysozyme |
| | صبغة بروميد الأثيديوم Ethidium bromide |
| SYRBIO (France) | صبغة گرام Gram stain |

## 3.1.3:المضادات الحياتية Antibiotics

| صنف المضاد الحياتي | تحت الصنف للمضاد الحياتي | اسم المضاد الحياتي | | الرمز | التركيز/ما يكروغرام |
|---|---|---|---|---|---|
| Penicillins | Aminopenicillin | Amoxicillin | الاموكسيلين | AC | Mg 25 |
| | | Ampicillin | الامبسلين | AMP | Mg 10 |
| | Carboxypenicillin | Ticarcillin | تيكارسيلين | TIC | Mg 75 |
| βlactam/βlactamase inhibitor combination | | Amoxicilln - clavulanic acid | الاموكسيلين- كلافيولانك اسد | AMC | 20/10 Mg |
| | Cephalosporin III | Cefotaxime | السيفوتاكسيم | CTX | Mg 30 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Mg 30 | CAZ | ceftazidime | سيفتازيديم | | Cephems |
| Mg 10 | MEM | Meropenem | ميروبنيم | Carbapenem | Penems |
| Mg 30 | Am | Amikacin | الاميكاسين | | Aminoglycosides |
| Mg10 | GEN | Gentamycin | جنتامايسين | | |
| Mg 5 | CIP | Ciprofloxacin | سبروفلوكساسين | Floroquinolones | Quinolones |
| Mg 30 | NA | Nalidixic acid | نالديكسيك اسيد | Quinolone | Quinolones |
| Mg 30 | C | Chloramphenicol | كلورامنفينيكول | | Phenicols |
| Mg 30 | TE | Tetracycline | تتراسايكلين | | Tetracyclin |
| MG 30 | RA | Rifampin | ريفامبين | | Rifamycins |
| MG 5 | TR | Trimethoprim | ترايمثوبريم | | Trimethoprim |

## 4.1.3: تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction

### 1.4.1.3:عدة استخلاص الـــــDNA

| اسم العدة | مكوناتة | الشـركة وبلـد المنشأ |
|---|---|---|
| عـــدة اســـتخلاص الحمـــض النـــووي البكتيري Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit | GT Buffer 30 ml | Geneaid (USA) |
| | GB Buffer 40 ml | |
| | W1 Buffer 45 ml | |
| | Wash Buffer 100 | |
| | Elution Buffer 30 ml | |
| | GD Colum 100pcs | |
| | 2ml collection tubes 100 pcs | |
| | Proteinase K | |

| | | |
|---|---|---|
| **Bioneer (Korea)** | **Top DNA polymerase 1U** | **عدة مزيج تفاعل PCR AccuPower® PCR PreMix** |
| | **dNTP (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) each: 250µM** | |
| | **Tris-HCl (pH 9.0) 10mM, KCl 30Mm, MgCl2 1.5mM** | |
| | **Loading dye** | |

### 2.4.1.3 : بادئات DNA DNA Primers

تـم اسـتخدام نـوعيين مـن البادئـات لإجـراء فحـص PCR النـوع الأول للبادئـات مـن جـين ال 16S rRNA gene والخـاص بتشـخيص *P.mirabilis* وأمـا النـوع الثـاني مـن البادئـات والخـاص بـالتحري عـن بعـض أنـواع الجينـات المقاومـة للمضـادات الحياتيـة مـن نـوع Extended spectrum beta-lactamase (***bla-TEM*** genes) ***blaTEM* -177 , *blaTEM* -160 , *blaTEM* -156 , *blaTEM*-89, *blaTEM* *72*, *blaTEM* -3, *blaTEM*-1.** حيـث تـم تصـميم جميـع البادئـات فـي هـذا الدراسـة وذلـك باسـتخدام موقـع NCB1-Gebank Database وبرنـامج تصـميم البادئـات Primer3plus . وقـد تـم تجهيز تلك البادئات عن طريق شركة Bioneer في كوريا.

**جدول (3-1) بادئات DNA التي استُعملت في هذه الدراسة**

| Primer | Sequence | | Amplicon |
|---|---|---|---|
| **16S rRNA** | **F** | **TCTTGTGAGAGCGGGGGATA** | **725bp** |
| | **R** | **AGTTGCAGACTCCAATCCGG** | |
| **TEM-3** | **F** | **TGCATCTTTGAGCGCTCTGA** | **318bp** |
| | **R** | **CGTTTTCTGAGACGACCCCA** | |
| **TEM-72** | **F** | **TCCTTGAGAGTTTTCGCCCC** | **581bp** |
| | **R** | **CAGTGCTGCAATGATACCGC** | |
| **TEM-89** | **F** | **GGGAACCGGAGCTGAATGAA** | **254bp** |
| | **R** | **CAGTGCTGCAATGATACCGC** | |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **TEM-160** | **F** | **CTCTAGCTTCCCGGCAACAA** | **149bp** |
| | **R** | **CAGTGCTGCAATGATACCGC** | |
| **TEM-177** | **F** | **TGATAACACTGCGGCCAACT** | **358bp** |
| | **R** | **CAGTGCTGCAATGATACCGC** | |
| **TEM-1** | **F** | **TCCTTGAGAGTTTTCGCCCC** | **452bp** |
| | **R** | **TTGTTGCCGGGAAGCTAGAG** | |
| **TEM-156** | **F** | **AGATCAGTTGGGTGCACGAG** | **637bp** |
| | **R** | **CAGTGCTGCAATGATACCGC** | |

## 2.3: طرائــق العمـــــل Methods

### 1.2.3: تحضير الأوساط الزرعية Culture media preparation

**A-تحضير الأوساط الجاهزة**

حُضِّــرت الأوســاط الزرعيــة بحســب تعليمــات الشــركة المُصــنَّعة لهــا وضُــبِطَ الأس الهيدروجيني لها بحسب الحاجة لهُ.

**B: الاوساط الزرعية التركيبية Structural culture media**

**أ: وسط اكار الدم Blood agar medium**

أستعمل وسط اكار الدم المعقم والمحضر بحسب تعليمات الشركة المصنعة ، ثم بُرد الوسط لدرجة (45-50) مْ وأُضيف له (5%) دم الإنسان صنف AB و من ثم صبه في إطباق بتري معقمة وحُفظ بالثلاجة لحين الاستعمال (Macfaddin,2000) .

**ب: وسط اكار اليوريا Urea agar**

استعمل وسط اكار اليوريا المعقم والمحضر بحسب تعليمات الشركة المصنعة ، بعدها أضيف (5) ملليتر من محلول اليوريا 20% بعد تبريد الوسط في الحمام المائي لدرجة (50) م˚ ، ووزع الوسط على أنابيب وضعت بشكل مائل لتتصلب (Deep slop)، استعمل للتحري عن قابلية البكتريا على إنتاج إنزيم اليوريز ( Benson ,2002) .

**ج: وسط الجيلاتين Gelatine agar**

أُذيب (6) غم من الجيلاتين في (500) ملليتر من المرق المغذي ووزع في أنابيب زجاجية بواقع (5) ملليتر لكل أنبوبة ثم عقم بالموصدة وحفظ في الثلاجة إلى حين الاستعمال استعمل الوسط للتحري عن العزلات القادرة على إسالة الجلاتين (Atlas *et al*., 1995)

## 2.2.3:طرق التعقيم Sterilization methodes

**A: التعقيم بالحرارة الرطبة Wet hot sterilization**

عُقمت جميع الأوساط الزرعية بجهاز الموصدة (Autoclave) بدرجة حرارة(121) م˚ وضغط (15) باوند/أنج٢ لمدة (15) دقيقة.

**B: التعقيم بالحرارة الجافة Dry hot sterilization**

عُقمت الزجاجيات المستعملة في الفرن الكهربائي (Oven) بدرجة حرارة (168) مْ ولمدة ساعة ونصف.

**C-التعقيم بالترشيح Filtration sterilization**

تم تعقيم المواد والمحاليل التي تتاثر بالحرارة بوساطة مرشحات دقيقة (Millipore filters) بقطر0.22 مايكرومتر ( Benson,2002 ) .

## 3.2.3:تحضير المحاليل والكواشف Solution and Reagents Preperation

### 1.3.2.3: المحاليل Solutions

**1.1.3.2.3: المحلول الملحي الفسلجيSolution Normal saline**

حُضـر بإذابـة (0.85) غـم مـن كلوريـد الصـوديوم (NaCl) فـي (90) ملليتـر مـن المـاء المقطـر ، وأكمـل الحجـم إلـى (100) ملليتـر ثـم عقـم بالموصـدة لمـدة 15 دقيقـة وحفـظَ بعـد ذلـك فـي درجـة (٤) مْ . واسـتعمل هـذا المحلـول فـي تخفيـف العـالق وإعـداد اللقـاح البكتيـري المباشر في عند أجراء التجارب المختبرية (Macfaddin, 2000) .

**2.1.3.2.3: محلول ماكفرلاند القياسي (0.5)**

**McFarland Tube Standard**

حُضّر المحلول على وفق ما جاء في (2012) CLSI وكالاتي:

**آ- محلول كلوريد الباريوم المائي $BaCl_2 . 2H_2O$**

حُضّـر المحلـول بإذابـة 1.175 غـرام كلوريـد البـار يـوم (BaCl2) فـي 50 مليلتـر مـن المـاء المقطـر المعقـم وأُكمـل الحجـم إلـى 100 مليلتـر للحصـول علـى تركيـز 0.048 مول/لتر.

**ب- محلول حامض الكبريتيك $H_2SO_4$**

حُضّـر المحلـول بإضـافة 18 مليلتـر مـن حـامض الكبريتيـك المركـز بـبطء إلـى 50 مليلتـر مـن المـاء المقطـر المعقـم، وأكمـل الحجـم إلـى100 مليلتـر للحصـول علـى تركيـز 0.18 مـول/لتر مـن $H_2SO_4$. عنـد اسـتعمال محلـول ماكفرلانـد مـزج (٠,٥) ملليتـر مـن محلـول A مـع (٩٩,٥) ملليتـر مـن المحلـول B للحصـول علـى عـدد تقريبـي للخلايـا البكتيريـة بمقدار ($1.5 \times ١٠^{٨}$) خلية/ملليتر .

## 2.3.2.3:الكواشف

**A : كاشف الاوكسيديزOxidase**

حُضـر الكاشـف آنيـاً عنـد الاسـتعمال بإذابـة (0.1) غـم مـن Tetramethyl- P- Phenyl Diamine Dihydro chloride فـي (10) ملليتـر مـن المـاء المقطـر وضـع الكاشـف فـي قنينـة معتمـة. اسـتعمل هـذا الكاشـف للتحـري عـن قابليـة البكتريـا علـى انتـاج أنزيم الاوكسيديز(Forbes *et al.*, 2007).

**B: كاشف الكاتليزCatalase reagent**

استعمل بتركيز3% من بيروكسيد الهيدروجين (Hydrogen peroxide ) ، باذابة 3 غم من $H_2O_2$ في في (100) ملليتر من الماء استخددم للتحري عن قدرة البكتريا على إنتاج أنزيم الكاتليز(Collee ,1996).

**C: كاشف كوفاكس Kovac's reagent**

حُضر بإذابة (5) غم من مادة Para-Dimethyl Aminobenzaldehyde في 75 ملليتر من كحول آيزوبوبيلي Isoamyalcohol و 25 ملليتر من حامض HCl المركز, استعمل في اختبار إنتاج الاندول (Forbes *et al.*,٢٠٠٧).

**D: كاشف احمر المثيل Reagent Methyl red**

حُضر الكاشف بإذابة 0.1 غم من صبغة احمر المثيل في 300ملليتر من 95% كحول المثيلي وأكمل الحجم الى (500) ملليتر باستعمال الماء المقطر ( Macfaddin, 2000).

**E : كاشف فوكس بروسكور Voges –Proskauer reagent**

يتكون من :

**1. كاشف الفانفثول5%**

حُضر بإذابة 5 غم من المادة في 100ملليتر من الكحول الاثيلي المطلق ليصبح التركيز95% .

**2.محلول هيدروكسيد البوتاسيوم KOH 40%**

حُضر بإذابة 40غم من المادة في 100 ملليتر من الماء المقطر ليصبح التركيز40% (Forbes *et al.*,2007).

**F: كاشف محلل الـ DNA**

حُضـر الكاشـف بإضــافة 8.4 ملليتـر مـن حـامض الهيـدروكلوريك HCL الــى 80ملليتـر الـــى المـــاء المقطـــر، ثـــم اكمـــل الحجـــم 100ملليتـــر مـــن المـــاء المقطـــر للحصـــول علـــى 1مـولاري مـن HCLاسـتخدم الكاشـف للتحـري عـن البكتريـا المنتجـة للإنـزيم المحلـل لــ DNA (Macfaddin,2000) .

## 3-2-4: جمـــــــــع العينـــــــات Collection of specimens

تضـمنت الدراسـة الحاليـة جمـع 185عينـة مـن الحـالات السـريرية خـلال فتـرة مـن تشـرين الاول 2015الـى نيسـان 2016مـن المرضـى المصـابين بخمـج المسـالك البوليـة ( القثـاطر البوليـة والتهابـات المجـاري البوليـة) ,ومرضـى الحـروق والالتهـاب الاذن الوسـطى والـذين يعـانون مـن الالتهابـات المعويـه (عينـة اسـهال وغـائط صـلب), وحـالات تجـرثم الـدم وبأعمـار مختلفـة أذ قسـمت الـى سـت فئـات عمريـة مـن سـنة واحـدة الـى خمسـين سـنة فـأكثر, ولِكِـلا الجنسـين مـن مستشـفيات فـي محافظـة الديوانيـة شـملت مستشـفى الديوانيـه التعليمـي ,مختبـر الصـحه العامـه ,مستشـفى النسـائيه والتوليـد , مركـز الحـروق التخصصـي فـي مدينـة الديوانيـه ,كمـا وحـرص اثنـاء جمـع العينـات علـى اسـتخدام المسـحات القطنيـة الحاويـة علـى وسط ناقل Transport media swabs في عملية جمع العينات لضمان حيوية العزلة.

## 3-2-5: : تشـخيص البكتريـا المعزولـة Identification of isolated bacteria

### A الخصائص المزرعية

شُخصـت مسـتعمرات بكتريـا *P.mirabilis* مبـدئياً اعتمـاداً علـى الصـفات المظهريـة لهـا مـن حيـث شـكل وحجـم ولـون المسـتعمرات. إذ تـم التركيـز علـى المسـتعمرات التـي تميـزت بظـاهرة الانثيـال لبكتريـا *P.mirabilis* علـى وسـط اكـار الـدم. كـذلك ظهـرت بمسـتعمرات شـاحبة غيـر مخمـرة لسـكر اللاكتـوز علـى وسـط اكـار المـاكونكي ( Winn *et al* ., 2006).

### B- الخصائص المجهرية Microscopic characteristics

تمت دراسة الخصائص المجهرية للخلايا البكتيرية من خلال اجراء صبغة غرام ،حيث أخذت مستعمرة مفردة نقية نامية على وسط الاكار المغذي بوساطة عروة ناقل معقم (Loop full) ، ووضعت على شريحة زجاجية مع بضع قطرات ماء معقمة ثم فرشت الخلايا وتركت لتجف ، وثبتت بإمرارها على اللهب ثلاث مرات بصورة سريعة .صبغت بصبغة غرام ، وتمت ملاحظة شكل وتجمع الخلايا بفحصها تحت المجهر الضوئي باستعمال العدسة الزيتية (Forbes *et al*.,2007).

### 3-2-6: الأختبارات الكيموحيوية Biochemical test

**1-إختبار الكتاليز Catalase test**

نُقلَ جزء من مستعمرة فتيَّه بعمر 24 ساعة من الوسط المنمى عليه بوساطة العيدان الخشبية المعقمة إلى شريحة زجاجية نظيفة ومن ثم أُضيفت قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ بتركيز 3%. وتكون النتيجة موجبة بظهور فقاعات من غاز الأوكسجين (Collee ,1996).

**2-إختبار الأوكسيديز Oxidase test**

نُقلَ جزء من مستعمرة فتيَّه بعمر 24 ساعة بوساطة عيدان خشبية مُعقمة إلى ورقة ترشيح مشبَّعة بكاشف الأوكسيديز, وأنَّ تكوّن اللون البنفسجي خلال 10 ثوانٍ دليل على إيجابية الإختبار(Forbes *et al*., 2007).

**3-التحري عن السكريات الثلاثية Triple – sugar iron agar**

استخدم هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتريا على تخمير سكريات (كلوكوز, سكروز ,لاكتوز). لقحت الأنابيب الحاوية على وسط Kliger's Iron Agar (KIA) بطريقة الطعن والتخطيط على السطح المائل بالمزروع البكتيري . وحُضنت الأنابيب بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة , يعد تحول لون الوسط من الأحمر الى الأصفر في الجزء العميق نتيجة موجبة لتخمر سكر الكلوكوز, , بينما تحول لون الوسط ككل الى الأصفر نتيجة موجبة لتخمر سكر اللاكتوز والسكروز ايضاً ، إنتاج راسب اسود دلالة على انتاج كبريتيد الحديدوز (كبريتيد الهيدروجين ) اسفل الوسط الصلب وكذلك ظهور فقاعات غازية دلالة على انتاج غاز $CO_2$ (MacFaddin , 2000) ).

**4-الكشف عن أنزيم اليوريز Urease test**

لقـح وسـط اليوريـا بطريقـة الطعـن والتخطـيط . حضـنت الانابيـب بدرجـة (37) مْ ولمـدة مـن 24-48 سـاعة. ان النتيجـة الموجبـة لهـذا الفحـص هـو تغيـر لـون الوسـط مـن اللـون الاصـفر إلـى الـوردي دلالـة علـى تحلـل اليـوريز مـن قبـل البكتريـا ( Benson ,2002) .

**5-الكشف عن انزيم الجلاتينيز Gelatin liquification test**

يسـتخدم للكشـف عـن قـدرة البكتريـا علـى انتـاج انـزيم الجيلاتينيـز(Gelatinase) الـذي يعمـل علـى إسـالة الجيلاتـين اذ لقحـت انابيـب الوسـط بطريقـة الطعـن وحضـنت . تـم التأكـد مـن الفحـص عـن خـلال إسـالة الجيلاتـين بعـد وضـع الوسـط فـي الثلاجـة (٤) مْ مـدة نصـف ساعة ، إنّ حدوث التميع يشير الى فعالية الانزيم (Collee *et al*., 1996) .

## 6- مجموعة إختبارات IMViC المُكوّنة من:.

**•إختبار إنتاج الأندول Indol production test**

اسـتُخدم وسـط مـاء الببتـون Peptone water لتلقـيح بالبكتريـا المـراد اختبارهـا فـي هـذا الإختبـار ، ثـم حُضـنَت الأنابيـب بدرجـة حـرارة 37°م لمـدة 24 سـاعة بعـد ذلـك أضـيف 0.5 ملليتـر مـن كاشـف كوفـاكس Kovac's reagent تـرج جيـداً وأنَّ ظهـور حلقـة حمـراء فـي اعلى الانبوبة دليل على إيجابية الفحص ( MacFaddin ,2000).

**•إختبار المثيل الأحمر Methyl red test**

اجـري هـذا الإختبـار بتلقـيح الأنابيـب الحاويـة علـى الوسـط الزرعـي MR.VP. medium بجـزء مـن المسـتعمرة البكتيريـة النقيـة المـراد إختبارهـا وحُضِـنت بدرجـة حـرارة 37°م لمـدة 24- 48 سـاعة. بعـد الحضـن أُضـيفت 5 قطـرات مـن المثيـل الأحمـر وسُـجِلت النتيجـة الموجبة بظهور اللون الأحمر (Collee *et al* ., 1996).

**•إختبار فوكس – بروسكاور Voges – Proskauer test**

لُقحـت الوسـط الزرعـي MR.VP. medium بجـزء مـن المسـتعمرة البكتيريـة النقيـة المـراد إختبارهـا وحُضِـنت بدرجـة حـرارة 37°م لمـدة 24 –48 سـاعة, بعـد ذلـك أُضـيف0.6ملليتـرمن الكاشـف الفـانفثول و 0.2 ملليتـر مـن محلـول هيدروكسـيد البوتاسـيوم إلـى كـل انبوبـة مـع التحريـك الهـادئ ان ظهـور لـون وردي خـلال 2-5 دقيقـة دلالـه علـى نتيجة موجبة ( Collee *et al* ., 1996 ) .

**•إختبار إستهلاك السترات Citrate utilization test**

استخدم هذا الاختبار للتحري عن قدرة البكتريا لاستهلاك السترات أذ لُقِحَ وسط سيمون ستريت المائل بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد إختبارها وحُضِنَ بدرجة حرارة 37°م لمدة 24–48 ساعة, يعد تحول الوسط من الأخضر إلى الأزرق دلالةً على إستهلاك البكتيريا للسترات على أنهُ مصدرٌ وحيدٌ للكاربون ( Winn *et al* ., 2006 ).

**7-2-3: التشخيص بنظام api 20 E** **api 20 E diagnosis system**

أستخدمت شرائط الـ api 20 E , لتشخيص هذا النوع بالشكل النهائي اذ يحوي هذا الشريط على 20 انبوبة خاصة بالفحوصات الكيموحيوية التأكيدية. كما في الخطوات التالية :

**A– تحضير العالق البكتيري** **Preparation of bacterial suspention**

لقح 5 مليلتر من محلول الملح الفسلجي **ب** 1-4 مستعمرة من بكتيريا المتقلبات بمسحة القطنية مع المزج المستمر

**B- تلقيح شريط api** **Inoculation of the api strip**

بعد تحضير العالق البكتيري وباستخدام ماصة ( Pipette ) لقح مقدار 0.12 مليلتر من عالق البكتيريا لكل انابيب الأختبار , واضيف الزيت المعدني المعقم الى الاختبارات التي تحتها خط والتي شملت URE, ADH, LDC, ODC, $H_2S$.

**C- حضن شريط api** **Incubating the strip in its chamber**

وضع شريط الـ api داخل غطاء ضمن العُدة بعد وضع القليل من قطرات الماء بالانابيب الموجودة في هذا الغطاء , ثم حُضن شريط الـ api بدرجة حرارة 37°م لمدة 24–48 ساعة .

**D- قراءة النتيجة** **Reading of Result**

شُخصت المتقلبات من خلال الشفرة الرقمية ( Code number ) التي تتكون بعد وضع علامة (+) اوعلامة (-) لكل من الأختبارات الكيموحيوية الموجودة ضمن شريط الـ api , ثم قورنت الارقام في اوراق خاصة بالشريط وشُخصت باستخدام الدليل .

## 8-2-3 : حفظ العزلات البكتيرية وادامتها

## Preservation and Maintenance of Bacterial Isolates

**A- الحفظ قصير الأمد**

حفظت عزلات الـ *P.mirabilis* بنقل مستعمرة واحدة الى مائل الاكار المغذي وحُضنت في درجة حرارة 37 مº لمدة 24 ساعة، ثم حفظت بدرجة 4 مْ مع مراعاة تجديد حيوية العزلات (Forbes *et al.*, 2007).

**B-الحفظ طويل الأمد**

حفظت العزلات مدة أطول ومن دون تعرضها لفقدان بعض صفاتها الوراثية بأستخدام الوسط المغذي السائل المدعم بالكليسيرول بتركيز نهائي(15%) ( Forbes *et al.*, (2007.

**9-2-3 : إختبار فحص الحساسية Antibiotic Susceptibility Testing**

اخذت 2-4 مستعمرات من بكتيريا *P.mirabilis* إلى أنبوب إختبار يحوي 5مل من من مرق نقيع القلب والدماغ وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة 8 ساعات. خفف النمو الحاصل باستعمال محلول الملح الفسلجي حصول على درجة عكوره مماثلة إلى عكورة أنبوبة لـ ماكفرلاند 0.5 القياسية ، وغمست المسحة القطنية بالوسط الزرعي المخفف ونشرت البكتيريا على وسط مولر- هنتون الصلب بطريقة التخطيط لأكثر من مرة وباتجاهات مختلفة ، وتُركت الأطباق 5 قائق في درجة حرارة الغرفة لضمان إمتصاص الرطوبة، ثم وُضعت أقراص المضادات الحياتية ، قرُأت النتائج بقياس أقطار التثبيط بأخذ قطرين متعامدين وقورنت النتائج مع قياسات عالمية بحسب ما جاء في CLSI (2012) .

**10-2-3: تفاعل السلسلة المتبلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR)**

تم أجراء فحص تفاعل سلسلة البلمره وذلك لإجراء التشخيص التأكيدي لعزلات جرثومة*P.mirabilis* وكذلك للتحري عن بعض عن بعض أنواع الجينات المقاومة للمضادات الحياتية من نوع Extended spectrum beta-lactamase (***bla-TEM*** **genes**) وبحسب طريقة (Nagano *et al.*, 2003) وكما يأتي يتكون الفحص من عدة خطوات:

**1-10-2-3: إستخلاص الحامض النووي البكتيري Genomic DNA extraction**

تـم إجـراء اسـتخلاص الحمـض النـووي لـــ *P. mirabilis* وذلـك باسـتخدام عـدة (Genomic DNA extraction kit) المجهـزة مـن شـركة Geneaid الأمريكيـة , وتم أجراء الاستخلاص بحسب تعليمات الشركة كآلاتي:

١- تـم نقل 1مـل عـالق مـن كـل عزلـة مـن *P. mirabilis* النامية علـى وسـط مـرق نقيـع القلـب والـدماغ ووضـعت فـي انابيـب ابنـدروف قيـاس 1.5 مـل معقمـة وبعـدها ونقلـت الـى جهـاز الطـرد المركـزي بسـرعة 15000 دورة / دقيقـة وذلك لجمع الخلايا البكتيرية و التخلص من السائل الطافي.

٢- أضـيف 200 ميكروليتـر مـن محلـول الانـزيم الايسـوزايم Lysozyme (20mg/ml) buffer وبعـدها مـزج الخلـيط بوسـاطة المـازج vortex لمـدة 5 ثوان.

٣- حضُـن المـزيج بدرجـة حـراره الغرفـة لمـدة 10 دقـائق وخـلال مـدة الحضـن تـم تقليب الانابيب لضمان تحليل كامل للخلايا في المزيج.

٤- تـم اضـافة 1ميكروليتـر مـن محلـول GB Buffer المجهـز مـن العـده الـى مـزيج الخلايا المتحللة ومزج جيدا بوساطة المازج vortex لمدة 5 ثوان.

٥- حضُن المزيج بدرجة حراره 60 م° لمدة 10 دقيقة باستخدام الحمام المائي.

٦- تـم اضـافة 200 ميكروليتـر مـن الكحـول الاثيلـي المطلـق الـى المـزيج المتحلـل ومزج الخليط جيدا بجهاز المازج vortex مدة 10 ثواني.

٧- تـم نقـل الخلـيط مـن انبوبـة الابنـدروف الـى انابيـب جمـع collection tubes قيـاس 2 مـل الحاويـه علـى اعمـدة تحـوي مصـفى لتنقيـة الحمـض النـووي GD filter colum والمجهزه مع العده.

٨- وضـعت انابيـب الجمـع مـع الاعمـده الحاويـه علـى خلـيط فـي جهـاز الطـرد المركـزي ودورت بسـرعة 15000 دورة / دقيقـة للـتخلص مـن نـواتج الخلايـا المتحلله.

٩- تـم الـتخلص مـن المحلـول الراسـب للخلايـا المتحللـة ونقـل GD colum الحاوي على الحمض النووي الى انبوبة الجمع collection tube جديده.

١٠- تم اضافة ٤٠٠ ميكروليتر من محلول W1 Buffer المجهز مع العده الى العمود الحاوي لغسل الحمض النووي ووضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 15000 دورة / دقيقة لمدة ٣٠ ثانية.

١١- تم التخلص من الراسب وبعد ذلك أضيف ٦٠٠ ميكروليتر من محلول الغسل الحاوي على الكحول الاثيلي المطلق Wash buffer المجهزه مع العده الى العمود الحوي على الحمض النووي لتخلص من الدهون داخل العمود ووضعت الانابيب في جهاز الطرد المركزي بسرعة 15000 دورة / دقيقة لمدة ٣٠ ثانية.

١٢- تم التخلص من الراسب واعيدت الانابيب الى جهاز الطرد المركزي مره ثانية لتجفيف الاعمده بسرعة 15000 دورة / دقيقة لمدة 3 دقائق.

١٣- تم نقل الاعمده الحاوية على الحمض النووي على انابيب ابندروف معقمة واضيف 50 ميكروليتر من محلول الاذابة Elution Buffer المجهز مع العده الى وسط العمود وترك مدة 5 دقائق وبعدها وضعت الانابيب في جهز الطرد الركزي بسرعة15000 دورة / دقيقة لمدة 30 ثانية لذابة الحمض النووي وحفظه بدرجة حراره -20م لحين اجراء فحص تفاعل سلسلة البلمره المتعدد.

**2-10-2-3:فحص الحمض النووي المستخلص DNA examination**

تم الكشف عن الحمض النووي DNA المستخلص وذلك باستخدام جهاز Nanodrop spectrophotometer (THERMO. USA) الخاص بالكشف وقياس تركيز الاحماض النووي إذ يتم الكشف الحمض النووي من خلال تحديد تركيز الحمض النووي ( ng\µl ) DNA وقياس نقاوة الحمض النووي DNA من خلال قراءة الامتصاصية بطول موجي يتراوح بين (260/280nm) وتم استخدام الجهاز على النحو التالي :

١- بعد تشغيل جهاز Nanodrop تم اختيار برنامج قياس الحمض النووي نوع DNA .

٢- قمنا بتصفير ركيزة المقياس مرتين وذلك بوضع 2 مايكروليتر من(ddH2O) باستخدام ميكروبايبيت معقمة على سطح ركيزة المقياس وجراء التصفير وبعدها نقوم بتنظيف الركيزة باستخدام ورق نشاف خاص بالجهاز .

٣- قمنا بوضع 1 ميكروليتر من كل عينة من ال DNA المستخلص على ركيزة المقياس الجهاز ومن ثم ضغط زر ok لبدء عملية قياس تركيز DNA .

٤- وكذلك تم تحديد نقاوة عينات ال DNA المستخلص بقراءة الامتصاصية جهاز Nanodrop Spectrophotometer على طولين موجيين (260/280 nm) حيث ان الحمض النووي DNA المستخلص يعد نقياً عندما تكون نسبة الامتصاصية هي (1.8).

**3-10-2-3:تحضير مزيج تفاعل سلسلة البلمرة PCR master mix**

تم تحضير مزيج تفاعل سلسلة البلمره باستخدام عدة ال AccuPower® PCR PreMix المجهزه من قبل شركة ال Bioneer الكورية وبحسب تعليمات الشركة كألاتي:

١- تم تحضير مزيج تفاعل سلسلة البلمرة بطريقة Diplex PCR في انابيب PCRالمجهزة مع العده والحاويه على مكونات تفاعل سلسلة البلمره وضيفت المكونات الاخرى لمزيج تفاعل وحسب تعليمات الشركة كما في الجدول (3-2)

**جدول (3-2 ): مكونات مزيج تفاعل انزيم البلمرة Monoplex PCR master mix وحجومها**

| PCR master mix | | Volume |
|---|---|---|
| DNA template | | 5µL |
| First gene Primers (10pmol) | F. primer | 1µL |
| | R. primer | 1µL |
| Second gene | F. primer | 1µL |

| | | |
|---|---|---|
| Primers (10pmol) | R. primer | 1µL |
| | PCR water | 11µL |
| | **Total** | **20µL** |

٢- بعد اكمال تحضير مزيج تفاعل سلسلة البلمره تم غلق الانابيب ومزجت بعناية بجهاز المازج vortex لمدة 10 ثوان.

٣- نقلت الانابيب للمضخم الحراري Thermocycler PCR لاجراء حالات الدورات الحرارية PCR thermocycler conditions .

**3-2-10-3-1 : برنامج الدورات الحرارية لتضخيم ألـ DNA PCR Thermocycler**

تم جراء فحص تفاعل سلسلة البلمرة باستخدام المضخم الحراري PCRthermocycler وفقاً للجدول (3-3).

**جدول (3-3 ) : الظروف المستعملة في جهاز المضخم الحراري PCR**

| PCR Step | Repeat cycle | Temperature | Time |
|---|---|---|---|
| Initial denaturation | <1 | < 95°C | 5min |
| Denaturation | 30 | 95°C | 30sec. |
| Annealing | | 60°C | 30sec |
| Extension | | 72°C | 1min |
| Final extension | 1 | 72°C | 5min |

| | | | |
|---|---|---|---|
| **Forever** | **4°C** | **-** | **Hold** |

**4-10-2-3 :الترحيل الكهربائي بالهلام Gel electrophoresis**

تـم اجـراء الترحيـل الكهربـائي باسـتخدام هـلام الاكـروز بنسـبة 1.5% وذلـك قـراءة نتيجة تفاعل سلسلة البلمرة PCR product كما يأتي:

١- تـم اذابـة ١ غـم مـن هـلام الاكـروز Agarose gel فـي 100 مـل مـن محلـول ال TBE buffer الدارئ بتركيز 1X وباستخدام الفرن الكهربائي لمدة 15 دقيقة.

٢- تـرك الهـلام ليبـرد بدرجـة حـرارة 50م وبعـدها تـم إضـافة صـبغة الحمـض النـووي المشعة Ethidium bromide ومزجت جيدا مع الهلام.

٣- تـم صـب هـلام الاكـروز فـي قالـب الترحيـل Tray الحـاوي علـى المشـط Comb لتحديـد امـاكن عينـات المضـخم الحـراري, وبعـدها تـرك الهـلام ليتصـلب فـي درجـة حـرارة الغرفـة لمدة 15دقيقة ومن ثم ازيل المشط من الهلام بعناية.

٤- تـم عمليـة تحميـل العينـات باسـتخدام صـبغة التحميـل Loading dye علـى ورق البـارافلم Parafilm paper وذلـك باضـافة 1حجـم مـن صـبغة التحميـل لكـل اربعـة حجـوم من ناتج PCR product ووضعت في حفر الهلام.

٥- تـم اسـتخدام 10يكروليتـر مـن DNA ladder لقيـاس نـاتج PCR ووضـع فـي الحفـره الاولى.

٦- بعـد اكتمـال عمليـة التحميـل تـم غمـر هـلام الاكـروز باسـتخدام محلـول TBE Buffer الـدارئ بتركيـز 1X وغلـق غطـاء الترحيـل وبعـدها تـم تشـغيل جهـاز الترحيـل باسـتخدام تيار 100فولت لمدة ساعة واحده.

٧- بعـد انتهـاء عمليـة الترحيـل تـم فحـص الهـلام الحـاوي علـى نـاتج المضـخم الحـراري باسـتخدام مصـدر الاشـعة فـوق البنفسـجية U.V light source لتحديـد النـاتج مـع وحـدة القياس.

### 3-2-11:طريقة تسلسل الحمض النووي DNA sequencer method

تـم إجـراء طريقـة تسلسـل الحمـض النـووي لتحديـد التسلسـل الـوراثي لجينـات الجينـات المقاومـة للمضـادات الحياتيـة مـن نـوع Extended spectrum beta-lactamase (*bla-$_{TEM}$* genes) فـي جرثومـة *P. mirabilis* المشخصـة بطريقـة فحـص ال PCR كمـا مبـين اعـلاه . وذلـك مـن خـلال إجـراء تحليـل الشـجرة الوراثيـة Phylogenetic tree analysis باسـتخدام بـرامج Mega 6 , حيـث فـي البدايـة تـم جـراء تفاعـل PCR لجميـع جينـات *bla-$_{TEM}$ genes* بعـد ذلـك تـم ارسـال النـاتج تفاعـل PCR الـى شـركة Macrogen فـي كوريـا الجنوبيـة وذلـك لأجـراء تسلسـل الحمـض النـووي باسـتخدام جهازAB DNA sequencing system.

### 3-2-12: التحليل الاحصائيStatistical Analysis

أخضـعت نتـائج الدراسـة الحاليـة جميعهـا الـى التحليـل الاحصـائي واسـتخدم لهـذا الغـرض برنـامج GraphPad Prism (SAS Institute ,Inc. USA) الاصـدار الرابـع حيـث جـرى تطبيـق إختبـار مربـع كـاي Chi-square test لهـذا الغـرض كمـا جـرى اعتمـاد مجـال الثقـة Confidence interval مسـاويا الـى ٩٥% وقيمـة مسـتوى الاحتمالية أقل من 0.05 (P<0.05) (Motulsky .,2003)

## 4. النتائج والمناقشة Results and Discussion

### 1-4 مجتمع الدراسة

بلغت نسبة عزلات بكتريا *Proteus spp* 45.94% التي تم الحصول عليها من مجموع 185من العينات السريرية ومنها عينات الادرار بنسبة 10.81%,عينات الاذن الوسطى بنسبة 6.48% ,عينات التهابات الحروق 9.72%,عينات البراز13.51%, سجلت عينات تجرثم الدم اقل نسبة في الحصول على المتقلبات في العينات السريرية بنسبة 0.54% . كماهو موضح بالجدول (4-1) كما وبين نسبة عزل البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كَرام التي كانت 42.16% أما عدد العينات الخالية من النمو فكانت بنسبة 11.89%.

تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه Hassain وجماعتة (2014) في مصر أذ سجل نسبة عزل لبكتريا *Proteus Spp* 61% ,أما Perween وجماعتة (2016) سجل نسبة عزل للبكتريا 8 %, أما الباحث Senthamarai وجماعتة (2015) فقد سجل نسبة عزل اقل من النتائج المذكورة بنسبة 3.04 %.ويعزى سبب عزل بكتريا *Proteus* spp بهذه النسبة الى كونها تعد احد عصيات القولون إذ تتواجد كنبيت طبيعي للقناة المعوية كما وتعد بكتريا *Proteus spp* انتهازية عند توافر الظروف الملائمة لها مثل التهاب المسالك البولية (Jacobsen&Shirtliff,2011).

اكدت الدراسات ان اسباب التلوث البكتيري في المستشفيات إما أن يكون بشكل ذاتي حيث تمثل هذه البكتريا جزء من الفلورا الطبيعية أوقد تكتسب من استعمال المرضى للصحيات أو عن طريق الأشخاص المرافقين للمريض وبشكل عام فأن الهواء والمياه والأطعمة والأيدي جميعها تسهم في انتقال العدوى من شخص لآخر وسوف يؤدي الى توسع دائرة انتقال البكتيريا (Thomas , 2007).

**الجدول(4-1) النسب المئوية للبكتريا المعزولة حسب مصادر عزلها**

| مصدر العزلات | العدد الكلي للعينات حسب مصدرها ونسبها المئوية | النسبة المئوية للعينات عديمات النمو | عدد العزلات لبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كًرام ونسبها المئوية | عددعزلات بكتريا *Proteus Spp* ونسبها المئوية |
|---|---|---|---|---|
| الادرار | (%30)57 | (%3.7)7 | (%16.21)30$^{Aa}$ | (%10.81)20$^{Aa}$ |
| مسحات الاذن | (%23.27)44 | (%1.6)3 | (%10.8 )20$^{ABa}$ | (%6.48) 21$^{Aa}$ |
| الحروق | (%21.6)40 | (%2.1)4 | (% 9.)18$^{ABa}$ | %(9.72)18$^{Aa}$ |
| البراز | (%20)37 | (%1.08)2 | (%5.40)10$^{Ba}$ | (%13.51)25$^{Aa}$ |
| دم | (%3.78)7 | (%3.24) 6 | (%0)0$^{Ca}$ | (%0.54)1$^{Ba}$ |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| المجموع | (%100)185 | (11.89)22 | (%42.16) 78 | (%45.94)85 |

- **ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة 29.748 اكبر من الجدولية $X^2$ 28.869 إذاً توجد فروق معنوية ,تدل الحروف الكبيرة على النتيجة الاحصائية العمودية ، في حين تدل الحروف الصغيرة على النتيجة الاحصائية الافقية .كما تدل الحروف المختلفة بين اي قراءتين على وجود فروقات معنوية في حين الحروف المتشابهة تدل على عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية 5%**

## 2-4: العزل والتشخيص Isolation and Identification

كان الهدف من جمع العينات هو عزل بكتيريا *P.mirabilis* وكانت عملية جمع العينات عشوائية للتحري عن بؤر التلوث ببكتيريا *P.mirabilis* أذا عزلت هذه البكتريا بنسبة 37.29% من مجموع مختلف العزلات السريرية (البراز, مسحات الاذن الوسطى ,الحروق, الادرار, الدم) بواقع 69 عزلة . وكانت اعلى نسبة عزل لبكتريا *P.mirabilis* من عينات البراز بنسبة 12.02% من 19عزلة , وتأتي مسحات الاذن الوسطى بالمرتبة الثانية في عزل *P.mirabilis* وبنسبة 9.18% بواقع 24 عزلة , اما عينات الحروق والادرار فسجلتا نسباً متساويةً 8.64% بواقع 16 عزل من كل منهما ,عينات الدم فكانت بنسبة 0.54 % لعزلة واحدة فقط . أما الانواع الاخرى العائدة لجنس المتقلبات فُعزلت بنسبة 8.64% بواقع 16 عزلة . أذ كانت عزلات البراز بنسبة 6 (3.24%) , اما الادرار ومسحات الاذن الوسطى فكانت بنسبة 4(2.16) لكل منهما ,وكانت نسبة العزل من التهاب الحروق 12.5% لعزلتين فقط . ولم تعزل من حالات تجرثم الدم . يمكن ان يعزى التفاوت في نسبة عزل النوع *P.mirabilis* وانواع المتقلبات الاخرى الى وجود هذه البكتريا في امعاء الانسان أذ تعد بكتريا *P.mirabilis* جزء من المستنبت الطبيعي لأمعاء الانسان اذ يوجد بنسبة 25% من مجموع البكتريا المعوية, اما قلة عزل الانواع الاخرى للمتقلبات يعود الى انها لاتتواجد بكثرة في المستنبت الطبيعي في امعاء الانسان (Shoff and Green Mackenzie , 2007) . والجدول (4-2) يوضح النسب المئوية لعزل أنواع بكتريا المتقلبات .

**جدول (4-2) النسب المئوية لعزل انواع بكتريا *Proteus* spp من المصادر السريرية المختلفة**

| *Proteus* spp | المصدر | | | | | النسبة المئوية الكلية |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | البراز | الادرار | الاذن | الحروق | الدم | |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ***P. mirabilis*** | (12.02) 19 | (8.64) 16 | (9.18) 17 | ( 8.64) 16 | (0.54) 1 | (%37.29)69 |
| ***Other Proteus spp*** | (3.24)6 | (2.16)4 | (2.16)4 | (1.08)2 | 0(0) | (%8.64)16[B] |

- **ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة36.129 اكبر من الجدولية $X^2$ 15.507 إذاً توجد فروق معنوية**

ان اعلى نسبة عزل بكتريا *P.mirabilis* كانت من عينات البرازبنسبة 12.02%, تقاربت نتيجة دارسة الحالية مع دراسة AL-Jumaa(2011) إذ عزلت بكتريا المتقلبات من عينات البراز بنسبة 20% ,في حين عزل الباحث Abbas (2015) هذه البكتريا من عينات البراز بنسبة قليلة 5.9% .أما الباحث Al_Mayahi ( 2016) فقد عزلها بنسبة اعلى من النسب المذكورة 36.7% . من خلال نتائج الدراسة الحالية والدراسات الحديثة تبين بأن المتقلبات تسبب كثير من التهاب القناة المعوية وذلك لان هذة الممرضات انتهازية وبالاضافة الى ذلك تتواجد في الامعاءبصورة طبيعية وبسب توفر الظروف الملائمة لها تصبح ممرضة وخاصة في الاونة الاخيرة أذ تعرضت البيئة للملوثات المختلفة (Jacobsen & Shirtliff, 2011: Pellegrino *et al.*,2013) .

عزلت بكتريا *P.mirabilis* من التهابات الاذن الوسطى بنسبة 9.18% تقاربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Al-Duliami (2011) أذ عزل *P.mirabilis* من التهابان الاذن وبنسبة 10.4% , أما نوفل والقوتلي (2016) في سوريا عزلا بكتريا *P.mirabilis* من التهاب الاذن بنسبة 12.24 % ,أما دراسة Zuhir and Alaubydi (2016) فقد عزلا البكتريا بنسبة 26.6% ,أما Al_Mayahi( 2016) عزل بكتريا*P.mirabilis* بنسبة 26.3%, بينما عزل الباحث Abbas (2015) بكتريا*P.mirabilis* من التهاب الاذن بنسبة 17.6% , 6.25 % كل منهما على التوالي , في حين عزل جعاز ومجهول (2010) بكتريا *P. vulgaris* من التهاب الاذن بنسبة 6.15 %.

عُزلت بكتريا *P. mirabilis* من عينات الادراربنسبة 8.64 % تقاربت هذه النتيجة مع دراسة الباحث Kwiecinska-pringo وجماعتة (2016)عزل كل من *P.mirabilis* و *P.vulgaris* من الادرار بنسبة 12.5% . اما فليح وعلي (2014)

فقد عزلا كل من *P.mirabilis* و *P.vulgaris* من الادرار بنسبة 11.47% و3.27% على التوالي . في حين عزل الباحثان Zuhir and Alaubydi (2016) من بكتريا *P.mirabilis* من التهاب المجاري البولية بنسبة 45%,أما الباحث Pal وجماعتة (2014) عزلوا كل من *P.mirabilis* بنسبة 62.37% و P.*vulgaris* بنسبة 29.70 % و*P.penneri* بنسبة 7.92%من التهاب المجاري البولية ,بينما عزل الباحث Alsheree وجماعتة (2016) *P. mirabilis* من الادرار وبنسبة اعلى من النسب المذكورة 78.6%.

اكدت الدراسات ارتفاع نسبة المتقلبات بالادرار لان هذه البكتريا تكون متواجدة بشكل طبيعي في القناة المعوية وعندما تنتقل الى الاحليل تؤدي الى حدوث ألتهابات المسالك البولية. وان إمراضية بكتريا *P.mirabilis* تعود لامتلاك البكتريا مقاومة عالية للمضادات الحياتية وأن المرضى يتعاطون المضادات قبل اجراء التحليلات المختبرية والاستشارارت الطبية اللازمة,مما أدى الى تطور المقاومة من قبل السلالات تجاه المضادات الحديثة (Corker *et al.*, 2000). كما وان وجود القثطار البولية الذي يعد عاملاً مهماً في صعود الاحياء المجهرية الى المثانة وذلك بسبب تلامس السطح الخارجي لانبوب القثطار مع جدار الاحليل او الجلد الذي يحيط بالفتحة البولية (U-Syn Ha and Yong-Hyun Cho,2006) .

عُزلت بكتريا *P.mirabilis* من التهابات الحروق بنسبة 8.64% وتقاربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة الباحث Al-Jumaa (2011) أذ عزلت كل من *P. mirabilis* و*P. vulgaris* من التهابات الحروق بنسبة 13.33% لكل منهما. في حين عزل Al_Mayahi(2016) بكتريا *P. mirabilis* من التهابات الحروق بنسبة 26.3% . قد أشارت أحصائية منظمات الصحة العالمية WHO(2001) ان حوالي ٨٠% من الاشخاص الذين يتعرضون للحروق وخاصة من الدرجة الثانية يتسبب في موت الاشخاص المحترقين وذلك بسب ضعف مناعة المرضى وقلة مقاومتة للاجسام الغريبة . لذلك في هذه الدراسة يمكن الاستنتاج بان نسبة عزل بكتيريا *P.mirabilis* من التهابات الحروق لا تخلو من الخطورة التي قد تهدد حياة المرضى المصابين بالحروق وخاصة الشديدة منها.

عُزلت بكتريا *P.mirabilis* من الدم بنسبة 0.54% تقاربت نتائج هذه الدراسة مع دراسة الباحث Pal وجماعتة (2014) أذ عزل بكتريا *P.mirabilis* من حالات تجرثم الدم بنسبة 0.58% , في حين عزل الباحث Senthamarai وجماعتة (2015) بكتريا *P.mirabilis* من الدم بنسبة 2.5% . أما الباحثWang وجماعتة (2014) عزل هذه البكتريا من الدم بنسبة 13.7% ,في حين عزل الباحث Chi-Yu chen وجماعتة (2012) اعلى نسبة لبكتريا *P.mirabilis* من حالات تجرثم الدم وبنسبة 35.07%. تعد بكتريا *P.mirabilis* من الجراثيم الخطيرة التي تكون مسؤولة عن العديد من الأمراض مثل bacterimia وحالات تسمم الدم ويعد تجرثم الدم من الحالات المرضية التي تعد نسبة انتشارها كبيرة , أذ وجُد دراسة في الهند أن الأطفال هم الأكثر عرضة للإصابة بحالات تجرثم الدم (Mahapatra *et al* ., 2002).

### 4-2-1:الصفات الزرعية Cultural characteristic

ظهرت المستعرات النامية على وسط اكار الماكونكي MacConkey Agar بشكل مستعمرات مفردة شاحبة اللون ، متوسطة الحجم وذات حافات ملساء وغير مخمرة لسكر اللاكتوز فضلا عن رائحة النمو البكتيري التي تكون متشابهة لرائحة نموالسمك المتعفن، وظهرت الحركة التموجية (Swarrming) على اكار الدم Blood Agar إذ تعد هذه صفة تشخيصية اولية لبكتريا المتقلبات .

### 4-2-2:الصفات المجهرية Microscopic characteristic

بينت نتائج الفحص المجهري والتي قد استعملت فيها صبغة غرام للشرائح المحضرة من المستعمرات المفردة لكي يتم التعرف على شكل الخلايا البكترية اذكانت النتيجة عصيات سالبة لصبغة غرام قصيرة غير مكونة للسبورات .

### 4-2-3:الفحوصات الكيميوحيوية Biochmical Test

استخدمت الفحوصات الكيميوحيوية التشخيصية للعزلات قيد الدراسة وكانت هذه الفحوصات مكملة للتشخيص الاولي لبكتريا *P.mirabilis* ,والغرض من الفحوصات

الكيموحيوية هي لتأكيد تشخيص اجناس البكتريا *P.mirabilis* والملحق (1) يوضح هذه الفحوصات , أذ اعطت نتائج موجبة لإختبار الكتاليز في جميع العزلات وذلك لقدرة البكتيريا على انتاج انزيم الكتاليز . واعطت نتيجة سالبة لفحص الاوكسديز وذلك لانها لاتستطيع انتاج انزيم الاوكسديز .

اما بالنسبة لمجموعة إختبارات IMViC والتي شملت اختبارات : ( الأندول , احمر المثيل , فوكس بروسكاور, واستهلاك السترات ) , كانت النتيجة سالبة لفحص الاندول, ويستخدم هذا الفحص للتمييز بين جنس *P.mirabilis* وبقية انواع جنس المتقلبات اذ تكون النتيجة الموجبة تكوين حلقة حمراء نتيجة تحلل الحامض الاميني (التربتوفان) وتحوله الى الاندول وايضا كانت النتيجة سالبة لفحص فوكس- بروسكاور , واعطت نتيجة موجبة لإختبار احمر المثيل واختباراستهلاك السترات, كما واظهرت جميع عزلات بكتريا *P.mirabilis* قدرتها على تخمر كل من سكر السكروز والكلوكوز واعطت غازاً وراسباً اسود على الوسط دلالة على انتاج كبريتيد الهيدروجين $H_2S$ كما في الملحق (1) .

### 4-2-3-1:تشخيص بكتريا *P.mirabilis* بنظام API-20E

إستخُدم نظام تشخيص البكتريا المعوية Analytical Profile Index - 20E كتشخيص تأكيدي لعزلات *P.mirabilis* , يعُدّ هذا الفحص جانبا مهما من الاختبارات الكيموحيوية في تشخيص البكتريا. أذ يتميز هذا النظام بسرعة التحري عن البكتريا بدون الحاجة الى الاوساط الزرعية العديدة و يخفض بذلك من التلوث الزرعي الذي يحصل , ويتضح من الشكل (4-1) والملحق (2) نتائج الاختبارات الكيموحيوية لبكتريا *P.mirabilis* المعزولة من العينات السريرية بأستخدام نظام API-20E.

### 4-2-3-2:تشخيص بكتريا *P.mirablis* باستخدام جين*16S rRNA*

اظهرت النتائج بعد استخلاص الـ DNA وتشخيص عزلات بكتريا *P.mirabilis* بأستخدام تقنية تفاعل سلسلة البلمرة PCR Monoplex وباستخدام الجين gene *16S rRNA* الذي يستخدم للتفريق بين انواع الجنس الواحد اذ استخدمت بادئات نوعية تستهدف جين RNA 16S بهدف التشخيص الدقيق لعزلات

*P.mirabilis* وترحيله كهربائيا والكشف عنه بأستخدام صبغة الايثيديوم بروماید وفحصة تحت الاشعة فوق البنفسجية Ultra violate (UV) , إحتواء جميع عُزلات بكتيريا *P.mirabilis* على الجين *16S rRNA* gene كما في الشكل (4-2) أذ يُمثّل المورثة التشخيصيّة لهذه البكتيريا , مما يُثبت عائدية الـ69 عزلة لبكتيريا *P.miraiblis* , تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة الباحث خلف وجماعتة (2014) أذ أستخدم بادئات نوعية متخصصة للكشف عن بكتريا المتقلبات إذ اثبت خلال دراستة عائدية 36 عزلة معزولة من التهاب المجاري البولية الى نوع *P.mirabilis* .

## 4-3: انتشار عزلات *P. mirablis* وتوزيعها بحسب الجنس والعمر.

## Incident and distribution of *P.mirabils* isolates based on age and gender.

صنُفت الدراسة الحالية المصابين إلى ست فئات عمرية ابتداء بالسنة الواحدة وانتهاء عند السنة الخمسين فاكثر كما موضح في جدول (4-3) . سجلت الدراسة الحالية أعلى نسبة إصابة ببكتريا *P.mirabilis* في الفئة العمرية 21-30 سنة بنسبة 34.78% , تلتها الفئة العمرية 31-40 سنة والتي سجلت نسبة 13.4%,كما موضح في الجدول (4-3). في حين سجل الباحث Pal وجماعتة (2014) للفئة (20-29) بنسبة 21.78% ,والفئة (30-39) بنسبة 17.82%, أما الباحث Alsheree وجماعتة (2016) في محافظة النجف سجل نسبة اصابة ببكتريا *P.mirabilis* عند الفئة العمرية (31-51) 78.9%. بينما وجد الباحث Anand (2016) خلال دراستة في الهند أن اقل نسبة أصابة ببكتريا *P.mirabilis* عند الفئة العمرية (21-30) بنسبة 8%, والفئة (31-40) بنسبة 12%. وترجع اسباب تعرض هذه الفئات اكثر من غيرها للاصابة بالبكتريا المرضية ومنها بكتريا *P.mirabilis* لان هذه الفئات تتمثل بالفئات العمرية العاملة والتي قد تتعرض إلى الكثير من الملوثات أثناء العمل مما يؤدي الى تشجيع نمو العوامل المرضية وتطورها .

سجلت الدراسة الحالية أقل نسبة إصابة في الفئة العمرية 1-10 سنة والفئة العمرية 11-20 سنة بنسبة 11.59% كل منهما كما موضح في الجدول (4-3). وتقاربت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة الباحث Anand (2016) فسجل نسبة اصابة 8% في

الفئة (21-30) , اما الباحث Wang وجماعة (2014) فقد سجل للفئة اقل من 18 سنة بنسبة أصابة 9.2% . في حين كانت نتائج الباحث Alsheree وجماعة (2016) في تسجل اعلى نسبة اصابة في الفئة العمرية (10-30) 89.5 %.

وسجلت الدراسة الحالية نسبة إصابة عالية في الفئات العمرية 41-50 سنة و اكبر من51سنة , اذ كانت نسبة الإصابة ببكتريا *P.mirabilis* 10.14% و 18.84% على التوالي كما في الجدول (4-3) . تقارب هذه النتيجة لما توصل اليه الباحث Hiari (2016) الذي سجل للفئة العمرية (40-61) نسبة أصابة 18% و سجل Anand وجماعة (2016) نسب أصابة عالية ضمن الفئة العمرية (51-60) 34%,والفئة العمرية اكثر من60 بنسبة 24%.اما الباحث Alsheree وجماعة (2016) فسجل نسبة أصابة في الفئة العمرية (52-62) 25%.في حين سجل الباحث Pal وجماعة (2014) نسبة أصابة ببكتريا *P.mirabilis* للفئة العمرية (50-59) 0.99%, والفئة العمرية اكثر من 60 فكانت النسبة1.98 %.

وقد يعود السبب في اصابة هذه الفئات بالاصابات البكترية ذلك لكون الاعمار المتطرفة (الاطفال وكبار السن ) وخاصة كبار السن الذين يعانون من امراض مزمنة والذين يتعاطون ادوية مثبطة للمناعة , يكونوا اكثر تعرض للاصابة بسبب ضعف الجهاز المناعي لهذه الفئات العمرية مقارنة بالفئات العمرية الاخرى ; CDC , 2001) Brooks *et al*.,2007)

**جدول(4-3) توزيع عزلات *P.mirabils* بحسب العمر من الحالات السريرية المختلفة**

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

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **(%10.14)7$^{A}$** | **0(0)$^{Aa}$** | **(1.44)1$^{Aa}$** | **(2.89)2$^{Aa}$** | **(2.89)2$^{Aa}$** | **(2.89)2$^{Aa}$** | **41-50** |
| **(%18.84)13$^{A}$** | **0(0)$^{Ab}$** | **(1.44)1$^{Aab}$** | **(7.24)5$^{Aa}$** | **(4.34)3$^{Aa}$** | **(5.79)4$^{ABa}$** | **>51** |

- **ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة 43.228 اكبر من الجدولية $X^2$ 41.337 إذاً توجد فروق معنوية .**
- **تدل الحروف الكبيرة على النتيجة الاحصائية العمودية ، في حين تدل الحروف الصغيرة على النتيجة الاحصائية الافقية . تدل الحروف المختلفة بين اي قراءتين على وجود فروقات معنوية في حين تدل الحروف المتشابهة على عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية 5%**

أما بالنسبة لتوزيع الحالات المرضية للجنس المريض فقد سجلت الدراسة الحالية اصابة الإناث ببكتريا *P.mirabilis* بنسبة أعلى 57.97 % مقارنة بالذكور42.02% والموضحة في جدول (4-4) , جاءت نتائج الدراسة الحالية مقاربة لما توصل اليه الطائي وناجي (2013) أذ سجل الاناث نسبة أصابة ببكتريا *P.mirabilis* 57.2% اما الذكور بنسبة 42.8 %. اما دراسة عدنان وجماعتة (2014) تقاربت نتائجه عند دراستة التهاب المسالك البولية لنتائج الدراسة الحالية إذ سجل نسبة أصابة 61.53 % عند الاناث و 38.46% عند الذكور. في حين سجل الباحث Senthamarai وجماعتة (2015) نسبة أصابة لذكور اعلى من الاناث 63.6% , اما نسبة أصابة الاناث فكانت 36.4% . وكذلك الباحث Anand وجماعتة (2016)أذ سجل أصابة الذكور بنسبة 78%, اما الاناث بنسبة 22 %, اما الباحث Pal وجماعتة (2014) فقد سجل أصابة الذكور بنسبة 74.25 %, والاناث 25.74% , تصيب بكتريا *P.mirabilis* الكبار والصغار من كلا الجنسين، وخاصة النساء تكون أكثر عرضه لأستعمار بكتريا *P.mirabilis* خصوصا في اخماج المسالك البولية قد يرجع السبب الى بقاء محيط الاحليل رطبا وبالإضافة الى قصر الاحليل مما يزيد من التعرض للإصابة عن طريق صعود المسبب المرضي الى المسالك البولية (Freedman ,2005 ).

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

| **مصدر / جنس** | **البراز** | **الاذن** | **الادرار** | **الحروق** | **الدم** | **مجموع** |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **الاناث** | **(%10.14)7** | **(%14.49)10** | **(17.39)12** | **(15.94)11** | **--** | **(%57.97)40$^{A}$** |

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| الذكور | (17.39)12 | (10.14)7 | (%5.79)4 | (7.24)5 | (1.44)1 | (%42.02)29$^{A}$ |

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

**جدول(4-5) عزلات *P.mirabils* بحسب الجنس والعمر من الحالات السريرية المختلفة**

| جنس / فئات العمرية | الاناث | الذكور | مجموع |
|---|---|---|---|
| 10-1 | (4.34)3 | (7.24)5 | (%11.59)8$^{A}$ |
| 20-11 | (7.24)5 | (4.34)3 | (%11.59)8$^{A}$ |
| 30-21 | (13.4)9 | (21.73)15 | (%34.78)24$^{B}$ |
| 40-31 | (10.14)7 | (2.89)2 | (%13.04)9$^{A}$ |
| 50-41 | (7.24)5 | (2.89)2 | (%10.14)7$^{A}$ |
| >51 | (15.94)11 | (2.89)2 | (%18.84)13$^{A}$ |

- ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة 26.41 اكبر من الجدولية $X^2$ 11.07 اذاً توجد فروق معنوية.كما و تدل الحروف المختلفة بين اي قراءتين على وجود فروقات معنوية في حين تدل الحروف المتشابهة على عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية 5%

## 4-4: اختبار فحص الحساسية Antibiotic Sensitivity Test

استخدم اختبار فحص الحساسية للمضادات الحياتية والبالغة 15مضاداً حياتياً, حيث اختيرت هذه المضادات لكثرة استخدامها وتداولها صحيا في معالجة بعض الأخماج الناتجة عن الإصابة ببكتيريا *P.mirabils* والجدول (4-6) يوضح نسب المقاومة والحساسية وما بينهما لبكتيريا المتقلبات تجاه المضادات المستخدمة خلال الدراسة إذاعتمد على نتائج الفحص من خلال قياس قطر منطقة التثبيط حول قرص المضاد ومقارنتها مع الجداول القياسية (CLSI ,2012) ,وذلك لتعرف على مدى قابلة البكتيريا على مقاومتها للمضادات الحياتية التي يكثر استعمالها في مستشفيات مدينة الديوانية وخطورة هذه المقاومة التي امتد ليشمل طيفا واسعاً من المضادات الحياتية المتنوعة.

وسجلت نتائج الدراسة الحالية نسبة مقاومة بكتريا *P.mirabils* لمضاد الاموكسيلين 84.05% إذ تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث Wang وجماعتة (2014) أذ كانت مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الاموكسيلين بنسبة 83.6%. اما الباحثان الطائي وناجي (2013) فقد سجلا نسبة مقاومة تامة لمضاد الاموكسيلين بنسبة 100%.في حين كانت نتائج الباحث Kwiecinska-Pirog وجماعتة (2016) قد سجلت نسبة مقاومة قليلة 12.5%.

وسجلت بكتريا *P.mirabilis* نسبة مقاومة لمضادالامبسلين 84.05% تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث A.Bahashwan (2013) في مدينة بنكلادش أذ كانت مقاومة البكتريا بنسبة 86%. بينما سجل الباحث Ahmed (2015) نسبة مقاومة مرتفعة عن الدراسة الحالية فأظهرت مقاومة كلية وبنسبة 100%. في حين قام الباحث Wang وجماعتة (2014) بتسجيل نسبة مقاومة لبكتريا المتقلبات اقل من الدراسة الحالية 39.3%.وكذلك سجل الباحث Senthamarai وجماعتة (2015) نسبة مقاومة قليلة 8.26%.

أما مقاومة بكتريا *P.mirabilis* في الدراسة الحالية لمضاد الاموكسيلين- كلافيولانك أسد فكانت 47.82%,أذ تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث الحسو وخلف (2016) أذ سجلا نسبة مقاومة للبكتريا 50%, بينما سجل الباحث Perween وجماعتة (2016) بنسبة مقاومة 94.3%. ولكن سجل Gupta وجماعتة (2014) نسبة مقاومة تامة الاموكسيلين- كلافيولانك أسد التي بلغت 100 %.

قاومت بكتريا *P.mirabilis* مضاد التيكراسيلين في الدراسة الحالية وبنسبة 66.66% . في حين سجل الباحث Zenati وجماعتة (2014) مقاومة تامة لبكتريا *P.mirabilis* لمضاد التيكراسيلين . ان استعمال التيكراسيلين يؤدي الى مقاومة عالية من خلال تغير موقع الهدف أذ تحدث هذه المقاومة من خلال خفض فعالية المضاد الحياتي عند مروره عبر أغشية الخلية البكترية (Ryan and Ray, 2004) .

أما مقاومة بكتريا *P.mirabilis* في الدراسة الحالية لمضاد السيفتازيديم كانت بنسبة 66.66% , تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحث Hussein وجماعتة (2013) أذ كانت نسبة مقاومة البكتريا لمضاد السيفتازيديم بنسبة 48.1% , بينما سجل الباحث Senthamarai وجماعتة (2015) بنسبة مقاومة البكتريا

للسيفتازيديم 26.4% اما الحسو وخلف (2016) فكانت نسبة المقاومة 25% أقل من النسبة المذكورة .في حين وجد الباحث Trevino وجماعتة (2012) أن مقاومة بكتريا *P.mirabilis* عاليةجدا لمضاد سيفاتوكزيم وبنسبة 97 %.

اما مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد السيفوتاكسيم بنسبة مقاومة 53.62% , تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل الية الباحث Pal وجماعتة (2014) أذ كانت نسبة مقاومة بكتريا *P.mirabilis* 54 % , اما A.Bahashwan (2013) فقد سجل نسبة مقاومة البكتريا لمضاد السيفوتاكسيم 62.2% , بينما سجل الباحث Perween وجماعتة (2016) نسبة مقاومة لهذه البكتريا 71.8 %., لكن سجل الباحث Ahmed (2015)نسبة مقاومة اقل مما ذكر في الدراسات اعلاه 35%. بين سلمان (2008) ان جميع عزلات *P.mirabilis* المنتجة والتي لاتنتج انزيمات البيتالاكتاميز مقاومة لمضاد السيفوتاكسيم أذ لابد لهذه البكتريا أن تحتوي على آليات اخرى لمقاومة السيفالوسبورينات.وأن مقاومة البكتيريا *P.mirabils* في دراسة الحالية لمضادي السيفوتاكسيم والسيفتازيديم قد يعود السبب الى عدم قدرة مرور هذه المضادات عبرالغشاء للبكتيريا (Brooks *et al* ., 2007) .

مضاد الميروبنيم فسجلت البكتريا نسبة مقاومة له 4.34% , تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل الية الباحث Perween وجماعتة (2016) أذ سجل نسبة مقاومة *P.mirabilis* لمضاد الميروبنيم 5.6%. اما الباحث Pal وجماعتة (2014) سجل نسبة مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لهذا المضاد 6 %. بينما توصل الباحثان الحسو وخلف (٢٠١٦) الى ان نسبة مقاومة بكتريا *P.mirabilis* للميروبنيم 0% وحساسية 100%.وكذلك سجل الباحث Ojdanaوجماعتة (2014) مقاومة بكتريا *P.mirabilis* للميروبنيم 0% وحساسية 100%. أن المقاومة لمضادات الكاربابنيم من قبل البكتيريا السالبة لصبغة گرام اصبحت متزايدة,ويعود السبب في هذه زيادة في المقاومة هو الاستخدام العشوائي والواسع لهذه المضادات لذلك اصبحت من المشاكل التي تشكل خطرا بالعراق , و ترتبط هذه المقاومة بوجود عوامل عديدة ومنها : انزيمات البيتالاكتام المعدنية MBL , وانزيمات OXA والعناصر الوراثية المتنقلة , وقد اشارت الى ذلك العديد من الدراسات السابقة في العراق Fayroz-Ali (2012) و Al-Mayahi (2013) و Al-Shara (2013).

في الاونه الاخيرة ومن خلال العديد من الدراسات اظهرت بأن عزلات بكتريا *P.mirabilis* بتزايد ملحوظ في مقاومتها لمضادات البيالاكتم,أذ تعود المقاومة العالية لبكتريا المتقلبات لهذه المضادات الى أرتفاع انتاج انزيمات البيتالاكتاميز والتي تعمل هذه الانزيمات على حماية البكتريا من خلال مهاجمتها حلقة البيتالاكتم الموجودة في نواة البنسلين والسيفالوسبورينات او الى احد ميكانيكيات المقاومة ومنها تقليل نفاذية الجدار الخارجي و تحوير موقع الهدف للمضاد (Guilfoile , 2007) , كما وتمتلك بكتريا عائلة المعوية انظمة الدفق التي تساهم هذه الانظمة وبشكل كبير في التعبير عن المقاومة لمضادات البيتالاكتام عن طريق طرح المضاد من داخل الخلية الى خارجها (Khalili *et al*.,2012 :Aghazadeh *et al* ., 2014 ).

سجلت نتائج الدراسة الحالية مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الامينوكلايكوسيدات المتمثلة بمضاد الأميكاسين بنسبة مقاومة 17.39% تقاربت نتائج هذه الدراسة مع دراسة الباحث Hasanin وجماعتة (2014) أذ سجلوا نسبة مقاومة لبكتريا *P.mirabilis* لمضاد الأميكاسين 36.4% ,اما الباحث Ojdanaوجماعتة (2014) فسجل نسبة مقاومة لهذه البكتريا 58.3 %,سجل الباحث Kwiecinska-Pirog وجماعتة (2016) أقل نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الأميكاسين 5.0% , بينما سجل الباحث Perween وجماعتة (2016) بنسبة مقاومة عالية لهذه البكتريا 84.5 % ,اما الباحث Trevino وجماعتة (2012) نسبة مقاومة البكتريا 100%.

أما نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الجنتامايسين في الدراسة الحالية فقد بلغت 33.33%, أذ تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل الية Senthamarai وجماعتة (2015) أذ سجلوا نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الجنتامايسين 28.9%, أما الباحثان Zuhir & Alaubydi (2016) فسجلا نسبة مقاومة البكتريا لمضاد الجنتامايسين 53.2 % , اما Ahmed (2015) سجل نسبة مقاومة مرتفعة البكتريا لمضاد الجنتامايسين عن الدراسة الحالية 65% , بينما سجل الباحث Perween وجماعتة (2016) بنسبة مقاومة عالية للبكتريا 88.7 % , في حين سجل الباحثOjdana وجماعتة (2014) نسبة مقاومة 100 %. تقاوم البكتريا الأمينوكلايكوسيدات المتمثلة بمضاد الاميكايسين وجنتامايسين عن طريق حدوث تغير في موقع الهدف (30S) من الرايبوسوم حيث تحدث طفرة في الموقع (30S) مؤدية الى قلة نفاذية جزئيات المضاد عبر الغشاء. (Guven,2004) . او عن طريق انظمة الدفق الفعالة أوتحوير

نفاذية الجدار الخارجي هذا يؤدي الى تحوير جزيئية المضاد وتؤدي الى فقدان فعاليته (Aghazadeh *et al* ., 2014).

سجلت بكتريا *P.mirabilis* نسبة مقاومة لمضادات الكوينولينات المتمثلة بحامض النالديكسيك 75.36%, ومضاد السبروفلوكاسين Ciprofloxacin فكانت نسبة مقاومة 4.34% وكانت معظم العزلات حساسة لهذا المضاد, تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه الباحثA.Bahashwan (2013) أذ سجل نسبة مقاومة البكتريا لمضاد حامض النالديكسيك 88.9 %.أما الباحث Kwiecinska-Pirog وجماعتة (2016) فقد سجلوا نسبة مقاومة البكتريا لمضاد السبروفلوكاسين 15.0 %. اما الباحثان Zuhir&Alaubydi (2016) سجلا نسبة مقاومة البكتريا لمضاد السبروفلوكاسين 69.2 % , بينما سجل الباحث Perween وجماعتة (2016) نسبة مقاومة البكتريا لمضاد السبروفلوكاسين عالية 86% .

تملك مضادات الكينولينات فعالية كبيرة تجاه البكتيريا السالبة, وكذلك قابليتها على الاختراق ممتازة وتأثيرها الجانبي قليل (Anvarinejad *et al*., 2011 ), أذ تعمل مضادات الكينولينات على تثبيط تضاعف دنا DNA البكتريا وبواسطة حدوث طفرات في الجينات التي تشفر لانتاج DNA Gyrase وانزيم Topoisomerase II وان هذه الانزيمات تكون مسؤولة عن الخواص الفعالية البايبلوجية و الفيزيو كيميائية لـــDNA البكتريا (Harvey *et al* ., 2006) .

أظهرت نتائج الدراسة الحالية مقاومة بكتريا *P.mirabilis* لمضاد الترايميثوبريم نسبة 75.36% , تقاربت نتائج الدراسة الحالية لما توصل اليه Hussein (2013) أذ سجل نسبة مقاومة البكتريا المعزولة من التهاب المجاري البولية في مستشفيات مدينة النجف لمضاد الترايميثوبريم 63.5% ,اما الباحث Nahar وجماعتة (2014) فسجلوا نسبة مقاومة لهذه البكتريا 66.7 %.تقاوم البكتريا *P.mirabilis* المضاد ترامیثوبريم بواسطة انتاج انزيمات ايضية غير حساسة لهذا المضاد او بواسطة تحوير نفاذية غشاء الخلية أذ تمنع دخول المضاد الى الموضع الهدف , قد يعود السبب في زيادة المقاومة لهذه المضادات من حدوث طفرة في الجين التركيبي لانزيم Dihydrofolate reductase (Fluit *et al*., 2001 ).

أمـا مقاومـة بكتريـا *P.mirabilis* لمضـاد الكلورامفينيكـول فكانـت بنسـبة 82.60% ,تقاربـت نتـائج الدراسـة الحاليـة مـع دراسـة الباحثـان Zuhir&Alaubydi (2016) سـجلا نسـبة مقاومـة بكتريـا *P.mirabilis* لمضـاد الكلورومفينكـول 62.5 %. امـا Felgo (2010) فسـجل نسـبة مقاومـة البكتريـا للكلورامفينيكـول 65% , بينمـا الباحـث Trivedietal وجماعتـة (2016) وجـد بـأن البكتريـا حساسـة بصـورة كاملـة لمضـاد الكلورامفينيكـول وبنسـبة 100 %. يعمـل لمضـاد الكلورامفينيكـول علـى منـع تصـنيع البـروتين مـن خـلال ارتباطـة مـع الوحـده الرايبوسـومية 50S يمنـع بـذلك تكـوين الاصـرة الببتيديـة وذلـك عـن طريـق الانزيمـات Chloramphenicol acetyl transferase التـي تعمـل علـى تحويـل المضـاد الـى 3-Acetoxychloramphenicol والـذي بـدوره يتحـول الـى 1-3-Diacetoxychloramphnicol وهـذه النـواتج المشـتقه تكـون غيـر فعالـة كمضـادات حياتيـة وذلـك بسـبب فشـل ارتباطهـا بالوحـده الرايبوسـومية 50S ( Fluit .( *et al*., 2001

سـجلت الدراسـة الحاليـة مقاومـة بكتريـا *P.mirabilis* لمضـاد التتراسـايكلين بنسـبة 82.60% , تقاربـت هـذه النسـبة مـع دراسـة الباحـث Nahar وجماعتـة (2014) أذ سـجل نسـبة مقاومـة البكتريـا لمضـاد التتراسـايكلين 94.4% . ان اسـتخدام مضـاد التتراسـيكلين بشـكل واسـع يـؤدي الـى زيـادة نسـبة السـلالات المقاومـة فـي معظـم انـواع العائلـة المعويـة ممـا يـؤدي الـى تقليـل مـن الاهميـة العلاجيـة لهـذا المضـاد ,أذ يعمـل هـذا المضـاد علـى تثبـيط تصـنيع البـروتين فبـي البكتريـا مـن خـلال تـأثيره علـى عمليـة الترجمـة وذلـك عـن طريـق ارتباطـه مـع الجـزء 30S مـن الريبوسـوم البكتيـري وتمنـع بـذلك ارتبـاط aminocyl tRNA مـع الريبوسـوم فيـؤدي ذلـك الـى ايقـاف تصـنيع سلسـلة الببتيـد المتعـدد (Chopra .and Robertes, 2001 ;Todar, 2002; Prescott *et al*., 2005)

أمـا مقاومـة بكتريـا *P.mirabilis* لمضـاد الريفـامبين فكانـت بنسـبة 91.30% , تقاربـت نتـائج الدراسـة الحاليـة مـع دراسـة الباحثـان Zuhir&Alaubydi (2016) أذ سـجلا نسـبة مقاومـة البكتريـا لمضـاد الريفـامبين 93.7 %. بينمـا سـجل الباحـث Saedi

Al- وجماعتـه (2013) نسـبة مرتفعـة عـن النسـب الحاليـة أذ كانـت مقاومـه هـذه البكتريـا لمضـــاد الريفـــامبين 100% . يقـــع مضـــاد Rifambin ضـــمن مجموعـــة الـــIsoniazid التـي تعمـل علـى تثبـيط نمـو الخلايـا البكتريـة عـن طريـق التـداخل وبقـوة مـع أنـزيم البلمـرة DNA-dependent RNApolymerase أذ عنـد اتحـاده مـع هـذا الانـزيم فـي الموقـع المتواجـد علـى DNA مؤديـا الـى ايقـاف عمليـة الاستنسـاخ الـ RNA (Fluit *et al.*, 2001) .

**جدول (4-6) النسب المئوية لعزلات بكتريا *P.mirabilis* المقاومة للمضادات الحياتية**

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

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| **(4.34)3** | **(2.89)2** | **(92.75)64** | **CIP** | **Ciprofloxacin** |
| **(75.36)52** | **(7.24)5** | **(17.39)12** | **TS** | **Trimethoprim** |
| **(82.60)57** | **(8.69)6** | **(8.69)6** | **C** | **Chloramphenicol** |
| **(82.60)57** | **(13.4)9** | **(4.34)3** | **T** | **Tetracycline** |
| **(91.30)63** | **(4.34)3** | **(4.34)3** | **RF** | **Rifampin** |

## 4-5: المقاومة المشتركة لاصناف المضادات الحياتية الأخرى

يوجد العديد من التعريفات للمقاومة المتعددة Multidrug Resistant التي يرمز لها (MDR) والمقاومة الشاملة Extensivedrug Resistant (XDR) والمقاومة الكلية للمضادات المدروسة PandrugResistant (PDR) ولكن من اكثر التعاريف المناسبة لها هي مصطلح (MDR) ويطلق على المقاومة المتعددة للمضادات الحياتية أذ باستطاعة البكتيريا مقاومة ثلاثة أصناف أو أكثر من المضادات الحياتية المستخدمة في الدراسة على أن يكون للبكتيريا القدرة على مقاومة مضاد واحد على الأقل ضمن الصنف.كما وبينت نتائج الدراسة الحالية وجود مقاومة مشتركة بين اصناف المضادات الحياتية الاخرى, والتي لوحظت في كثير من الاحيان في المقاومة لمضادات البيتالاكتم , مما يجعلها تمتلك مقاومة متعددة للمضادات الحياتية المدروسة . أما المقاومة الشاملة (Extensive drug resistance) XDR فتطلق على مقاومة البكتيريا لكل أصناف المضادات الحياتية عدا صنف واحد أو أثنين من هذه الأصناف على ان تكون مقاومة لمضاد واحد على الأقل ضمن الصنف. ويطلق مصطلح( Pandrug resistance) PDR على المقاومة المسجلة لكل أصناف المضادات الحياتية ( Magiorakos *et al* ., 2012) .

سجلت عزلات *P.mirabilis* في الدراسة الحالية نسبة عالية من المقاومة المتعددة (MDR) بنسبة 42(60.86)%كما موضح بالجدول (4-7), تقاربت هذه النتيجة مع الباحث Merli وجماعتة (2015) أذ سجل نسبة الـMDR لعزلات البكتربا 60 %, وسجل الباحث Khawcharoenporn وجماعتة (2013)الـ MDR لعزلات البكتربا

بنسبة 65%, أما دراسة Nahar وجماعتة (2014) في مستشفيات بنكلادش في الصين سجل الـ MDR لعزلات البكتريا بنسبة 83% , في حين سجل الباحث Perween وجماعتة (2016 ) المقاومة المتعددة للبكتريا بنسبة 55%, بينما الباحث Tumbarello وجماعتة (2012) سجل MDR للبكتريا بنسبة 33.3%,أما في اليونان فقد سجل الباحث AlexPoulou (2016) المقاومة المتعددة لاجناس العائلة المعوية ومن ضمنها المتقلبات وبنسبة اقل من النسب المذكورة اعلاه 20.8 %.

ان ألارتفاع في نسب *P. mirabilis* التي تكون ذات مقاومة متعددة للمضادات الحياتية الاكثر استعمالا في مدينة الديوانية تشير الى تفشي السلالات ذات المقاومة المتعددة في المجتمع مما ادى الى صعوبة اختيار المضاد المناسب لعلاج الاصابات التي تسببها البكتريا لذلك فمن الضروري التأكيد على الاستخدامات المثلى للمضادات الحياتية والتقليل من الاستخدام العشوائي لها و ايجاد مضادات حديثة تكون فعالة ضد هذه البكتريا (Karlowsky *et al* ., 2003:Uda and Sunagaqa , 2003).

سجلت عزلات بكتريا *P.mirabilis* في الدراسة الحالية نسبة مقاومة شاملة (XDR) نسبة 24(34.78%) كما هو موضح في الجدول (4-7) ,أذ تقاربت هذة النتيجة لدراسة الباحث Perween وجماعتة (2016 )أذ سجل نسبة المقاومة XDR للبكتريا39.4 %, أما الباحث Pal وجماعتة (2014) في مستشفيات الهند فقد سجلت للبكتريا نسبة المقاومة الشاملة 50%, في حين سجل الباحث Hasanin وجماعتة (2016) في العراق نسبة مرتفعة للبكتريا لمقاومتها الشاملة للمضادات الحياتية 61%. بينما سجل الباحث Merli (2015 ) اعلى نسبة للبكتريا لمقاومتها الشاملة XDR 90%. في حين سجل الباحث AlexPoulou (2016) أقل نسبة XDR لنفس البكتريا المدروسة 10% . ان مشكلة انتشار السلالات ذات المقاومة الشاملة في المستشفيات تكون ذات خطر اكبر من البكتريا ذات المقاومة المتعددة وذلك لمقاومتها لعديد من أصناف المضادات الحياتية وأن مايزيد من خطر هذا النوع من المقاومة هو سرعة انتشارها وارتفاع نسب المقاومة لها أذ تتحول هذة السلالات لتصبح ذات مقاومة كلية لجميع المضادات الحياتية .

أن عزلات *P mirabilis* ذات المقاومة لكل أصناف المضادات الحياتية (PDR) في الدراسة الحالية نسبة 3(4.34) % كما هو موضح في الجدول (4-7), بينما في دارسة الباحث

Pal وجماعتة (2014) خلال دراستة لم تقاوم عزلاتة كل اصناف المضادات الحياتية لذلك كانت نسبة PDR 0% . تزداد هذة المقاومة طرديا مع الوقت وبسبب الاستخدام المتكرر والكبير لكثير من المضادات الحياتية ساعد البكتريا على تطوير مقاومتها وبالاضافة الى ذلك الى انتاجها لانزيمات البيتالاكتاميز التي تعمل على تحطيم مضادت البيتالاكتم ( Vandelden and Iglewski , 1998) .

**جدول (4-7) النسب المئوية للمقاومة المشتركة لبكتريا *P.mirablis* لأصناف المضادات الحياتية المختلفة**

| نوع المقاومة | عدد العزلات المقاومة | عدد الاصناف المقاومة |
|---|---|---|
| **MDR** | **42 (60.86%)** | **>3** |
| **XDR** | **24 (34.78%)** | **8** |
| **PDR** | **3 (4.34%)** | **10** |
| **المجموع** | **69 (100%)** | |

* MDR = Multidrug resistance *XDR = Extensive drug resistance
PDR = Pandrug resistance

- **ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة 48.022 اكبر من الجدولية $X^2$ 5.991 اذاً توجد فروق معنوية.**

## 4-6: انتشار جينات المقاومة لمضادات البيتالاكتم

## Dissemination of β-lactam Antibiotics-Resistance Genes

أن دراسة انتشار جينات المقاومة نوع ***$bla_{TEM}$*** بيتالاكتاميز بين عزلات بكتريا *P.mirabilis* أمراً في غاية ويجب دراستة وبشكل جيد ومعرفة ماتسببه هذه الجينات من أضرار على المضادات الحياتية ومن الضروري ايجاد الطرق لتقليل هذه المقاومة وايجاد العلاج الامثل لهذه البكتريا , ونظر لقلة الدراسات المتخصصة على المستوى الجزيئي عن تواجد ***$bla_{TEM}$*** البيتالاكتاميز واسعة الطيف بين عزلات بكتريا *P.mirabilis* التي تنتشر وبشكل كبير في مستشفيات مدينة الديوانية لذلك صممُت

الدراســـة الحاليـــة للتحـــري عـــن قابليـــة 24 عزلـــة لبكتريـــا *P.mirabilis* ذات المقاومـــة الشــاملة لاصــناف المضــادات بيتــالاكتم خــلال الدراســة علــى انتاجهــا لانزيمــات ***bla<sub>TEM</sub>*** واســـعة الطيــف (ESBLs ***bla<sub>TEM</sub>*** ) بأســتعمال تقنيــة تفاعــل أنـــزيم البلمـــرة PCR. أذ أسـتخدم فـي هـذه الدراسـة تقنيـة الــ SinglePCR للتحـري عـن جـين واحـد فـي التفاعـل الواحـد ،فـي حـين أسـتخدم تقنيـة MultiplexPCR للتحـري عـن جينـات متعـددة فـي نفـس التفاعل (Berg *et al*., 2000).

تمتلـك بكتريـا *P.mirabilis*العديـد مـن آليـات المقاومـة ومـن اكثرهـا شـيوعا و انتشـارا أنتـاج انزيمـات البيتالاكتـاميز واسـعة الطيـف المحللـة لحلقـة البيتـالاكتم,تزداد هـذه الانزيمـات بزيـادة اسـتعمال مضـادات البيتـالاكتم (CLSI ,2012) ويشـفر لهـذه الانزيمـات عـن طريـق الكروموسـومات والبلازميـدات وعـن طريـق البلازميـدات تشـكل أكثـر خطـر وذلـك لسـهولة اكتسـابها وسـرعة انتشـارها بـين أجنـاس العائلـة المعويـة (Bush ,2010) .

تعـد أنزيمـات ***bla<sub>TEM</sub>*** مـن اكثـر انزيمـات البيتالاكتـاميز انتشـارا التـي تعـود الـى الصـنف A الـذي يتـألف مـن ثـلاث مجـاميع رئيسـية مـن الانزيمـات ,*bla* $_{OXA}$,*bla*$_{CTX-M}$,*bla*$_{SHV}$ *bla*$_{TEM}$) ولكـن يعـد ***bla<sub>TEM</sub>*** مـن انواعهـا الرئيسـية وهـذه الانزيمـات علـى الاغلـب تتواجـد فـي *E.coli* و*K.pneumoniae* و*P.mirabilis* (Sharma *et al*.,2010 وغالبـا مـايكون تـوارث هـذه الانزيمـات عـن طريـق البلازميـد , أذ ان الجينـات التـي تشـفر لهـذه الانزيمـات عانـت مـن طفـرات بشـكل مسـتمر ادى ذلـك الـى ظهـور انزيمـات ذات مغـايرات جديـدة ( Bush and Fisher ,2011 ;Mollenkopf ,2012) . يوجـد اكثـر مـن 165مغـاير لجـين الــ*bla*$_{TEM}$ وتكـون هـذه الانزيمـات مقاومـة للمثبطـات انزيمـات البيتالاكتـاميز مثـل Clavulanic acid ( Jacoby and Bush, 2009)، إذ تضـمنت بكتريـا *P. mirabilis* بعـض مشـتقات التـي تعـود **لأنـزيم** ***bla<sub>TEM</sub>*** **وهـي** ***bla<sub>TEM-3</sub>*** , ***bla<sub>TEM-8</sub>***, ***bla<sub>TEM-10</sub>***, ***bla<sub>TEM</sub>*** **-15** ***bla<sub>TEM-20</sub>*** , ***bla<sub>TEM-21</sub>*** , ***bla<sub>TEM-24</sub>*** , ***bla<sub>TEM-26</sub>*** , ***bla<sub>TEM-50</sub>*** ***bla<sub>TEM-52</sub>*** , ***bla<sub>TEM-66</sub>*** , ***bla<sub>TEM-72</sub>*** , ***bla<sub>TEM-92</sub>*** , ***bla<sub>TEM-85</sub>*** ) ( De Champs *et al*., 2001). كمـا ويبـين الجـدول (4-8) انتشـار جينـات المقاومـة لمضـادات البيتـالاكتم فـي العـزلات السـريرية لبكتيريـا *P.mirabilis* وخـلال الدراسـة الحاليـة تـم التحـري عـن

سبع مورثات مقاومة الاكثر شيوعا $bla_{TEM}$ ومنها $bla_{TEM}$ -177, $bla_{TEM}$-89, , $bla_{TEM}$ -160 , $bla_{TEM}$ -156 , $bla_{TEM}$- 72, $bla_{TEM}$ -3, $bla_{TEM}$ -1 .

**جدول(4-8) النسب المئوية لجينات مقاومة مضادات البيتالاكتم لـــ24عزلة لبكتريا *P.mirabilis***

| الجينات المسؤولة عن مقاومة المضادات | عددعزلات بكترياالـ *P.mirablis* | النسبة المئوية % |
|---|---|---|
| $bla_{TEM}$ -177 | 21 | $87.5^{A}$ |
| $bla_{TEM}$ -160 | 19 | $59.38^{B}$ |
| $bla_{TEM}$ -72 | 18 | $56.25^{B}$ |
| $bla_{TEM}$ -1 | 18 | $56.25^{B}$ |
| $bla_{TEM}$ -156 | 17 | $53.13^{B}$ |
| $bla_{TEM}$ -89 | 10 | $31.25^{C}$ |
| $bla_{TEM}$ -3 | 2 | $6.25^{D}$ |

- **ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة 79.953 اكبر من الجدولية $X^2$ 12.832 اذاً توجد فروق معنوية . كما وتدل الحروف المختلفة بين اي قراءتين على وجود فروقات معنوية في حين تدل الحروف المتشابهة على عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية 5%**

اظهرت نتائج الدراسة الحالية اعلى نسبة تواجد للجين المقاومة $bla_{TEM-177}$ ,كانت في 21 عزلة لبكتريا *P.mirablis* بنسبة 87.50% , يتبعه الجين $bla_{TEM-160}$ أذ تواجد في 19 عزلة لبكتريا *P.mirablis* وبنسبة 59.3%, كما موضح في الجدول (4-8)

والشكل (4-3), .لم تتفق هذه الدراسة مع نتائج الباحث Aragon (2008 ) اذ سجل نسبة تواجد جين $bla_{TEM}$ -160 لبكتريا *P.mirablis* بنسبة 0.85%.

اما جين المقاومة $bla_{TEM-1}$ فقد تواجد في بكتريا *P.mirablis* في 18عزلة بنسبة (56.25%) كما هو موضح بالجدول (4-8) والشكل (4-4 ), تقاربت هذة النتيجة مع نتائج دراسة الباحث Jones وجماعتة (2009) اذ سجلوا نسبة تواجد جين $bla_{TEM-1}$ 64%. وفي دراسة اخرى في جنوب الصين التي اجراها الباحث Ping liao (2013) أذ سجل تواجد الجين $bla_{TEM-1}$ بنسبة اعلى من الدراسة الحالية 78%. اما دراسة الباحث Alex (2004) فقد سجل نسبة تواجد $bla_{TEM-1}$ في عزلات البكتريا بنسبة اقل من الدراسات المذكورة 7.7%, اما في دراسة اخرى اجريت أيضاً في الصين من قبل الباحث Hing وجماعتة (2014) أذ سجل نسبة تواجد الجين $bla_{TEM}$ -1 في عزلات بكتريا *P.mirablis* بنسبة 4%.

بينما بلغت نسبة تواجد جين $bla_{TEM-3}$ لبكتريا *P.mirablis* اقل نسبة من انزيمات المقاومة نوع $bla_{TEM}$ وبنسبة 6.25% ولعزلتين فقط كما هو موضح بالجدول (4-8) والشكل (4-4 ),أتفقت نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل الية الباحث Champs وجماعتة (2001) أذ سجل نسبة تواجد جين**$bla_{TEM}$-3** في عزلات بكتريا *P.mirablis* بنسبة6.3%,. سُجل جين$bla_{TEM-3}$ في سنة 1987 كأول نوع مختلف من انزيمات الـ $bla_{TEM}$ حيث يمتلك تزايد في الفعاليه ضد مضادات السيفالوسبورين واسعة الطيف (Bradford, 2001).

اما جين$bla_{TEM-89}$ فقد تواجد في 10عزلات فقط لبكتريا *P.mirabilis* وبنسبة 31.25% كما هو موضح بالجدول (4-8) والشكل (4-5 ), بينما سجل الباحث Neuwith وجماعتة (2001) في دراسته نسبة تواجد جين$bla_{TEM-89}$ لبكتريا *P.mirabilis* بنسبة 6.28 % . اظهرت نتائج الدراسة الحالية نسبة تواجد جين المقاومة جين$bla_{TEM-72}$ في 18عزلة وبنسبة56.25% كما هو موضح بالجدول (4-8) والشكل (4-5 ), وكما شخصه الباحث Perilli (2000) في بكتريا *P.mirabilis* ,كما وأظهرت نتائج الدراسة الحالية أن نسبة تواجد جين جين$bla_{TEM-159}$ في17 عزلة وبنسبة 53.13% كما موضح بالجدول (4-8) والشكل (4-6).

على الرغم من قلة الدراسات على المستوى العالمي والمحلي لجينات المقاومة نوع ***bla*** $_{TEM}$ بيتالاكتاميز , لكن شخّص كل من الجناحي والموسوي (2013) في مدينة الديوانية جين المقاومة ***bla*** $_{TEM}$ لبكتريا *P.mirabilis* أذ وجدتا ان جميع عزلات هذه البكتريا ممتلكة لهذا الجين وبنسبة 100% .

وكذلك الباحث Abreu وجماعته (2011) في شمال شرق البرازيل حصل على نسبة تواجد للجين ***bla*** $_{TEM}$ 93.3 % لبكتريا *P.mirabilis* . اما دراسة الباحث Akinduti وجماعته (2011) التي اجراها في نيجيريا فقد اظهرت نسبة انتشار جين ***bla*** $_{TEM}$ في بكتريا *P.mirabilis* بنسبة 0.7% .

## 4-7: العلاقة بين أنتشار جينات المقاومة ***bla*** $_{TEM}$ بيتالاكتاميز والعوامل المساعدة على انتشارها بين المرضى .

اظهر الجدول(4-9) ان اعلى نسبة لتواجد جينات ***bla*** $_{TEM}$ بيتالاكتاميز في عزلات *P.mirabilis* التي كان مصدرها التهاب الاذن وبنسبة 35.2% في حين سجلت عزلات التي مصدرها البراز المرتبة الثانية لتواجد جين المقاومة ***bla*** $_{TEM}$ بيتالاكتاميز وبنسبة 26.6% ,اماعزلات الادرار والحروق فسجلا نسبة تواجد لجين المقاومة ***bla*** $_{TEM}$ 21.9% ,11.4% على التوالي ,اما العزلات التي مصدرها تجرثم الدم فظهرت بأقل نسبة تواجد للجين 4.76%.

**جدول (4-9) النسب المئوية لانتشار جينات المقاومة *bla* $_{TEM}$ بيتالاكتاميز لبكتريا *P.mirablis* بحسب مصادر الاصابة**

| مصدر / جينات | اذن | براز | ادرار | حروق | دم |
|---|---|---|---|---|---|
| ***bla*** $_{TEM}$ -177 | 6(5.7%) $^{Aba}$ | 6(5.7%) $^{Aa}$ | 5(4.7%) $^{Aa}$ | 3(2.8%) $^{Aa}$ | 1(0.9%) $^{Aa}$ |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| $bla_{TEM\ -160}$ | 5(4.7%) $^{ABa}$ | 6(5.7%) $^{Aa}$ | 5(4.7%) $^{Aa}$ | 2(1.9%) $^{Aa}$ | 1(0.9%) $^{Aa}$ |
| $bla_{TEM\ -72}$ | 7(6.6%) $^{Aa}$ | 3(2.8%) $^{Aab}$ | 4(3.8) $^{AB\ ab}$ | 3(2.8%) $^{Aab}$ | 1(0.9%) $^{Ab}$ |
| $bla_{TEM\ -1}$ | 7(6.6%) $^{Aa}$ | 5(4.7%) $^{Aab}$ | 4(3.8) $^{AB\ ab}$ | 2(1.9%) $^{Aab}$ | 0(0%) $^{Aa}$ |
| $bla_{TEM\ -156}$ | 7(6.6%) $^{Aa}$ | 4(3.8%) $^{Aab}$ | 4(3.8) $^{AB\ ab}$ | 1(0.9%) $^{Aab}$ | 1(0.9%) $^{Ab}$ |
| $bla_{TEM\ -89}$ | 4(3.8%) $^{Aba}$ | 3(2.8%) $^{Aa}$ | 1(0.9%) $^{ABa}$ | 1(0.9%) $^{Aa}$ | 1(0.9%) $^{Aa}$ |
| $bla_{TEM\ -3}$ | 1(0.9%) $^{Ba}$ | 1(0.9%) $^{Aa}$ | 0(0%) $^{Ba}$ | 0(0%) $^{Aa}$ | 0(0%) $^{Aa}$ |
| المجموع | 37(35.2) $^{a}$ | 28(26.6%) $^{ab}$ | 23(21.9%) $^{b}$ | 12(11.4%) $^{c}$ | 5 (4.76%) $^{c}$ |

- كما ان قيمة مربع كاي $^{X2}$ المحسوبة 71.321 اكبر من الجدولية $^{X2}$ 55.158 اذاً توجد فروق معنوية .

بين الجدول (4-10) العلاقة بين جينات $bla_{TEM}$ البيتالاكتاميز واسعة الطيف والفئات العمرية للمصابين ببكتريا *P.mirablis* ,أظهرت الفئات العمرية الثانية والثالثة 11-20 و21-30 اعلى نسبة تواجد لجينات المقاومة للمضادات الحياتية $bla_{TEM}$ وبنسبة 91.66% و95.83% على التوالي .اما الفئة العمرية الاولى والخامسة 1-10 و 41-50 فسجلت تواجد نسب عالية لجين المقاومة $bla_{TEM}$ 70.83% و 79.16% على التوالي ,اما الفئتان 31-40 وفئة 51< فقد سجلتا اقل نسب لتواجد جينات المقاومة $bla_{TEM}$ 50% و66.66% على التوالي تبين من خلال هذا الجدول ان الفئات العمرية الصغيرة والشابة تكون اكثر عرضة للبكتريا المقاومة للمضادات الحياتية وذلك بسب كثرة حركة هذه الفئات ضمن المجتمع حيث تصاب بالبكتريا التي تكون مكتسبة للجينات الجديده وخاصة جينات المقاومة التي تكتسب بسهولة عن طريق البلازميدات وتتنقل وتتوارث ضمن عائلة المعوية (Mollenkopf ,2012) .

**جدول (4-10) النسب المئوية لانتشار جينات المقاومة $bla_{TEM}$ حسب الفئات العمرية**

| جينات / الفئات العمرية | $bla_{TEM\ -177}$ | $bla_{TEM\ -160}$ | $bla_{TEM\ -1}$ | $bla_{TEM\ -72}$ | $bla_{TEM\ -156}$ | $bla_{TEM\ -89}$ | $bla_{TEM\ -3}$ | مجموع |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1-10 | 4(3.80) | 3(2.85) | 2(1.90) | 4(3.80) | 2(1.90) | 2(1.90) | -- | 17(70.83%)[AC] |
| 11-20 | 5(4.76) | 5(4.76) | 2(1.90) | 2(1.90) | 4(3.80) | 3(2.85) | 1(0.95) | 22(91.66%)[AB] |
| 21-30 | 5(4.76) | 4(3.80) | 4(3.80) | 5(4.76) | 3(2.85) | 2(1.90) | -- | 23(95.83%)[B] |
| 31-40 | 5(4.76) | 2(1.90) | 1(0.95) | 2(1.90) | 1(0.95) | 1(0.95) | -- | 12(50%)[C] |
| 41-50 | 3(2.85) | 3(2.85) | 3(2.85) | 2(1.90) | 6(5.71) | 2(1.90) | -- | 19(79.16%)[ABC] |
| >51 | 2(1.90) | 2(1.90) | 6(5.71) | 3(2.85) | 1(0.95) | 1(0.95) | 1(0.95) | 16(66.66%)[C] |

- **ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة 18.996 اكبر من الجدولية $X^2$ 11.07 اذاً توجد فروق معنوية .**

اما بالنسبة لتوزيع جينات المقاومة ***bla**$_{TEM}$* بين الذكور والاناث , فقد سجلت الاناث المصابات ببكتريا *P.mirabilis* اعلى نسبة في تواجد لجينات المقاومة ***bla**$_{TEM}$* 55.23% اما الذكور فقد تواجدت نسبة عالية من جينات المقاومة ***bla**$_{TEM}$* لعزلات بكتريا *P.mirabilis* ولكن بنسبة اقل من النسبة التي تواجدات عند الاناث وبنسبة 45%,كما هو موضح بالشكل (4 -11).

**جدول (4-11) النسب المئوية لانتشار جينات المقاومة *bla*$_{TEM}$ بحسب الجنس.**

| جنس / جينات | الاناث | الذكور | مجموع |
|---|---|---|---|
| ***bla**$_{TEM}$ -177* | 12(11.42) | 9(8.57) | 21(20) |

| | | | |
|---|---|---|---|
| ***bla**$_{TEM}$ -160* | 6(5.71) | 13(12.38) | 19(18.09) |
| ***bla**$_{TEM}$ -72* | 8(7.61) | 10(9.52) | 18(17.14) |
| ***bla**$_{TEM}$ -1* | 13(12.38) | 5(4.76) | 18(17.14) |
| ***bla**$_{TEM}$ -156* | 11(10.47) | 6(5.71) | 17(16.19) |
| ***bla**$_{TEM}$ -89* | 7(6.66) | 3(2.85) | 10(9.52) |
| ***bla**$_{TEM}$ -3* | 1(0.95) | 1(0.95) | 2(1.90) |
| **مجموع** | **58(55.23%)[a]** | **47(44.76%)[a]** | **105 (100%)** |

- **ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة 22.271 اكبر من الجدولية $X^2$ 21.026 اذاً توجد فروق معنوية. كما و تدل الحروف المتشابهة على عدم وجود فروقات معنوية عند مستوى احتمالية 5%.**

بين الجدول (4-12) العلاقة بين جينات المقاومة ***bla**$_{TEM}$* لعزلات *P.mirabilis* ومضادات البيتالاكتم أذ اظهرت نتائج الدراسة الحالية اعلى نسبة تواجد لجينات المقاومة ***bla**$_{TEM}$* في عزلات البكتريا المقاومة للمضادات البيتالاكتم هي والامبسلين والاموكسيلين وبنسبة 100% اما مضادات السيفتازيديم والسيفوتاكسيم و التيكراسيلين و أموكسيلين-كلافيولانك أسد فقد تواجد جين المقاومة ***bla**$_{TEM}$* في عزلات البكتريا المقاومة لها بنسب عالية ايضاً 87.61%, 81.90%, 78.09%, 75.23% على التوالي, سجلت البكتريا المقاومة لمضاد الميروبنيم أقل نسبة تواجد للجين المقاومة ***bla**$_{TEM}$* 12.38%.

**جدول (4-12) النسب المئوية لانتشار جينات المقاومة *bla*$_{TEM}$ بحسب المضادات الحياتية المستخدمة**

| جينات<br>مضادات الحياتية | ***bla**$_{TEM}$ -177* | ***bla**$_{TEM}$ -160* | ***bla**$_{TEM}$ -1* | ***bla**$_{TEM}$ - 72* | ***bla**$_{TEM}$ - 156* | ***bla**$_{TEM}$ - 89* | ***bla**$_{TEM}$ -3* | **مجموع** |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|

| | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| **MEM** | **2(1.90)** | **2(1.90)** | **2(1.90)** | **3(2.85)** | **2(1.90)** | **2(1.90)** | **--** | **13(12.38)$^{A}$** |
| **AMC** | **21(20)** | **18(17)** | **15(14)** | **18(17)** | **15(14)** | **8(7.61)** | **2(1.90)** | **97(75.23)$^{C}$** |
| **CTX** | **17(16)** | **15(14)** | **14(13)** | **14(13)** | **16(15.3)** | **8(7.61)** | **2(1.90)** | **86(81.90)$^{BC}$** |
| **AMX** | **21(20)** | **19(18)** | **18(17)** | **18(17)** | **17(16)** | **10(9.52)** | **2(1.90)** | **105(100)$^{B}$** |
| **AMP** | **21(20)** | **19(18)** | **18(17)** | **18(17)** | **17(16)** | **10(9.52)** | **2(1.90)** | **105(100)$^{B}$** |
| **TC** | **17(16)** | **15(14)** | **12(11.4** | **15(14)** | **14(13)** | **7(6.6)** | **2(1.90)** | **82(78.09)$^{BC}$** |
| **CAZ** | **19(18)** | **17(16)** | **16(15.3** | **16(15.3** | **15(14)** | **8(7.61)** | **1(0.95)** | **92(87.61)$^{BC}$** |

- **Mem = مضاد الاميروبنيم ,AMC =ايموكسلين-كلافيولانك أسد وCTX= سيفوتاكسيم AMX = الاموكسيلين ,AMP= أمبسلين ,TC = تيكراسيلين ,CAZ = سيفتازيديم.**
- **ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة 130.01 اكبر من الجدولية $X^2$ 15.507 اذاً توجد فروق معنوية .**

أظهر الجدول (4-13) أن جميع عزلات بكتريا *P.mirabilis* التي عزلت من مستشفيات مدينة الديوانية تحتوي على جين المقاومة $bla_{TEM}$ المنتشر بين العزلات وبنسب متفاوتة أذ امتلكت عزلة رقم (3) جين$bla_{TEM}$ وبنسبة 100% لجميع مغايرات جين $bla_{TEM}$ المدروسة حيث عزلت هذه العزلة من ذكر يعاني من التهابات حادة في الاذن الوسطى وكان المسبب *P. mirabilis* وخلال الدراسة قاومت هذه العزلة كل اصناف المضادات الحياتية ومنها مضادات البيتالاكتم .بينما امتلكت العزلات 16,5,4,2 المعزولة من العينات السريرية المختلفة لستة انواع من مغايرات جين $bla_{\mathrm{TEM}}$ وبنسبة 85.71% كما هو موضح في الجدول (4-13) .بينما كانت العزلات 21,22,15 التي عزلت من العينات السريرية المختلفة قد امتلكت خمس انواع من مغايرات جين $bla_{\mathrm{TEM}}$ وبنسبة 71.42% كماهو موضح في جدول (4-13).كما وان معظم عزلات البكتريا التي عزلت خلال الدراسة قد امتلكت اربع جينات المقاومة نوع $bla_{\mathrm{TEM}}$ لمضادات البيتالاكتم وبنسبة 57.14% ومن هذه العزلات 22,20,19,18,13,13,10,9,8,7,6,1 كماهو موضح في جدول (4-13%) .في حين العزلات 24,23,17,14 قد امتلكت ثلاث انواع من جينات المقاومة نوع $bla_{TEM}$ وبنسبة 42,85% .اما العزلتان 12,11 فقد امتلكا اقل نسبة من جينات المقاومة

14.28% قـد تحتـوي هـذه العـزلات علـى انزيمـات مقاومـة اخـرى لمقاومـة مضـادات البيتالاكتم .

جـين $bla_{TEM-3}$ الـذي سـجل ولأول مـرة خـلال الدرسـة الحاليـة علـى المسـتوى المحلـي فـي مدينـة الديوانيـة وعلـى صـعيد المسـتوى العـالمي فـي بكتريـا *P.mirabilis* أذ تواجـد هـذا الجـين فـي عزلتـان فقـط وهـي عزلـة رقـم 3 التـي عزلـت مـن التهـاب الاذن امـا العزلـة الثانيـة رقـم 18 عزلـت مـن مـريض ذكـر يملـك مـن العمـر18سـنة شـخص لـه حالـة تجـرثم الـدم بسـبب بكتريـا *P.mirabilis* مـن قبـل منتسـي وحـدة البكتريولـوجي فـي مستشفى النسائية والتوليد في مدينة الديوانية .

**جدول (9-13)يبين توزيع جين $bla_{TEM}$ بين عزلات بكتريا *Proteus mirabilis***

| Sample No. | الجينات المقاومة بين عزلات بكتريا *Proteus mirabilis* | النسـبة المئويـة لجينـات المقاومـة بين العزلات |
|---|---|---|
| 1 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-1, $bla_{TEM}$-156 | 4(57.14%) |
| 2 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-72, $bla_{TEM}$ -1, $bla_{TEM}$-156, $bla_{TEM}$-89 | 6(85.71%) |
| 3 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-72, $bla_{TEM}$ -1, $bla_{TEM}$-156, $bla_{TEM}$-89, $bla_{TEM}$-3 | 7(100%) |
| 4 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-72, $bla_{TEM}$ -1, $bla_{TEM}$-156, $bla_{TEM}$-89 | 6(85.71%) |
| 5 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-72, $bla_{TEM}$ -1, $bla_{TEM}$-156, $bla_{TEM}$-89 | 6(85.71%) |
| 6 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-1, $bla_{TEM}$-156 | 4(57.14%) |
| 7 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-1, $bla_{TEM}$-156 | 4(57.14%) |
| 8 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-1, $bla_{TEM}$-156 | 4(57.14%) |
| 9 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-72, $bla_{TEM}$-1, $bla_{TEM}$-89 | 4(57.14%) |
| 10 | $bla_{TEM}$-177, $bla_{TEM}$-160, $bla_{TEM}$-72, $bla_{TEM}$-1, $bla_{TEM}$- | 4(57.14%) |

| | | |
|---|---|---|
| | **89** | |
| **11** | ***bla*$_{TEM}$-156** | **1(14.28%)** |
| **12** | ***bla*$_{TEM}$-156** | **1(14.28%)** |
| **13** | ***bla*$_{TEM}$-177, *bla*$_{TEM}$-160, *bla*$_{TEM}$-72, *bla*$_{TEM}$-156, *bla*$_{TEM}$-89** | **4(57.14%)** |
| **14** | ***bla*$_{TEM}$-177, *bla*$_{TEM}$-160, *bla*$_{TEM}$-72, *bla*$_{TEM}$-156, *bla*$_{TEM}$-89** | **3(57.14%)** |
| **15** | ***bla*$_{TEM}$-177, *bla*$_{TEM}$-72, *bla*$_{TEM}$-89** | **5(71,42)** |
| **16** | ***bla*$_{TEM}$-177, *bla*$_{TEM}$-160, *bla*$_{TEM}$-72, *bla*$_{TEM}$-1, *bla*$_{TEM}$-156, *bla*$_{TEM}$-89** | **6(85.71%)3** |
| **17** | ***bla*$_{TEM}$-72, *bla*$_{TEM}$-1, *bla*$_{TEM}$-156** | **3(57.14%)** |
| **18** | ***bla*$_{TEM}$-177, *bla*$_{TEM}$-160, *bla*$_{TEM}$-72, *bla*$_{TEM}$-3** | **4(57.14%)** |
| **19** | ***bla*$_{TEM}$-177, *bla*$_{TEM}$-160, *bla*$_{TEM}$-72, *bla*$_{TEM}$-1** | **4(57.14%)** |
| **20** | ***bla*$_{TEM}$-177, *bla*$_{TEM}$-160, *bla*$_{TEM}$-72, *bla*$_{TEM}$-1** | **4(57.14%)** |
| **21** | ***bla*$_{TEM}$-177, *bla*$_{TEM}$-160, *bla*-$_{TEM}$72, *bla*$_{TEM}$-1, *bla*$_{TEM}$-156** | **5(71,42)** |
| **22** | ***bla*$_{TEM}$-177, *bla*$_{TEM}$-160, *bla*-$_{TEM}$72, *bla*$_{TEM}$-1, *bla*$_{TEM}$-156** | **15(71,42)** |
| **23** | ***bla*-$_{TEM}$-177, *bla*-$_{TEM}$-160, *bla*-$_{TEM}$-72** | **3(57.14%)** |
| **24** | ***bla*-$_{TEM}$-177, *bla*-$_{TEM}$-160, *bla*-$_{TEM}$-72** | **3(57.14%)** |

- **ان قيمة مربع كاي $X^2$ المحسوبة 64.312 اكبر من الجدولية $X^2$ 35.924 اذاً توجد فروق معنوية .**

## 8.4: تحليل الشجرة الوراثية لجينات المقاومة *bla$_{TEM}$*

## Phylogenetic tree analysis to *bla$_{TEM}$* gene

بين كل من الشكل (4-7) و (4-8) نتائج تطابق تسلسلات القواعد النتروجينة في عزلات *P.mirabilis* وتسلسلات القواعد النتروجينية للعزلات العالمية في بنك الجينات NCBIgene بوساطة برنامج Mega 6 . أذ أخذت عزلتان لكل جين من جينات $bla_{TEM}$ المدروسة وهي $bla_{TEM-1}$, $bla_{TEM-3}$ , $bla_{TEM-72}$ ,$bla_{TEM-89}$, $bla_{TEM-156}$ $bla_{TEM-160}$ ,$bla_{TEM-177}$ بعد استخلاص DNA وترحيله كهربائيا بهلام الاكاروز ارُسل الجزء المتبقي من DNA لتنقيته وادخاله في جهاز AB DNA sequencing system وللتأكد من النتائج المرسُلة قورنت بتسلسلات العزلات العالمية (القياسية) تبين تطابق النتائج الدراسة الحالية مع تسلسلات جينات *P.mirabilis* العالمية وبنسبة 100% .

اظهر الشكل ( 4-9)عدم وجود اختلافات بين تسلسلات جين $bla_{TEM}$ لعزلات بكتريا *P.mirabilis* المحلية وجين $bla_{TEM}$ للعزلات العالمية ولكن هنالك فروق بين مغايرات جين $bla_{TEM}$ فمثلا عند مقارنة $bla_{TEM-89}$ القياسي في بداية الشكل ( 4-9) المشار الية برقم 3مع مغاير $bla_{TEM-72}$ فأنه يختلف كل من عزلتان المحليتان والعزلة القياسية بنسبة 0.01. اما عند مقارنة $bla_{TEM-89}$ والمغاير $bla_{TEM-3}$ الغير موجود ببكتريا *P.mirabilis* لذلك قورن بتسلسلات القواعد النتروجينية لبكتريا *Klebsiella pneumona* وذلك لانه اقرب تسلسل لنتيجة الدراسة بالاضافة الى ذلك تحتوي البكتريا المعوية على نفس التسلسلات لانزيمات المقاومة لانه صفة المقاومة من صفات المكتسبة عبر البلازميدات تتوارث بين اجناس العائلة الواحدة ومنها العائلة المعوية. لذلك خلال الدراسة سجل ولاول مرة جين $bla_{TEM-3}$ في بكتريا*P.mirabilis* أذا لم تسجل هذا الجين في هذه البكتريا في بنك الجينات من قبل .ويختلف هذا الجين عن $bla_{TEM-89}$ وبنسبة 2.88 للعزلة الاولى وبنسبة 2.91 للعزلة الثانية اما العزلة القياسية بنسبة7.69.

امـــا $bla_{TEM-177}$ يختلـــف عـــن $bla_{TEM-89}$ وبنســـبة 0.02 للعـــزلات المحليـــة وبنســـبة 0.01 للعزلـــة القياســـية . امـــا عنـــد مقارنتـــة $bla_{TEM-160}$ اظهـــر اخـــتلاف قليـــل جـــدا بنســـبة 0.01 للعزلتـــان المحليتـــان و0.0 للعزلـــة القياســـية وكـــذلك بنســـبة لـــــ $bla_{TEM-156}$ و $bla_{TEM-1}$ اظهـــرت جميـــع العـــزلات المحليـــة والقياســـية نســـبة اخـــتلاف قليلـــة جـــدا وبنســـبة 0.01 .مـــن خـــلال النتـــائج التتـــابع الجينـــي( الشـــجرة الوراثيـــة) أظهـــرت جميـــع العـــزلات عـــدم وجـــود اختلافـــات بـــين العـــزلات المحليـــة مقارنـــة بالقياســـية ولكـــن تختلـــف مغـــايرات الانـــزيم نفســـة لـــذلك تطابقـــت نتـــائج الدراســـة الحاليـــة مـــع العالميـــة وبنســـبة 100% هـــذا يبـــين انـــه عـــدم وجـــود انـــواع جديـــدة وخطيـــرة علـــى المجتمـــع فـــي مدينـــة الديوانيـــة وأن بكتريـــا *P.mirabilis* علـــى الـــرغم مـــن كونهـــا تتواجـــد بكثـــرة فـــي مستشـــفيات الديوانيـــة وشـــدة امراضـــيتها ومقاومتهـــا المتعـــددة للمضـــادات الحياتيـــة لكنهـــا لـــم تتعـــرض الـــى طفـــرات فـــي جينـــات المقاومـــة للمضادات الحياتية ممايسهل علاجها والتقليل من الاصابة بها .

يبـــين الملحـــق (3) نتـــائج تســـجيل العـــالمي للشـــجرة الوراثيـــة للمشـــتقات جـــين المقاومـــة $bla_{TEM}$ لبكتريـــا *P.mirabilis* فـــي مدينـــة الديوانيـــة , أمـــا تسلســـل القواعـــد النتروجينيـــة لمغـــايرات جـــين المقاومـــة $bla_{TEM}$ المعـــزول مـــن بكتريـــا *P.mirabilis* فكانـــت علـــى النحو التالي :

******P. mirabilis* beta-lactamase TEM-1 gene isolate No.1**

TCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGTGCGGTAT
TATCCCGTGTTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTAC
TCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGA
GTGATAACACTGCTGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAAC
ATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTG
ACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCC
GGCAACAA

******P.mirabilis* beta-lactamase TEM-1 gene isolate No.2**

TCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGTGCGGTAT
TATCCCGTGTTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTAC
TCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGA
GTGATAACACTGCTGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAAC
ATGGGGGATCATGTAACTCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTG
ACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCC
GGCAACAA

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-89}$ gene isolate No.1

GGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAA
CGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCG
GATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCAG
TGAGCGTGGATCTCGCGGTATCATTGCAGCACTG

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-89}$ gene isolate No.2

GGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCAGCAATGGCAACAA
CGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCG
GATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCAG
TGAGCGTGGATCTCGCGGTATCATTGCAGCAC

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-160}$ gene isolate No.1

CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCC
CTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGATCTCGCGGTATCATTGCAGCACT
G

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-160}$ gene isolate No.2

CTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCC
CTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGATCTCGCGGTATCATTGCAGCA

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-156}$ gene isolate No.1

AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGC
CCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCC
GGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAA
GCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCC
AACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATAGGGGATCATGTAAC
TCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCA
GCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGA
CTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATA
AATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACT

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-165}$ gene isolate No.2

AGATCAGTTGGGTGCACGAGTGGGTTACATCGAACTGGATCTCAACAGCGGTAAGATCCTTGAGAGTTTTCGC
CCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGCGCGGTATTATCCCGTGTTGACGCC
GGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTACTCACCAGTCACAGAAAA
GCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGAGTGATAACACTGCGGCC
AACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATAGGGGATCATGTAAC
TCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGATGCCTGCA
GCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGA

CTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATA
AATCTGGAGCCGGTGAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCA

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-72}$ gene isolate No.1

TCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGTGCGGTAT
TATCCCGTGTTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTAC
TCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGA
GTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAAC
ATGGGGGATCATGTAACCCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTG
ACACCACGACGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCC
CGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTG
GCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCAGTAAGCGTGGATCTCGCGGTATCATTGCAGCACTG

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-72}$ gene isolate No.2

TCCTTGAGAGTTTTCGCCCCGAAGAACGTTTTCCAATGATGAGCACTTTTAAAGTTCTGCTATGTGGTGCGGTAT
TATCCCGTGTTGACGCCGGGCAAGAGCAACTCGGTCGCCGCATACACTATTCTCAGAATGACTTGGTTGAGTAC
TCACCAGTCACAGAAAAGCATCTTACGGATGGCATGACAGTAAGAGAATTATGCAGTGCTGCCATAACCATGA
GTGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAAC
ATGGGGGATCATGTAACCCGCCTTGATCGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTG
ACACCACGACGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCC
CGGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTG
GCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAGCCAGTAAGCGTGGATCTCGCGGTATCATTGCAGCAC

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-177}$ gene isolate No.1

TGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACA
TGGGGGATCATGTAACCCGCCTTGATAGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGA
CACCACGACGCCTGCAGCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCC
GGCAACAATTAATAGACTGGATGGAGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGG
CTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAACCGGTAAGCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCAC

## *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-177}$ gene isolate No.2

TGATAACACTGCGGCCAACTTACTTCTGACAACGATCGGAGGACCGAAGGAGCTAACCGCTTTTTTGCACAACATGGGGGAT
CATGTAACCCGCCTTGATAGTTGGGAACCGGAGCTGAATGAAGCCATACCAAACGACGAGCGTGACACCACGACGCCTGCA
GCAATGGCAACAACGTTGCGCAAACTATTAACTGGCGAACTACTTACTCTAGCTTCCCGGCAACAATTAATAGACTGGATGG
AGGCGGATAAAGTTGCAGGACCACTTCTGCGCTCGGCCCTTCCGGCTGGCTGGTTTATTGCTGATAAATCTGGAACCGGTAA
GCGTGGGTCTCGCGGTATCATTGCAGCACTG

## *P. mirabilis beta-lactamase $_{TEM-3}$ gene isolate No.1

TGCATCTTTGAGCGCTCTGATCTGAATATCGAGGGACTGCTGGCTGGTTGAGACCCGCGCATAACCAAAAATTCGCATAAAA
TGTACCTTAAATCGAATATCAGACACGATGTGTCTATTATGCCAAAATGACGATTTAATGGACACTCAAACGAAGCCGTTTTA

CTATGTCTGATAATTTATAACATTTCGGACGGTTGCGAAATTGTTAATATATAACCGTCAGGCAGGAAGGCCTATATCATTTC
GGACGGTTGCGAAATTGTTAATATATAACCGTCAGGCAGGAAGGCCTATATGGGGTCGTCTCAGAAAACG

### *_P. mirabilis_ beta-lactamase $_{TEM-3}$ gene isolate No.2

TGCATCTTTGAGCGCTCTGATCTGAATATCGAGGGACTGCTGGCTGGTTGAGACCCGCGCATAACCAAAAATTCGCATAAAA
TGTACCTTAAATCGAATATCAGACACGATGTGTCTATTATGCCAAAATGACGATTTAATGGACACTCAAACGAAGCCGTTTTA
CTATGTCTGATAATTTATAACATTTCGGACGGTTGCGAAATTGTTAATATATAACCGTCAGGCAGGAAGGCCTATATCATTTC
GGACGGTTGCGAAATTGTTAATATATAACCGTCAGGCAGGAAGGCCTATATGGGGTCGTCTCAGAAAA

# الفصل الخامس

# الاستنتاجات والتوصيات

# Conclusions and Recommendations

## الاستنتاجات Conclusions

١- أظهرت الدراسة الحالية الدور الاساسي لبكتريا *P.mirabilis* في عدوى المستشفيات ومسؤوليتهاعن الاخماج المرضية المختلفة في هذه مستشفيات.

٢- أبدت معظم عزلات بكتيريا *P.mirabilis* قيد الدراسة صفة تعدد المقاومة XDR, PDR , MDR , أذ كانت العزلات اغلبها ذات مقاومة متعددة مما يشكل خطراً و تحدياً علاجياً كبيراً .

٣- أظهرت النتائج أن المضادين Ciprofloxacin و Meropenem هما الافضل فعالية تجاه بكتيريا *P.mirabilis*.

٤- الانتشار الكبير لجينات المقاومة $bla_{TEM}$ لمضادات البيتالاكتم , $bla_{TEM-177}$ , $bla_{TEM-160}$ , $bla_{TEM-156}$ , $bla_{TEM-89}$ , $bla_{TEM-72}$ , $bla_{TEM-3}$ ,

$bla_{TEM-1}$ . بين عزلات بكتيريا *P.mirabilis* , أذ كانت المورثة $bla_{TEM-177}$ هي الاكثر تواجداً.

٥- أظهرت نتائج الشجرة الوراثية تشابه جينات المقاومة البيتالاكتاميز $bla_{TEM}$ للعزلات بكتيريا *P.mirabilis* المحلية مع العزلات العالمية (القياسية) في بنك الجينات NCBI.

٦- تسجيل جديد لتتابع جيني (squencer) لجين المقاومة البيتالاكتاميز نوع ***bla TEM -3*** بين عزلات بكتيريا *P.mirabilis* على المستوى المحلي والعالمي بأستخدام جهاز AB DNA sequencing system .

## التوصيات Recommendations

١- يجب اجراء فحص دوري للمستشفيات في مدينة الديوانية لتحديد مصدر التلوث البكتيري وتحديد مستوى المقاومة للمضادات الحياتية .أذ كانت MDR , XDR, أو PDR.

٢- أستعمال تقنية الـPCR للتحري عن كافة انواع انزيمات المسببة للمقاومة للمضادات الحياتية ولا سينما أنزيمات البيتالاكتاميز واعتماد هذه الطريقة في البحوث كونها ذات نتائج موثوقة ولاسيما تقنية الـ Multiplex PCR.

٣- اجراء المزيد من الدراسات على بكتيريا *P.mirabilis* بأستخدام تقنية حديثة مثل Real time PCR في الكشف عن التعبير الجيني لانزيمات المقاومة لحلقة البيتالاكتم.

٤- استخدام تقنية الشجرة الوراثية للعزلات التي تمتلك مقاومة متعددة للمضادات الحياتية وذلك للكشف عن العزلات التي تحمل جينات مقاومة جديدة على المستوى المحلي والعالمي.

# المصادر العربية والانكليزية

# Referrences

## المصـــادر العـــربية :


**الجناحي ،مروة راهي عبد المنعم, الموسوي , ازهار نوري حسين (2013).** دراسة تشخيصية ووراثية لبكتريا *Proteus.mirabilis* المعزولة من حالات خمج المسالك البولية في الاطفال دون السنة الخامسة لمدينة الديوانية .*مجلة القادسية / العلوم الصرفة* .651 (179) .

**الحسو,محمود زكي,خلف,صبحي حسين.(2013).** مقاومة بعض العصيات السالبة لصبغة كرام من اصابات الجهاز التنفسي السفلي لمضادات البيتالاكتم .مجلة علوم الرافدين ,٢٤(٦):(٦٦-٧٦).

**الطائي,خالد عبد الكاظم ,ناجي,حسن فاضل.(2013)**.تأثير خلط مضادات البيتالاكنم مع الامينو كلايكوسيدات على المتقلبات المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية.*مجلة جامعة بابل/ العلوم الصرفة والتطبيقية* . ٤(٢١):( ١٢٩٣-١٢٩٩).

**الطائي,هادي رحمن رشيد. (2010).** عزل *Proteus vulgaris* المنتجة لليوريز من اطفال مصابين بالتهابات المجاري البولية . *مجلة ديالى للعلوم*. ٦(٢) :(٢٦٠-٢٧٤).

**جعاز,ابتسام ثامر ,مجهول ,ايناس محمد.(2010) .** عزل وتشخيص بعض المسببات المرضية من حالات ألتهاب الاذن الوسطى الحاد(ASOM) عند الاطفال في مدينة اليوانية واختبار حساسيتها الدوائية تجاه بعض مضادات الحياة مختبريا ,*المجلة العراقية للعلوم*,المجلد ٥١, العدد ٣, الصفحة 356_3551 .

**خلف ، صبحي حسين ،كاظم ، بشرى علي.(٢٠١١)**.دراسة عن تنميط جرثوبة *Proteus mirabilis* المعزولة من المسالك البولية.*مجلة بغداد للعلوم*.٩(٢).

**خلف,منذز عدنان,عزيز,اسماعيل حسين,لعيبي,مهدي صبر.(2014).** التشخيص الجزيئي لبكتريا *Proteus mirablis* باستخدام تقنية التفاعل السلسلي البلمري بين المرضى المصابين بالتهاب المسالك البولية .*المجلة العراقية للتكنلوجيا الحيوية* ١٣(٢) ,(٣٥_٤٧).

**سلمان , آفاق رشيد. (2008)** . فوعة بعض انواع المتقلبات *Proteus* Spp المعزولة من خمج الاذن الوسطى في بعقوبة وضواحيها. رسالة ماجستير, كلية العلوم, جامعة ديالى.

**فليح, مي طالب ,علي,عامر سعيد.(2014) .** الاستخلاص والتنقية الجزيئية لخملة UCA من بكتريا *Proteus mirabilis* ودراسة دورها في الالتصاق على الخلايا الطلائية البولية .*مجلة البصرة للعلوم* . ٣٢ (٢) :(٥١-٧٤).

**نوفل,كنان, القوتلي,خليل . (2016).** تحري الجراثيم المسببة لالتهاب الأذن الوسطى ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية . *هيئة مخابر التحاليل الطبية في سورية* . ٧ : ٩-١٠ .

## المصـــــادر الاجنبيـــة:

**A. Bahashwan, S.(2013).** Antimicrobial resistance patterns of *Proteus* isolates from clinical specimens. *European Scientific Journal,* vol9(27): 1857 – 7881 .

**Abbas, K. F.; Al Khafaji,J. K. ; Al-Shukri , M. S. (2015).** Molecular Detection of Some Virulence Genes in *Proteus mirabilis* Isolated from Hillaprovince. *International Journal of Research Studies in Biosciences (IJRSB).* 3(10):PP 85-89.

**Abbott, S. L. (2007)+**. *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas*, and Other *Enterobacteriaceae*. In:Manual of Clinical Microbiology, Murray, P. R.; *Baron, E. J.; Jorgensen, J.* H.; Landry M. L. and Pfaller, M. A.(eds.) 9th ed. ASM Press. Washington. *USA*, pp. 698-711 .

**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.

**Abreu, A.G.; Marques, S.G.; Monteiro-Neto,V.; Carvalho, R.M.L.and Gonçalves, A.G. (2011) .**Nosocomial infection and characterization of extended-spectrum β-lactamase producing *Enterobacteriaceae* in northeast Brazil. *Rev. Soc. Bras. Med .Trop.,* 44(4): 441-446.

**Adler,A.; Baraniak,A.; Izdebski, R.; Fiett, J.; Gniadkowski, M.; Hryniewicz, W.; Salvia,A. ; Rossini,A.; Goossens, H.; Malhotra, S.; Lerman,Y.; Elenbogen, M. ; Carmeli, Y. and The MOSAR WP5 & WP2 study groups.(2013).** A binational cohort study of intestinal colonization with extendedspectrum b-lactamase-producing Proteus mirabilis in patients admitted to rehabilitation centres. *Clin Microbiol Infect* , 19: E51–E58.

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

**Aghazadeh, M.; Hojabri, Z.; Mahdian, R.; Nahaei, M.R.; Rahmati, M.; Hojabri, T.; Pirzadeh, T. and Pajand, O. (2014).** Role of efflux pumps: MexAB-OprM and MexXY (-OprA), AmpC cephalosporinase and OprD porin in non-metallo-β-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis and burn patients. Infection, *Genetics and Evolution*. 24:187-192.

**Ahmed,D.A.(2015).**Prevalence of *Proteus* SPP.in Some hospitals in Baghdad City. *Iraqi Journal of Science*.1C(56):(665-672).

**Akinduti,P.A.;Oluwadun,A.;Iwalokun,B.A.; Oluwaseun, E. and Onag besan,K.O.(2011).**clonal dissemination of β-Lactamase strains among enteric isolates in Abeokuta, Nigeria. Res.*J.Microbiol*.,6(12):919-925.

**Al-Agamy, M.H.M.; Shibl, A.M.; Tawfik, A.F. (2009).** Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh, Saudi Arabia. *Ann. Saudi Med.*, 29(4): 253-257.

**Al-Agamy, M.H.M.; Shibl, A.M.; Tawfik, A.F. (2009).** Prevalence and molecular characterization of extended-spectrum β-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in Riyadh, Saudi Arabia. Ann. Saudi Med., 29(4): 253-257.

**AL-Bassam ,W. W. ; and Al-Kazaz,AK. (2013) .** The Isolation and Characterization of *Proteus mirablis* from different Clinical Sample.*Journal of Biotechoology Research center* .**2**(7):26 .

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

**Alexopoulou ,A.; Vasilieva, L; Agiasotelli, D; Siranidi,K; Pouriki, S; Tsiriga, A, Toutouza, M and Dourakis ,S.( 2016 ) .** Extensively drug-resistant bacteria are an independent predictive factor of mortality in 130 patients with spontaneous bacterial peritonitis or spontaneous bacteremia .*Baishideng Publishing Group Inc.* Vol 22(15).4049-4056.

**Al-Jubori,S.S.; Al-Jabiri, H.A.; and Al-Kadmy, I. M.S. (2015).** Molecular Detection of Aminoglycoside Resistance Mediated by Efflux Pump and Modifying Enzymes in *Pseudomonas aeruginosa* Isolated From Iraqi Hospitals.. Int'l Conf. on Medical Genetics, Cellular & Molecular Biology, Pharmaceutical & Food Sciences.

**AL-Jumaa,M.H.(2011).**Bacteriological and Molecular Study of SomeIsolate of *Proteus mirablis* and *Proteus vulgari*s in Hilla Province.M.S.C. Microbiology.Thesis. College of Medicine.University. Iraq.

**Al-Mayahi ,F.S.A.(2016).** Phenotypic and Molecular detection of Virulence Facter in *Proteus mirabilis* isolated from different clinical source.

**Al-saedi,E.A.,Jabur,M.Hadi and Trad,J.K.(2013**).Isolation of *Proteus Vuligaris* from different Clinical Sources and Study of some Virulence Factors.*Jurrnal of Babylon Unvirsity*.1(21):46.

**Alsherees, H. A. A. , Abdzaid, A. J; Talib, R.(2016).** Molecular study of *Proteus mirabilis* bacteria isolated from urine and wounds in

hospitals Al-Najaf province. *International Journal of Advanced Research in Biological Sciences. 3(6): 99-105*

**Anvarinejad, M. ; Farshad, S. ; Alborzi, A. ; Ranjbar, R. ;Giammanco, G. ; and Japoni, A.(2011).** Integron and genotype patterns of Quinolones- resistant uropathogenic *Escherichia coli* ., Afr. J.Microbial. Res Italy. 5 (22) : 3765-3770.

**Arago´n, L. M.; Mirelis ,B.; Miro´, E.; Mata,C. ; Go´mez, L.; Rivera,A. ; Coll1,P.; and Navarro1,F.(2008).** Increase in b-lactam-resistant *Proteus mirabilis* strains due to CTX-M- and CMY-type as well as new VEB- and inhibitor-resistant TEM-type b-lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* ,61: 1029–1032.

**Arlet ,G.; Ayala, J.;Coque ,T.M.; Kern-Zdanowicz ,I. ; Luzzaro,F.; Poirel, L. and Woodford,N.(2007):** changing the face of ESBLsin Europe .*J.Antimicrob. Chemother*.59:165-174.

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

**Atlas, R.M. (1995)** :Principle of Microbiology. 1st.ed. Mosby-Year book company. USA.

**Babic,M.;Hujer,A.M.andBonomo,R.A.(2006).**Whats new in antibiotic resistance ?focus on beta-lactamases. *Durg Resistance Updates* 9:142-156.

**Baldo, C. and Rocha, S. P. D. 2014.**Virulence Factors Of Uropathogenic Proteus Mirabilis-A Mini Review. International Journal of Scientific and Technological Research, 3.

**Bennet ,** P. and Brown , M. (2008). Clhnical pharmacology , 10th ed . Churchill livingstone , Elesiver .Spain .

**Benson, H.J. (2002).** Microbiological Application Laboratory Manual in General Microbiology .8th ed .The McGraw-Hill Companies.USA.

**Berg, A. Z. and Ahmad, I. (2000).** Effect of *Plumbago zeylanica* extract and certain curing agents on multidrug resistant bacteria of clinical origin World J. *Microbiol. Biotech*. *16*: 841-844.

**Biendo,M.; Thomas, D.; Laurans,G.; Hamdad-Daoudi, F.; Canarelli, B. ; Rousseau, F.; Castelain ,S. and Eb, F. (2005).** Molecular diversity of Proteus mirabilis isolates producing extended-spectrum b-lactamases in a French university hospital. Clin Microbiol Infect , 11: 395–401**.**

**Bloch, J.; Lemaire, X.; Legout, L.; Ferriby, D.; Yazdanpanah, Y. and Senneville, E. (2010).** Brain abscesses during Proteus vulgaris bacteremia. *Neurol. Sci.* 32: 661–663.

**Bodur,H.; Colpan , A.; Gozukucuk , R.; Akinci,E.; Cevik, M.A. and Balaban , N . (2002).** Venous sinus thrombosis After Proteus vulgaris meningitis and Concomitant Clostridium Abscess Formation . *Scan .J. Infec. Dis* . Vol . 34, P.( 694-696).

**Bradford, P.A. (2001).** Extended–spectrum β-Lactamase in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection

of this important resistance threat. *Clin. Microbiol. Rev.* 14:933-951.

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

**Bush, K. and Fisher ,J.F.(2011).**Epidemiological Expansion ,Structural studies and clinical challenges of new Beta–lactamase from Gram-Negative Bactreia .*Annual Review of Microbiology* .65:455- 478.

**Bush, K.(2008).** Extended-spectrum beta-lactamase in North America (1987-2006).*Clin.Microbiol.infect,*14(SI):S134-143.

**Bush, K.(2010).**Bench-to-bedside review : The role of Beta–lactamase in antibiotic-resistance Gram-Negative infection . *Crite Care.* 14(3):p224.

**Carey, S. Copeland, M.F. ; Sacotte, R. ; Tuson, H.H.and Weibel, D.B. (2013).** Flagellum density regulates *Proteus mirabilis* swarmer cell motility in viscous environments. *J. Bacteriol.,* **195**(2): 368-377.

**Champs,C.D.;Monne,C.;Bonnet,R.;Sougakoff,W.;Danielle,S.**

**Chanal ,C.and Sirot,J.(2001).** New TEM Variant(TEM-92) Produced by *Proteus mirabilis* and *Providencia stuartii* Isolates. *Antimicrobial. Agents. Chemotherapy*.45(6) 1278-1280.

**Chanal,C. ; Bonnet,R. ; Champs,C. D.; Sirot,D.; Labia, R.; and Sirot, J. (2000).** Prevalence of b-Lactamases among 1,072 Clinical Strains of *Proteus mirabilis*: a 2-Year Survey in a French Hospital. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 44(7) : 1930–1935 .

**Chi-Yu Chen a, Yen-Hsu Chen a,b,c, Po-Liang Lu a,b,c,d, Wei-Ru Lin a,e, Tun-Chieh Chen a,b,c,f, Chun-Yu Lin a,b,c,*.(2012).** Proteus mirabilis urinary tract infection and bacteremia: Risk factors, clinical presentation, and outcomes. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection* (2012) 45, 228e236.

**Chopra, I. and Roberts, M. (2001).** Tetracyclin antibiotics: mode of action, applications, molecular biology and epidemiology of bacterial resistance. *Microbiol. Mol. Rev. 65*(2): 232-260.

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

**CLSI, clinicaland laboratory standards institute.(2010**) :Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. *20th informational supplement. M 100-S20., Wayne*, Pa; **30** (1).

**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.*

**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.

**Corker**, **C. ; Poore, C. A. ; Li , X. and Mobley , H. L. (2000) .** Pathogenesis of *Proteus mirabilis* urinary tract infection. *Microbes Infect* ; **2**(12) : 1497-1505.

**D'Andrea MM, Literacka E, Zioga A, et al. (2011).** Evolutionand spread of a multidrug-resistant Proteus mirabilis clonewith chromosomal AmpC-Type Cephalosporinases in Europe.*Antimicrob Agents Chemother.* 55(6):2735-42.

**Den Engelsen, C.; van der Werf, C.; Matute, A. J.; Delgado, E.; Schurink, C. A. M.and Hoepelman, A. I. M. (2009).** Infectious diseasesand the use of antibiotics in outpatients at the emergency department of the University Hospital of León, Nicaragua. *Int. J. Infect Dis*., 13(3): 349–354.

**Den Engelsen, C.; van der Werf, C.; Matute, A. J.; Delgado, E.; Schurink, C. A. M.and Hoepelman, A. I. M. (2009).** Infectious diseasesand the use of antibiotics in outpatients at the emergency department of the University Hospital of León, *Nicaragua. Int. J. Infect Dis*., 13(3): 349–354.

**Denny,B.; West,P.and Panigrahi,D.(2003).** Effect of permeabilizers on antimicrobial susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* and *Acinetobacter* spp.*J. Microbiol. Immun . Infect*.,36(1):72-76.

**Dharmadhikari , S. M. ; and Peshwe,A. S. (2009).** Molecular level studies on multiple antibiotic and serum resistance in UTI pathogens .*Indian J.Biotechnol*.**8**:40-50.

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

**Drawz, S. M.and Bonomo, R. A. (2010).** Three Decades of β-Lactamase Inhibitors . *Clin. Microbiol. Rev*., 23(1): 160–201.

**Dzidic, S.; Suskovic, J. and Kos, B. (2008).** Antibiotic resistance mechanisms in bacteria. biochemical and genetic aspects. 46: 11-21.

**Ehrlich,G. D. ; Veeh,R. ; Wang,X. ; Costerton,J. W. ; Hayes,J. D. ; Hu,F. Z. ; Daigle,B. J. ; Ehrlich,M. D. and Post, J. C. (2002).** Mucosal biofilm formation on middle-ear mucosa in the chinchilla model of otitis media. *JAMA. 287*(13):1710-1715.

**EL.Feky,M. A.; EL-Rehewy,M. S.; Hassan,M. A.;Abolela,H. A.; Abdel-Baky,R. M. and Gad,G. F. (2009).** Effect of ciprofloxacin and N-acetylcysteine on bacterial adherence and biofilm formation on uriterial stent surfaces. *Pol. J. Microbiol*. *3*(58):261-267.

**Elmanam,A.; ElKichaoui A. Y. and Mohsin, M .(2006).** Contribution of hospital wastewater to the spread of antibiotic resistance in comparison to non-health institution. *J. Al-Aqsa Unv*. 10:108-121.

**Fam, N. S. and El-Damarawy, M. M. (2008).** CTX-M-15 Extended-spectrum beta-lactamases detected from intensive care unit of an egyptian medical research institute. Res. J. *Medicine and Med. Sci.* 3(1): 84-91.

**Fatma Murat,K; Fetiye ,K; Aynur,K and Mustafa,H.V. (2012).** Integronassociated resistance genes among multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa isolated from clinical specimens; 42 (1): 149-156 .

**Fayros-Ali ,J.M.H. (2012) .** Detection of quinolone resistance genes in *Escherichia coli* isolated from patients with significant

bacteriuria in Najaf province .ph .D. Thesis, College of Science ,Babylon University.

**Feglo,P. K; Gbedema, S. Y.; Qaury, S. N.A.; Adu-Sarkodie,Y. and Opoku-Okrah.C.(2010).** Occurrence, species distribution and antibiotic resistance of Proteus isolates: A case study at the Komfo Anokye Teaching Hospital (KATH) in Ghana. *Inter. J. Pharm. Sci*. 1(9):347-352.

**Ferguson, D. (2007).** A study of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*and the investigation of antibiotic resistancent mechanisms in the multidrug resistant strain PA13 Ph.D. Thesis School of Biotechnology and National Institute for Cellular Biotechnology, Dublin City University.

**Filimon,R. and Iacob,E. (2007).** Incidence of nosocomial infections at the recovery clinic of Iasi hospital,in 2004-2005. *Rev. Med. Chir. Soc. Med. Nat. Iasi.* 111(1):255-257.

**Fisher, J. F.; Meroueh, S. O.and Mobashery, S. (2005).** Bacterial Resistance to β-Lactam Antibiotics: Compelling Opportunism, Compelling Opportunity . *Chemical Reviews* ,105(2): 395–424.

**Fluit, A.C.; Visser, M.R. and Schmitz, F.J.(2001).**Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clinical Microbiology Reviews*. Oct. 836-871.

**Forbes,B.A.; Sahm,D.F. and Weissfeld,A.S. (2007).** Diagnostic Microbiology. 12th ed. Baileyand Scotts'. Mosby Elsevier. China., pp: 93-247.

**Forssten, S.** (2009).Genetic Basis and diaphragm gnostics of extended-spectrum β-lactamaSES among *Enterobacteriaceae* in finland turun yliopisto University of Turku

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

**Fuda, C.; Hesek, D.; Lee, M.; Heilmayer, W.; Novak, R.; Vkulenko, S. B.; and Mobashery, S. (2006).** Mechanistic basis for the action of new cephalosporin antibiotics effective against methicillin-and vancomycin-resistant Staphyloccocus aureus. *J. Biol. Chem*. 281: 10035-10041.

**Garau, G.; Garcia-Saez, I. and Bebrone, C. et al. (2004).** Update of the standard numbering scheme for class B β-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*. 48: 2347-2349.

**Goering ,R.V. AND Mims,C.A.(2008)** .Mims' Medical Microbiology 4th ed .Philadelphia PA:Mosby Elsevier.

**Greenwood, D. ; R. C. B. Slack and J. F. Peuthere (eds) (2002)**. Medical Microbiology. A guide to microbial infections , pathogenesis , immunity , laboratory diagnosis and control. 16th ed. Edinburl, London , New York , Philadephia , Sydney , Toronto.

**Greenwood, D. ; R. C. B. Slack and J. F. Peuthere (eds) (2002)**. Medical Microbiology. A guide to microbial infections , pathogenesis , immunity , laboratory diagnosis and control. 16th ed. Edinburl, London , New York , Philadephia , Sydney , Toronto.

**Greer , N. D. (2009**) . Tigecycline (tygacil): the firstin the glycylcyclineclass of antibiotics.proc, (Bayl univ med cent). 19 (2): p: 155-61.

**Greer ND, (2006).** Tigecycline (tygacil): the firstin the glycylcyclineclass of antibiotics.proc, (Bayl univ med cent). 19 (2): p: 155-61.

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

**Gupta .R .K; Ali, S; Shoket ,H; and Mishra V. K.(2014).** PCR-RFLP Differentiation of Multidrug Resistant *Proteus sp.* Strains from Raw Beef . *Current Research in Microbiology and Biotechnology* .Vol 2( 4):426-430.

**Guven , A. (2004).** Intramuscular antibiotic treatment of urinary tract infection. Ind. J. pediat. *71*(11): 979-981.

**Haldorsen ,B.C. and Samuelsen ,.O.(2012).** Multi-drug resistance Gram-Negative Bactreia-opened global hells problem,Bioengineering. (2).

**Hartmann ,A.; Locatelli ,A.; Amoureux .L; Depret ,G. ;Jolivet ,Gueneau ,E. and Neuwirth ,C.(2012) .**Occurrence of CTX-M Producing *Escherichia coli* in soil ,cattle and farm environment in Francedy (Buegun region) . *Original research article .Frontier in Microbiology* ,3(83) :1-7.doi: 10.3389/fmicb.00083.

**Harvey , R . ; Champe ,P. ; Howland , R. ; Mycek , M.(2006).** Lippincotts illustrated review Pharmacology . 3rd ed . Lippincott Williama and Wilkins , USA .552.

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

**Hawkey, P.M.; (2008).** Prevalence and clonality of extended-spectrum β-lactamases in heavy metal sorption on mineral apatite. *Environmental Scien. Tech*., 31 (3) .

**Hermann**, **T. (2005).** Drugs targeting the ribosome. *Curr. Opin. Struct. Biol.*, 15:355 – 366 .

**Hiari . M. A. (2016).** Chronic Suppurative Otitis media: Microbial and Antimicrobial Findings. *International Journal of Advanced Research*. Vol 4 (1) : 1315- 1320.

**Himpsl** , **S .D. ; Lockatell , C.V.; Hebel , J.R . ; Johnson , D . E . and Mobley , H . L. (2008)**. Identification of virulence determinants in uropathogenic Proteus mirabilis using signature-tagged mutagenesis. *J. Med .Microbiolo*, **57**: 1068-1078.

**Holt, J. G. ; Kreig , N. R. ; Sneath, P. H.A. ; Stanley, J. T. and Williams , S. T. (eds) (1994)** Bergy's manual of determinative bacteriology. 9th. ed Williams and Wilkins , *USA.* P. 532 – 553.

**Holt, J. G. ; Kreig , N. R. ; Sneath, P. H.A. ; Stanley, J. T. and Williams , S. T. (eds) (1994)** Bergy's manual of determinative bacteriology. 9th. ed Williams and Wilkins , *USA.* P. 532 – 553.

**Huang ,Y. ; Xu ,Y.; Wang, Z.; and Lin ,X.(2014).** Antimicrobial Resistance and Genotype Analysis of Extended-Spectrum-*β*-Lactamase-Producing Proteus Mirabilis. *Open Journal of Clinical Diagnostics* ,4: 57-62.

**Hussein ,A .A .(2013) .** phenotypic detection of extended-spectrum betalactamase production in *Proteus mirablis*

isolation from patients with Significant Bacteriuria in Najaf Provina .*QMJ* ,9(16);(146-160).

**Jabur MH, Saedi EAL, Trad JK (2013).** Isolation of Proteus mirabilis and Proteus vulgaris from different 252 clinical sources and study of somevirulence factors from Babylon University,College of medicine. *Pure and Applied Sciences*;21(1):43-48.

**Jacobsen, S. M. & Shirtliff, M. E. (2011).** Proteus mirabilis biofilmsand catheter-associated urinary tract infections. Virulence 2, 460–465.*Iran. EMHJ,* 18(2).

**Jacobsen, S.M.; Stickler, D.J.; Mobley, H.L.T. and Shirtliff, M.E. (2008).** Complicated catheter-associated urinary tract infections due to Escherichia coli and Proteus mirabilis. Clin Microbiol Rev. 21:26–59.

**Jacoby, G. (2012 ).** ß-lactamase classificationand amino acid sequences for TEM, SHVand OXA extended-spectrum and inhibitor resistant enzymes. from://www.lahey.org/Studies/.

**Jacoby, G. and Bush, K. (2005).** Amino acid sequences for TEM, SHV and OXA extended-spectrum and inhibitor resistant β lactamases. (www. Lahey. Org/ studies/ webt. htm).

**Jacoby, J. A. and Bush, K. (2009)."**Amino Acid Sequences for Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant ß- TEM, SHV and OXA Lactamases.

**Janda, J.M.; Abbott, S.L.; Khashe, S. and Probert, W. (2006).** Biochemical identification and characterization of DNA groups within Proteus vulgaris complex. *J Clin Microbiol*. 39 (4):1231-4.

**Jawetz, E. ; J. K. Melnick and E. A. Adelberg (1998).** Enterobacteriaceae in medical microbiology review. 12th ed. P : 223 – 224. Apelton and large , Middle eastol Libravie Dublin , Beirut.

**Jiang, S., Lin, T., Wang, W., Liu, M., Hsueh, P.and Liaw, S. (2010)** .Characterization of UDP-Glucose dehydro-genaseand UDP-Glucose pyrophosphorylase mutants of *Proteus mirabilis*: Defectiveness in polymyxin B resis-tance, swarming, and virulence. *Antimicrob. Agents and Chemother*, **54**(5): 2000-2009.

**Jones, B. V., E. Mahenthiralingam, N. A. Sabbuba, and D. J. Stickler.(2005).**Role of swarming in the formation of crystalline *Proteus mirabilis* biofilms on urinary catheters. J. Med. Microbiol. 54:807–813.

**Jones, C. H.; Tuckman, M.; Keeney,D.; Ruzin,A.; and Bradford, P.A. (2009) .** Characterization and Sequence Analysis of Extended-Spectrum-_-Lactamase-Encoding Genes from *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* Isolates Collected during Tigecycline Phase 3 Clinical Trials . *Antimicrob. Agents and Chemother* .Vol 53( 2) p: 465–475.

**Kader, A. A. and Nasimuzzaman,M. (2001).** Antimicrobial resistance patterns of Gram-negative bacteria isolated from urine cultures in Almana general hospital Ann. *Med. Saudi*. *1*(21): 110 -112.

**Kalai , S.; Achour, W. ; Abdeladhim , A. ; Bejaoui , M. and Benttassen, A. (2005)**. *Pseudomonas aeruginosa* isolated in

immunocompromised patients: antimicrobial resistance, serotyping and molecular typing. *Med. Mal. Infect.* **35** (11): 530 – 535.

**Karlowsky, J. A.; Jones, M. E.; Thornsberry, C.; Friedland, I. R. and Sahm, D. F. (2003)**. Trend in antimicrobial susceptibilities among enterobacteriaceae isolated from hospitalized patients in United States from 1980-2001. *Antimicrob Agents. chemother*. **47**(5):1672-1680.

**Karlowsky, J.A.; Kelly, L.J.; Thornsberry, C.; Jones, M.E. and Sahm, D.F. (2002).** Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of Escherichia coli from female outpatients in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 46:2540–2545.

**Kearns, D.B. (2010).** A field guide to bacterial swarming motility. *Nat. Rev. Microbiol*; **8**(9): 634-644.

**Khalili, H., Soltani, R., Afhami, S., Dashti-Khavidaki, S. and Alijani, B. 2012.** Antimicrobial resistance pattern of Gram-negative bacteria of nosocomial origin at a teaching hospital in the Islamic Republic of

**Kiffer, C.; Hsiung, A.; Oplustil, C.; Sampaio, J.; Sakagami, E.; Turner, p. and Mendes, C.** (2005). Antimicrobial susceptibility of Gram – negative bacteria in Brazilian hospitals: the MYSTIC program Brazil 2003. Braz. J. Infect. Dis. 9 (3): 216 – 224.

**Koneman, E. W.; Allen, S. D. and Janda, W. M. (1992).** Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 4ed. J. B. Lippincott. Philadelphia, USA.

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

**Lachmayr, K.L.; Lee, J.; Kerkhof, L.J.; DiRienzo, A.G.; Cavanaugh, C. M. and Ford, T. E. (2009).** Quantifying nonspecific TEM β-Lactamase (blaTEM) genes in a wastewater stream. *Appl. Environ. Microbiol*. 75 (1) 203-211.

**Lal,P.;Kapil ,A.;Das ,B.K.and Sood ,S.(2007) .** Occurrence of TEM and SHV extended spectrum beta –lactamases (ESBLs) producing *Klebsiella* spp isolated from a tertiary care hospital , *Indian Journal Medical* , 125:173-178.

**Lambert, O.; Michea-Hamzehpour, M.; Kohler, T.; Chau, F.; Fanrisson, F.; Dautrey, S. and Pechere, J. (2001).** Differential selection of multidrug efflux mutants by trovafloxacin and ciprofloxacin in an experimental model of Pseudomonas aeruginosa acutrtimice pneumoniae in ratsAntimicrobialagents chemotherapy, 44:571-576.

**Levinson , W.(2010).** Review of medical microbiology and immunology .*11th ed New York : Lange ,pp*.85-93.

**Li,X. C. ;Lockaten,D.E.;and Johnson,M.C.(2004)**. Development of an intranasal vaccine to prevent UTI Proteus mirabilis .*Infect.Immmun.,*72(1):66-75.

**Liaw, S. J.; La, H. C.; Ho, S. W. and Wang, W. B. (2000).** Inhibition of virulence factor expression and swaring differentiation in *Proteus mirabilis* by.P.nitrophnylglycerol. *Med. Microbiol*. **49**:725-731.

**Livermore ,D .M.; Canton ,R.; Gniadkowski.; Nordmann,; Rossolini, G.M . Arlet ,G.; Ayala ,J. ;Coque ,T.M. ; Kern-Zdanowicz.I.;Luzzaro ,F. ; Poirel ,L. and Woodford,N. (2007).** CTX-M :changing the face of ESBLs in Europe . *J. Antimicrob* .

**Livermore, D. M. (2002).** Multiple Mechanisms of Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin. Infect. Dis*. 34 (5): 634-640.

**Livermore, D. M. (2012) .** Current Epidemiology and Growing Resistance of Gram-Negative Pathogens. *Korean J.Intern Med*.27(2): 128 142.

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

**Livermore, D. M.and Woodford, N . (2006) .** The β-lactamase threat in *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* and *Acinetobacter*. *Trends Microbiol.*, 14(**9)**: 413-420.

**Macfaddin, J.F. (2000**).Biochemical test for bacteria, 3nded.the Williams andWilkins. London. identification of medical Microbiology .8thed .The *McGraw-Hill Companies.USA.*

**Madigan, M. T., Martinko, J. M.,and Parker, J. (2003)**. Brock Biology of Microorganisms. 10th ed., Prentice Hall, Pearon Education Ltd., Upper Saddle River.

**Magiorakos, A.P.; Srinivasan, A.; Carey, R.B.; Carmeli, Y.; Falagas, M.E.; Giske, C.G.; Harbarth, S.; Hindler, JF.; Kahlmeter, G.; Olsson-Liljequist, B.; Paterson, D.L.; Rice, L.B.; Stelling, J.; Struelens, M.J.; Vatopoulos, A.; Weber, J.T. and Monnet, D.L. (2012).** Multidrug-resistant,

extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin. Microbiol. Infect*., 18(3):268-281**.**

**Mahapatra , A. ; Ghosh , S. K. ; Mishra , S. ; Pattnaik , D. ; Pattnaik ,K. and Mohanty , S. K.. "Enterobacter cloacae 2002**: A predominant pathogen in neonatal septicemia . *Indian" Journal of Meaical Microbiology* . 20 ( 2 ) : ISSN 0255 –0857.

**Malion, C. R. and Manuselis, G. (1995).** Textbook of Diagnostic Microbiology. W.B. Sanders company.

**Manos, J. and Belas, R. (2006).** The Genera *Proteus*, *Providencia*, and *Morganella.* Prokaryotes, 3(6):245–269.

**Marin and Gudiol, F. (2003).** Antibiotics beta-lactamase. Enferm. Infec Microbial Clin. 21:42-55.

**Meervenne EV, Coillie EV, Kerckhof FM, et al. (2012)** Strainspecific transfer of antibiotic resistance from an environmental plasmid to foodborne pathogens. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, *ID* 834598, doi:101155/2012/834598.

**Merli , M; Lucidi, C ; Gregorio. D. V; Falcone, M ; Giannelli ,V; Lattanz, B; Giusto ,M ; Ceccarelli ,G; Farcomeni, A; Riggio ,O ; and Venditti, M.(2015).** The Spread of Multi Drug Resistant Infections Is Leading to an Increase in the Empirical Antibiotic Treatment Failure in Cirrhosis: A Prospective Survey. *PLOS ONE* .10(5): e0127448.

**Migliavacca, R.; Migliavacca, A.; Nucleo, E.; Ciaponi2, A.; Spalla,Melissa,; Luca,C.; and Pagani ,D. L.(2007).** Molecular epidemiology of ESβL producing *P. mirabilis* strains from a long-term care and rehabilitation facility in Italy. *NEW MICROBIOLOGICA*, 30: 362-366.

**Mims, C. A., Dockrell, H. M.; Goering, R. V.; Roitt, I; Wakelin, D. and Zuckerman, M. (2004).** Medical Microbiology. 3rd ed. Mosbey of Elsevier Limited.

**Mirsalehian,A.; Feizabadi ,M.; Nakhjavani ,F,;Jabalameli ,F.;Goli ,H. and Kalantari ,N.(2010).** Detection of VEB-1 ,OXA-10 and PER-1 genotypes in extended –spectreum β-lactamase producing *Pseudomonas aeroginosa* strain isolated from burn patients. *Burn* ;36:70 -74.

**Miró, E.; Rivera, A. and Mesa, R. (2004).** Antimicrobians. Societat Catalana de Biologia, Barcelona .Elis β-lactamics . *In J. Ruiz edition*, p. 91-106.

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

**Moore .C. E; Sona ,S; Poda, S; Putchhat ,H; Kumar ,V; Sopheary, S; Stoesser, N; Bousfield, R; Day, N; and Parry .C. M.(2016).** Antimicrobial susceptibility of uropathogens isolated from Cambodian children. *Paediatrics and International Child Health* . VOL 36 (2): 113-117.

**Morgenstein, R. M.(2011).** Proteus mirabilis swarming: O-antigen, Surface Sensing, and the Rcs System. Ph.D. Thesis, Emory University.224 Pages.

**Motulsky.h.j.(2003).**prism 4statistics guide – statistical analyses for laboratory and clinical researchers graphpad software inc.san deig ca.

**Moya**, **B.; Zamorano, L.; Juan, C.; Perez, J. L.; Ge, Y.; Oliver, A. (2010).** Activity of a New Cephalosporin, CXA-101 (FR264205), against {beta}-lactam-resistant pseudomonas aeruginosa mutants selected in vitro and after antipseudomonal treatment of intensive care unit patients. *Antimicrob*. *Agents Chemother*. **54:** 1213-1217.

**Nahar , A. ; Siddiquee , M.; Nahar,S.; Anwar2,K . S.; Ali , S .k . Islam1, I.S.(2014).** Multidrug Resistant-Proteus Mirabilis Isolated from Chicken Droppings in Commercial Poultry Farms: Bisecurity Concern and Emerging Public Health Threat in Bangladesh. *J Biosafety Health Educ* ,2(2): 2332-0893.

**Nakamura,T.; Komatsu,M.; Yamasaki,K.; Fukuda,S.; Miyamoto,Y.; Higuchi,T.; Ono, T. Nishio,H.; Sueyoshi,N.; Kida,K.; Satoh,K.; Toda,H.; Toyokawa,M.; Nishi,I.; Sakamoto,M.; Akagi,M.; Nakai,I.; Kofuku,T.; Orita,T.; Wada,Y.; Zikimoto,T.; Koike,C.; Kinoshita,S.; Hirai,I.; Takahashi,H.; Matsuura, N.; and Yamamoto,Y.(2016).** Epidemiology of *Escherichia coli*, *Klebsiella* Species, and *Proteus mirabilis* Strains Producing Extended-Spectrum **β**-

Lactamases From Clinical Samples in the Kinki Region of Japan. *Am J Clin Pathol* ,137:620-626.

**Neuwirth,C.; Madec,S.; Siebor,E .; Pechinot,A.; Duez, J.; Pruneaux,M.; Fouchereau-Peron , M.; Kazmierczak,A. and Labia, R.(2001).** TEM-89 _-Lactamase Produced by a *Proteus mirabilis* Clinical Isolate: New Complex Mutant (CMT 3) with Mutations in both TEM-59 (IRT-17) and TEM-3. ANTIMICROBIAL *AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 45(12) :3591–3594.

**Nielubowiz, G. R. and Mobley, H.L.T. (2010).** Host pathogen interactions in urinary tract infections. *Nature Rev. Urology* , 7: 430–441.

**Nikaido, H. (2003).** Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited . *Microb.Mol.Biol.Rev*.,67: 593-656.

**O'Hara, C. M. ; Brenner, F. M. ; Miller, J. M. (2000) .** Classification, identification, and clinical significance of *Proteus, Providencia* and *Morganella*. Clinical Microbiology Reviews, **13**(4): 534-546.

**O'Hara, C.M.; Brenner, F.M.and Miller, J.M.(2000).** Classification, identification, and clinical significance of *Proteus, Providencia* and *Morganella*. Clin. Microbiol. Rev., 13(4): 534-546.

**Ojdana , D.; Sacha,P.; Wieczorek, P.; Czaban,S**.; **Michalska,A.; Jaworowska ,J.; Jurczak,A.; Poniatowski,B.; and Tryniszewska E.(2014).** The Occurrence of *bla*CTX-M, *bla*SHV, and *bla*TEM Genes in Extended-

Spectrum $\beta$-Lactamase-Positive Strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis* in Poland. *International Journal of Antibiotics* ,Vol Article ID 935842, 7 pages.

**Okesola, A. O. and Makanjuola, O. (2009).** Resistance to third-generation cephalosporins and other antibiotics by enterobacteriacea in Western Nigeria. *Am. J. Infect. Dise*. **5** (1): 17-20.

**Okimoto, N.; Hayashi, T.; Ishiga, M.; Nanba, F.; Kishimoto, M.; Yagi, S.; Kurihara, T.; Asoka, N. and Tamada, S. (2010).** Clinical features of Proteus mirabilis pneumonia. *J. Infect. Chemother*. 16:364–366.

**Orji, F. T., and Dike, B. O. 2015.** Observations on the current bacteriological profile of chronic suppurative otitis media in South Eastern Nigeria. *Annals of Medical and Health Sciences Research*. 5(2), pp: 124-128.

**Pagani,L.; Migliavacca,R.; Pallecchi,L.; Matti,C.; Giacobone, E.; Amicosante,G.; Romero, E.and Rossolini, G. M.(2002).** Emerging Extended-Spectrum _-Lactamases in *Proteus mirabilis*. *OURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY*, 40(4): 1549–1552 .

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

**Paterson, D. L. and Bonomo, R. A.** (2005). Extended-spectrum β-lactamases: a clinical update. *Clin. Microbiol. Rev*. 18 : 657-686.

**Paterson, D. L.; Hujer, K. M.; Hujer, A. M.; Yeiser, B.; Bonomo, M. D.; Rice, L. B.; Bonomo, R. A. and the International Klebsiella Study Group. (2003).** Extended-spectrum β-lactamases in Klebsiella pneumoniae blood-stream isolates from seven contries: dominance and widespread prevalence of SHV- and CTX-M-type β-lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother*. 47: 3554-3560.

**Peirano,G. and Pitout,J.D.D.(2010).** Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M β-lactamase :The worldwide emergence of clone ST31 025:H4. *Internationl journal of Antimicrobial Agents* ,35(4): 316-321.

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

**Penner, J. L. (1981).** The tribe proteeae P : 1204 – 1224 In:The Prokaryotes, Starr,M.p.; Stolp,H. ; Truper, H. G.; Balows,A. and Schlegel,H. C. (eds). Springer – Virlage , Berlin.

**Perilli, M.; Segatore,B.; Massis,M. R. D.; Riccio, M. L.; Bianchi,C.; Zollo,A.; Rossolini,G.M.; and Amicosante, G (2000).** TEM-72, a New Extended-Spectrum b-Lactamase Detected in *Proteus mirabilis* and *Morganella morganii* in Italy. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY*, 44(9) :2537–2539 .

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

**Picao, R. C.; Poirel, L.; Gales, A. C.and Nordmann, P. (2009).** Further Identification of CTX-M-2 Extended-Spectrum beta-Lactamase in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother*., 53: 2225-2226.

**Piet,V. and Erice,V. (2002).** Treatment of chronic suppurative otitis media with ofloxacin in hydroxypropyl methyl cellulose ear drops : clinical bacteriological study in arural area of Malawi-Int. *J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 63(1):49-56.

**Pitout, J.D. (2008).** Multiresistant Enterobacteriaceae: new threat of an old problem. Expert Rev. *Anti-Infect. Ther*., 6:(5)657– 669.

**Pitout, J.D. (2008).** Multiresistant *Enterobacteriaceae*: new threat of an old problem. Expert Rev. Anti-Infect. Ther., 6:(5)657– 669.

**Prescott, J.F. (2008).** Antimicrobial use in food and companion animals. *Anim. Health. Res*. Rev., 9(Special Issue 02):127-133.

**Prescott, L.M.; Harley, J.P. and Klein, D.A. (2005)**. Microbiology: 780-798 Antimicrobiolgy chemotherapy. 6th ed., McGraw Hill, Boston, New York.

**Queenan**, **A. M. and Bush, K. (2007**). "Carbapenemases: the Versatile -Lactamases." *Clin. Microbiol. Rev* **20**: 440-458.

**Rahman, M.M.; Haque, J.A.; Hossain, M.A.;Sultana, R.; Islam, F.and Islam, S. (2004).** Prevalence of extended spectrum beta lactamase-producing Escheria coliand Klebsiella pneumoniae in an urban hospital in Dhaka, Bangladesh. *Int. J. Antimicrob .Agents*., 24(5):508-510.

**Ramakrishnan, K. and Scheid, D. C. (2005)**. Diagnosis and Management of acute pyelonephritis in adults. *American family physician*. 71(5): 933-942.

**Ramirez**, **M. S. and Tolmasky, M.E. (2010).** Aminoglycoside modifying enzymes. *Drug Resist. Updat*., 13(6):151-171.

**Rashid ,T.; Tiwana, H.; Wilson, C.and Ebringer ,A.(2001)**. Rheumatoid arthritis as an autoimmune disease caused by *Proteus* urinary tract infections: A proposal for a therapeutic protocol. *IMA J.* 3:675–680.

**Reynolds, M. G. (2000).** Compensatory evolution in rifampin-resistant *Escherichia coli*. *Genetics*, *156*:1471-1481.

**Rossolini ,G.M.;D'Andrea ,M.M.and Mugnaioli ,C.(2008).** The spread of CTX-M-type extended –spectrum beta-lactamase . *Clinical Microbilogy and infection* .14,Suppl, 33-41.

**Rozalski, A. and Staczek, P. (2011).** Proteus. In: Molecular detection of human bacterial pathogens. In: D. Liu (ed.), CRC Press, Taylor and Francis Group. *Boca Raton*, P. 981–996.

**Ryan, K. J. and Ray, C. G. (2004).** sherris medical microbiology 4th ed. *McGraw-Hill-NewYork*. S5-9.

**Ryan, K. J. and Ray, C.G.(2004).** Introduction to Infectious Diseases : Sherris Medical Microbiology.( 4th ed.) Mc Graw-Hill , New York. S5-9.

**Samaha-Kfoury**, **J. N.; and Araj, G. F. (2003).** Recent developments in β-lactamases and extended-spectrum β-lactamases. *BMJ*. **327**: 1209-1213.

**Schweizer, H.P. (2003).** Efflux as a mechanism of resistance to antimicrobials in *Pseudomonas aeruginosa* and related bacteria : unanswered questions. *Genetic and molecular research*. *2*(1): 48-62.

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

**Sharma, .A; Shrestha, S.; Upadhyay, S .and Rijal, P. (2011).**Clinicaland Bacteriological profile of urinary tract infection in children at Nepal Medical College Teaching Hospital .*J. Nepal Med. Coll*.,13(1): 24-26.

**Sharma, J.; Sharma, M.and Roy, P.(2010).** Detection of TEM and SHV genes in Escheria coli and Klebsiella pneumoniae isolates in a tertiary care hospital from India, *Indian J. Med. Res.,* 132(3):332-336.

**Shobha ,K.L. ; Gowrish,R.S. ; Sugandhi ,R.and Sreeja.C.K.(2007).** Prevalence of extended –spectrum β-lactamase in urinary isolates of *Escherichia coli* , *Klebsiella* and *Citrobacter* Species and their Antimicrobial Suseptiability Pattern in tertiary care hospital ,*Indian journal for the Practicing Doctor*;3(6):01-02.

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

**Singh, V.; Sharma,L.; Kanta,R.; Sharma,S.; Chauhan, S. and Chauhan, P. K. (2010).** Antimicrobial activity of *Proteus* bacteria isolated from raw milk of Paonta Valley. *Int. J. Phar. Bio Sci. 1*(2):1-4.

**Smet,A.;Martel ,A.; Persoons.D.; Dewulf ,J.; Heyndrickx ,M.; Claeys ,G .Lonte, M.; Van-Meensel, B.; H aesebrouck ,F.and Butaye ,P.(2010).** Characteriazation of *of* extended –spectrum beta-lactamases produced by *Escherichia coli* isolated from hospitalized and non hospitalized patients :Emergence of CTX-M -15-Producing strain causing urinary tract infection .*Microb.Drug Resist,*16(2):129-34.

**Sosa, V.; Schlapp, G. and Zunino, P. (2006).** Proteus mirabilis isolates of different origins do not show correlation with virulence attributes and can colonize the urinary tract of mice. Laboratory de Microbiological, Institute Investigations. Biologics Clemente. Eatable. Avandia. Italia. 3318. CP11600 Montevideo. Uruguay.

**Sougakoff,W.; Sirot, D.; Chanal,C.; AND Sirot , J.(2001) .** New TEM Variant (TEM-92) Produced by *Proteus mirabilis* and *Providencia stuartii* Isolates. *Antimicrobial Agents . Chemotherapy* , 45(4): 1278–1280 .

**Spanu, T.; Luzzaro, F.; Perilli, M.; Amicosanti, G.; Toniolo, A.; Fadda, G.; and The Italian ESBL Study Group (2002).** Occurance of extended-spectrum β-lactamases in

members of the family enterobacteriaceae in Italy: implications for resistance to β-lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrobial Agents . Chemotherapy. Jan. 46* (1): 196-202.

**Sridhar,R.P.N.(2012).** Extended –Spectrum Beta-lactamases .JJMMC, Davangere. www. Microrao.com.

**Stickler, D. J.(2008).** Bacterial biofilms in patients with indwelling urinary catheters. *Rev. Nature. Clin. Urol.* 11(5): 598-608.

**Stickler, D.J. and Feneley, R.C.L. (2010).** The encrustation and blockage of long-term indwelling bladder catheters: a way forward in prevention and control. *Spinal Cord*, 48: 784–790.

**Struble, K.; Bronze, M. S.; Jackson. R.L; Gonzalez, G.; Talavera, F.; Glatt, A. and B. A .Cunha. (2009).** "Proteus Infections: Overview", eMedicine.

**Sturenburg , E. ; and Mark , D.(2003).** Extended spectrum β-Lactamase implication for the clinical Microbiolpgy laboratory *; therapy and infection control . I . Inf*., 47 :273- 295 .

**Subha, A. ; . Renuka,.D. V & Ananthan, S. (2003).**AmpC b-lactamase producing multidrug resistant strains of *Klebsiella* spp. & *Escherichia coli* isolated from children under five in Chennai. *Indian J Med Res* ,117: pp 13-18.

**Swierzko, A.S.; Kirikae, T.; Kirikae, F.; Hirata, M.; Cedzynsk, M.; Ziolkowski, A.; Hirai, Y.; Kusumoto, S.; Yokochi, T.;and Nakano, M.(2000).** Biological Activities of Lipopolysaccharides Of *Proteus* Species & Their Interactions With Polymyxin-B and An 18-Kda Cationic Antimicrobial Protein (cap 18) Derived Peptide. *J.Med.Microbiology*. **49**(2): 127-138.

**Tasl, H. and Bahar, H. (2005).** Molecular characterization of TEM- and SHV-derived extended spectrum β-lactamases in hospital-based Enterobacteriaceae in Turkey. *Jpn. J. Infect. Dis*. 58: 162-167.

**Tenover, F. C. (2006).** Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria, Am. J. Med., 119: 3–10.

**Thomas, L.C. (2007).** Genetic methods for rapid detection of medicallyimportantnosocomial bacteria. Faculty of Medicine, Department of Medicine, The University of Sydney, Australia.

**Todar, K. (2002)** Antimicrobial agents used in treatment of infectious disease. *Ind. J. Med. Res. Jan; 112*: 130-148.

**Toth , V.; Emody, L. (2000) .** *Proteus* virulence: in-vement of the pore forming alpha-hemolysin. *Acta.Microbiol.Immunol.Hung*., **47**(4): 457-70.

**Treviño, M.; Navarro,D.; Barbeito ,G. Areses ,P. García-Riestra , C .and J. Regueiro, B.(2012).** *Proteus mirabilis* productor de AmpC plasmídica en el Área Sanitaria de Santiagode Compostela: prevalencia y caracterización molecular por rep-PCR y MALDI-TOF MS. *Rev Esp Quimioter*;25(2):122-128.

**Trivedi. M .K ; Branton, A; Trivedi, D; Nayak, G; Mondal ,S. C; and Jana, S. (2016).**Antimicrobial Susceptibility of Proteus mirabilis: Impact of Biofield Energy Treatment. *Microbial & Biochemical Technology*. Vol 8(1): 025-029.

**Tumbarello,M.; Trecarichi ,E.M.; Fiori, B.; Losito, A. R. ;D'Inzeo, T . Campana, L.; Ruggeri ,A.; Di Meco, E.E.; Liberto, Fadda, G.; Cauda , R.; and Spanub ,T. (2012)**. Multidrug-Resistant *Proteus mirabilis* Bloodstream Infections:

Risk Factors and Outcomes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy p*. Vol 56 (6) : 3224–3231.

**Turner,P.J.(2005).** Extended –Spectrum ă-lactamases .*Clinical infection Disease* ,41(4):273-5.

**Ueda, Y.and Sunagawa, M.(2003).** *In vitro*and *in vivo* activity of novel 2-(thiazol-2-ylthio)-1-beta-methyl carbapenemes with potent activity against multiresistant gram-positive bacteria. *Antimicrob. Agents. Chemother*.,47(8): 2471-2478.

**U-Syn Ha and Yong-Hyun Cho(2006)**. Catheter-associated urinary tract infections: new aspects of novel urinary catheters. *International Journal of Antimicrobial Agents.***28**(6):485-490.

**Vakulenko, S.B. and Mobashery, S. (2003).** Versatility of aminoglycosides and prospects for their future. *Clin. Microbiol. Rev.*, 16(3):430-450.

**Van Delden, C. and Iglewski, B.H. (1998).** Cell to cell signalling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerging Infectious Disease,* 4(4): 1- 14.

**Vella, P.; Hussein, W. M.; Leung, E. W.; Clayton, D.; Ollis, D. L; Mitic, N.; Schenk, G. and McGeary, R. P. (2011).** The identification of new metallo-β-lactamaseinhibitor leads from fragment –based screening . School of Chemistry and Molecular Bioscience, Brisbane.

**Walsh, C. (2000).** Molecular mechanisms that confer antibacterial drug resistance. *Nature.*, 406: 775-781.

**Wang, J; Chen ,P; Chang ,S ; Shiau, Y ; Wang, H ; Lai ,J ; Huang, I Tan ,M ; Lauderdale ,T,Y; and Hospitals ,T.( 2014).** Antimicrobial susceptibilities of Proteus mirabilis: a longitudinal

nationwide study from the Taiwan surveillance of antimicrobial resistance (TSAR) program .*BMC Infectious Diseases*/. 14:486.

**Wax, R.G.; Lewis, K.; Salyers, A.A. and Taber, H. (2008).** Bacterial resistance to antimicrobials. 2nd ed. *CRC Press*, Taylor & Francis Group.

**Webster, G.F. (2002).** Acne vulgaris. BMJ. *325*: 475 - 479.

**WHO (Word Health Organization) (2001).** World Health Organization Monographys on selected medical plants. Geneva.

**Wilke, M. S.; Lovering A. L. and Strynadka N. C. J. (2005).** B-Lactam antibiotic resistance: a current structural perspective. Curr. Opin. Microbiol., 8(5): 525-533.

**Winn, W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P. and G. Woods. (2006).** Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 6th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

**Woerther,P.L.; Angebault,C.; Lescat,M. ; Ruppe,E.; Skurnik,D. Elmniai ,A.; Clermont,O.; Jacquier,H.; Da Costa ,A.; Renard ,M.; Bettinger ,R.M.; Epelboin,L.; Dupont,C.; Guille-mot,D.; Rousset,F. Arlet ,G.;Dena-mur,.;Djossou, F. and Andremont ,A.(2010).** Emergence and dissemination of Extended –Spectrum Beta-lactamases producing *Escherichia coli* in the community : lessons from the study of a remote and controlled population.*J. Infect. Dis*. 202 ,515-523.

**Yah S. C; Eghafona N.O; Oranusi S; Abouo A. M. (2007).** Widespread plasmid resistance genes among Proteus species in

diabetic wounds patients in ABUTH Zaria. *Afr. J. Biotechnol*. 6(15): 1757-1762.

**Yang, Y.; Gong, S. and Liu, Y. (2001).** The clinical investigation of bacteriology of chronic suppurative otitis media. *Lin. Chung. Er. Bi. Yan. Hou. Ke. Za Zhi.* 15(12): 550-552.

**Yao, J. D. C.,and Moellering, R. C. (2003)**. Antibacterial agentsand susceptibility test methods, In: Manual of clinical microbiology, Murray, P. R. **;** E. J. Baron, J. H. **;** Jorgensen M. A. **;** Pfaller, and R. H. (eds), 8thed. *ASM Press, Washington*, DC. p. 1039-1073 .

**Zhanel,G.G.; Karloesky, J. A.; Harding, G. K. M.; Carrie, A.; Mazzulli, T.; Low, D. E.; Kibsey, P.; Roscoe, D. L.; Gibb, A. P.; Rennie, R.; Bolndeau, J. ; Dubois, J. ; Loo,V. ; Laverdiere, M. and Hoban, D. J. (2000)**. A Canadian national surveillance study of urinary tract isolates from outpatients: comparison of the activites of trimethoprime-sulfamethoxazole, ampicillin, mecillinam, nitrofurantoin, and ciprofloxacin. Antimicrobial. *Agents. Chemotherapy*. 44(4): 1089-1092.

**Zhao, H.; R.B.Thompson;V.Locketelland H. L. Mobley.1998.** Use of green fluorescentprotein to assess ureasegene expression by uropathogenic Proteus mirabilis during experimental ascending U.T.I. *infect . and Immune.*. 66: 330-5.

**Zuhir , R; Alaubydi, M. A. S. (2016).** Extraction and Partial Purification of Lipopolysaccharide from Clinical *Proteus mirabilis* Isolate and Compared with Standard Bacteria. *Iraqi Journal of Science, 2016, Vol. 57, No.1C, pp: 599-608.*

# الملاحق

# Appendices

**ملحق(1): يوضح الاختبارات الكيميوحيوية التشخيصية لبكتريا *P.mirablis***

| نوع الاختبار | النتيجة |
|---|---|
| **اشكال الخلايا** | **عصوية** |
| **تفاعل الخلايا مع صبغة كرام** | **-** |
| **النمو على وسط الماكونكي الصلب** | **+** |
| **الكاتليز** | **+** |
| **الاوكسديز** | **-** |

| | |
|---|---|
| فوكس-بروسكاور | - |
| الاندول | - |
| احمر المثيل | + |
| تحلل الـدنييز | + |
| استهلاك السترات | + |
| اليوريز | + |
| انتاج H2S | + |
| النمو على وسط TSI | Acid /Alkaline |
| كلوكوز | + |
| فركتوز | + |
| كالاكتوز | + |
| مانوز | - |
| لاكتوز | - |
| مالتوز | - |

**ملحق (2)** :نتائج تشخيص *Proteus mirabilis* بنظام Api 20E

| النتائج Results | | الأنزيمات Enzymes | الماده الأساس Substrates | الأختبار Test |
|---|---|---|---|---|
| موجبة Positive | سالبة Negative | | | |
| أصفر | عديم اللون | Beta-Galactosidase | Ortho-nitro phenyl-galactosise | ONPG |
| أحمر برتقالي (1) | أصفر | Arginine Dehydrolase | Arginine | ADH |
| برتقالي | أصفر | Lysine decaboxylase | Lysine | LDC |
| أحمر برتقالي (1) | أصفر | Ornithine decaboxylase | Ornithine | ODC |
| أخضر ازرق/ مزرق | أخضر شاحب/ أصفر | Citrate utilization | Sodium citrate | CIT |
| راسب أسود | عديم اللون | H2S production | Sodium Thio sulphate | H2S |
| وردي/ أحمر | أصفر | Urease | Urea | URE |
| بني غامق | أصفر | Tryptophane deaminase | Tryptophane | TDA |
| حلقه حمراء * | عديم اللون / حلقه صفراء | Indole production | Tryptophane | IND |
| أحمر/ وردي * | أصفر/عديم اللون | Aciton production | Sodium pyrovate | VP |
| أنتشار الصبغة السوداء | عدم أنتشار الصبغه السواء | Gelatinase | Gelatin | GEL |
| أصفر | أزرق/أزرق مخضر | Fermentation /Oxidation(2) | Glucose | GLU |

| | | | | |
|---|---|---|---|---|
| أصفر | أزرق/أزرق مخضر | Fermentation /Oxidation(2) | Mannitol | MAN |
| أصفر | أزرق/أزرق مخضر | Fermentation /Oxidation | Inositol | INO |
| أصفر | أزرق/أزرق مخضر | Fermentation /Oxidation | Sorbitol | SOR |
| أصفر | أزرق/أزرق مخضر | Fermentation /Oxidation | Rhamnose | RHA |
| أصفر | أزرق/أزرق مخضر | Fermentation /Oxidation | Sucrose | SAC |
| أصفر | أزرق/أزرق مخضر | Fermentation /Oxidation | Melibiose | MEL |
| أصفر | أزرق/أزرق مخضر | Fermentation /Oxidation | Amygdalin | AMY |
| أصفر | أزرق/أزرق مخضر | Fermentation /Oxidation | Arabinose | ARA |

**(١) :اللون البرتقالي بعد ربع ساعة من الحضن يعد سالباً.**
**(٢) : يتم قراءة النتائج بعد إضافة الكواشف.**
**(٣) : التخمر يتكون في الجزء السفلي والأكسدة في الجزء العلوي.**

**ملحق(3): نتائج تسجيل جينات المقاومة نوع TEM لـ14عزلة لبكتريا *Proteus mirabilis* المحلية في بنك الجينات NCBI**

**LOCUS Seq1 452 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ3 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-1 (blaTEM-1) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq1

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

SOURCE *Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

.Enterobacteriaceae; *Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 452

.**AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 452

.**AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..452

*"organism="Proteus mirabilis/*

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ3/

"isolation_source="Urine/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 126 a 113 c 107 g 106 t

ORIGIN

tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat gagcactttt aaagttctgc ١

tatgtggtgc ggtattatcc cgtgttgacg ccgggcaaga gcaactcggt cgccgcatac ٦١

actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg ١٢١

gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat gagtgataac actgctgcca ١٨١

acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgctttttg cacaacatgg ٢٤١

gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg ٣٠١

acgagcgtga caccacgatg cctgcagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg ٣٦١

gcgaactact tactctagct tcccggcaac aa ٤٢١

**LOCUS Seq2 452 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ18 isolate extended-spectrum

***.**beta-lactamase TEM-1 (blaTEM-1) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq2

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 452

.**AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 452

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science ,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation .provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence .represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..452

*"organism="Proteus mirabilis/*

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ18/

"isolation_source="Burn/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 126 a 113 c 107 g 106 t

ORIGIN

tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat gagcactttt aaagttctgc ١

tatgtggtgc ggtattatcc cgtgttgacg ccgggcaaga gcaactcggt cgccgcatac ٦١

actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg ١٢١

gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat gagtgataac actgctgcca ١٨١

acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgctttttg cacaacatgg ٢٤١

gggatcatgt aactcgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg ٣٠١

acgagcgtga caccacgatg cctgcagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg ٣٦١

gcgaactact tactctagct tcccggcaac aa ٤٢١

**LOCUS Seq3 254 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ2 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-89 (blaTEM-89) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq3

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

.Enterobacteriaceae; Proteus

(REFERENCE 1 (bases 1 to 254

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 254

.**AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..254

"organism="Proteus mirabilis/

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ2/

"isolation_source="Urine/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 66 a 65 c 69 g 54 t

ORIGIN

gggaaccgga gctgaatgaa gccataccaa acgacgagcg tgacaccacg atgcctgcag ١

caatggcaac aacgttgcgc aaactattaa ctggcgaact acttactcta gcttcccggc ٦١

aacaattaat agactggatg gaggcggata aagttgcagg accacttctg cgctcggccc ١٢١

ttccggctgg ctggtttatt gctgataaat ctggagccag tgagcgtgga tctcgcggta ١٨١

tcattgcagc actg ٢٤١

**LOCUS Seq4 252 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ3 isolate extended-spectrum

***.**beta-lactamase TEM-89 (blaTEM-89) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq4

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 252

.**AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 252

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..252

*"organism="Proteus mirabilis/*

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ3/

"isolation_source="Ear/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 66 a 65 c 68 g 53 t

ORIGIN

gggaaccgga gctgaatgaa gccataccaa acgacgagcg tgacaccacg atgcctgcag ١

caatggcaac aacgttgcgc aaactattaa ctggcgaact acttactcta gcttcccggc ٦١

aacaattaat agactggatg gaggcggata aagttgcagg accacttctg cgctcggccc ١٢١

ttccggctgg ctggtttatt gctgataaat ctggagccag tgagcgtgga tctcgcggta ١٨١

tcattgcagc ac ٢٤١

**LOCUS Seq5 149 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ1 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-160 (blaTEM-160) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq5

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 149

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 149

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science ,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation .provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence .represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..149

"organism="Proteus mirabilis/

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ7/

"isolation_source="Urine/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 30 a 37 c 44 g 38 t

ORIGIN

ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac ١

ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggt ttattgctga taaatctgga gccggtgagc ٦١

gtggatctcg cggtatcatt gcagcactg ١٢١

**LOCUS Seq6 146 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ2 isolate extended-spectrum

***.**beta-lactamase TEM-160 (blaTEM-160) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq6

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 146

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 146

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science ,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation .provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence .represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..146

"organism="Proteus mirabilis/

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ8/

"isolation_source="Ear/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 30 a 36 c 43 g 37 t

ORIGIN

ctctagcttc ccggcaacaa ttaatagact ggatggaggc ggataaagtt gcaggaccac ١

ttctgcgctc ggcccttccg gctggctggt ttattgctga taaatctgga gccggtgagc ٦١

gtggatctcg cggtatcatt gcagca ١٢١

**LOCUS Seq7 581 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

*DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ2 isolate extended-spectrum*

*****.beta-lactamase TEM-72 (blaTEM-72) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq7

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

.Enterobacteriaceae; Proteus

(REFERENCE 1 (bases 1 to 581

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 581

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..581

*"organism="Proteus mirabilis/*

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ2/

"isolation_source="Urine/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 153 a 144 c 147 g 137 t

ORIGIN

tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat gagcactttt aaagttctgc ١

tatgtggtgc ggtattatcc cgtgttgacg ccgggcaaga gcaactcggt cgccgcatac ٦١

actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg ١٢١

gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat gagtgataac actgcggcca ١٨١

acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgctttttg cacaacatgg ٢٤١

gggatcatgt aacccgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg ٣٠١

acgagcgtga caccacgacg cctgcagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg ٣٦١

gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga ctggatggag gcggataaag ٤٢١

ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg gtttattgct gataaatctg ٤٨١

gagccagtaa gcgtggatct cgcggtatca ttgcagcact g ٥٤١

**LOCUS Seq8 579 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ3 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-72 (blaTEM-72) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq8

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 579

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 579

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..579

*"organism="Proteus mirabilis/*

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ3/

"isolation_source="Ear/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 153 a 144 c 146 g 136 t

ORIGIN

tccttgagag ttttcgcccc gaagaacgtt ttccaatgat gagcactttt aaagttctgc ١

tatgtggtgc ggtattatcc cgtgttgacg ccgggcaaga gcaactcggt cgccgcatac ٦١

actattctca gaatgacttg gttgagtact caccagtcac agaaaagcat cttacggatg ١٢١

gcatgacagt aagagaatta tgcagtgctg ccataaccat gagtgataac actgcggcca ١٨١

acttacttct gacaacgatc ggaggaccga aggagctaac cgcttttttg cacaacatgg ٢٤١

gggatcatgt aacccgcctt gatcgttggg aaccggagct gaatgaagcc ataccaaacg ٣٠١

acgagcgtga caccacgacg cctgcagcaa tggcaacaac gttgcgcaaa ctattaactg ٣٦١

gcgaactact tactctagct tcccggcaac aattaataga ctggatggag gcggataaag ٤٢١

ttgcaggacc acttctgcgc tcggcccttc cggctggctg gtttattgct gataaatctg ٤٨١

gagccagtaa gcgtggatct cgcggtatca ttgcagcac ٥٤١

**LOCUS Seq9 356 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ1 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-177 (blaTEM-177) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq9

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 356

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 356

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..356

*"organism="Proteus mirabilis/*

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ1/

"isolation_source="Urine/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 94 a 92 c 93 g 77 t

ORIGIN

tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg agctaaccgc ١

ttttttgcac aacatggggg atcatgtaac ccgccttgat agttgggaac cggagctgaa ٦١

tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgacgcct gcagcaatgg caacaacgtt ١٢١

gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat taatagactg ١٨١

gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg ctggctggtt ٢٤١

tattgctgat aaatctggaa ccggtaagcg tgggtctcgc ggtatcattg cagcac ٣٠١

**LOCUS Seq10 358 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ2 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-177 (blaTEM-177) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq10

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 358

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 358

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..358

*"organism="Proteus mirabilis/*

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ2/

"isolation_source="Burn/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 94 a 92 c 94 g 78 t

ORIGIN

tgataacact gcggccaact tacttctgac aacgatcgga ggaccgaagg agctaaccgc ١

ttttttgcac aacatggggg atcatgtaac ccgccttgat agttgggaac cggagctgaa ٦١

tgaagccata ccaaacgacg agcgtgacac cacgacgcct gcagcaatgg caacaacgtt ١٢١

gcgcaaacta ttaactggcg aactacttac tctagcttcc cggcaacaat taatagactg ١٨١

gatggaggcg gataaagttg caggaccact tctgcgctcg gcccttccgg ctggctggtt ٢٤١

tattgctgat aaatctggaa ccggtaagcg tgggtctcgc ggtatcattg cagcactg ٣٠١

**LOCUS Seq11 318 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ1 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-3 (blaTEM-3) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq11

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

.Enterobacteriaceae; Proteus

(REFERENCE 1 (bases 1 to 318

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 318

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..318

"organism="Proteus mirabilis/

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ1/

"isolation_source="Urine/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 98 a 61 c 71 g 88 t

ORIGIN

tgcatctttg agcgctctga tctgaatatc gagggactgc tggctggttg agacccgcgc ١

ataaccaaaa attcgcataa aatgtacctt aaatcgaata tcagacacga tgtgtctatt ٦١

atgccaaaat gacgatttaa tggacactca aacgaagccg ttttactatg tctgataatt ١٢١

tataacattt cggacggttg cgaaattgtt aatatataac cgtcaggcag gaaggcctat ١٨١

atcatttcgg acggttgcga aattgttaat atataaccgt caggcaggaa ggcctatatg ٢٤١

gggtcgtctc agaaaacg ٣٠١

**LOCUS Seq12 316 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ2 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-3 (blaTEM-3) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq12

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 316

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 316

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..316

*/organism="Proteus mirabilis"*

/mol_type="genomic DNA"

/strain="PM-IQ2"

/isolation_source="Stool"

/db_xref="taxon:584"

/country="Iraq"

/collection_date="20-Jan-2016"

/identified_by="Hassan Hachim"

/[note="[cultured bacterial source

BASE COUNT 98 a 60 c 70 g 88 t

ORIGIN

tgcatctttg agcgctctga tctgaatatc gagggactgc tggctggttg agacccgcgc ١

ataaccaaaa attcgcataa aatgtacctt aaatcgaata tcagacacga tgtgtctatt ٦١

atgccaaaat gacgatttaa tggacactca aacgaagccg ttttactatg tctgataatt ١٢١

tataacattt cggacggttg cgaaattgtt aatatataac cgtcaggcag gaaggcctat ١٨١

atcatttcgg acggttgcga aattgttaat atataaccgt caggcaggaa ggcctatatg ٢٤١

gggtcgtctc agaaaa ٣٠١

**LOCUS Seq13 636 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016//**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ1 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-156 (blaTEM-156) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq13

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 636

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 636

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..636

*"organism="Proteus mirabilis/*

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ1/

"isolation_source="Urine/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 167 a 153 c 166 g 150 t

ORIGIN

agatcagttg ggtgcacgag tgggttacat cgaactggat ctcaacagcg gtaagatcct ١

tgagagtttt cgccccgaag aacgttttcc aatgatgagc acttttaaag ttctgctatg ٦١

tggcgcggta ttatcccgtg ttgacgccgg gcaagagcaa ctcggtcgcc gcatacacta ١٢١

ttctcagaat gacttggttg agtactcacc agtcacagaa aagcatctta cggatggcat ١٨١

gacagtaaga gaattatgca gtgctgccat aaccatgagt gataacactg cggccaactt ٢٤١

acttctgaca acgatcggag gaccgaagga gctaaccgct tttttgcaca acatagggga ٣٠١

tcatgtaact cgccttgatc gttgggaacc ggagctgaat gaagccatac caaacgacga ٣٦١

gcgtgacacc acgatgcctg cagcaatggc aacaacgttg cgcaaactat taactggcga ٤٢١

actacttact ctagcttccc ggcaacaatt aatagactgg atggaggcgg ataaagttgc ٤٨١

aggaccactt ctgcgctcgg ccccttccggc tggctggttt attgctgata aatctggagc ٥٤١

cggtgagcgt gggtctcgcg gtatcattgc agcact ٦٠١

**LOCUS Seq14 634 bp DNA linear BCT 29-AUG-2016**

DEFINITION UNVERIFIED: Proteus mirabilis PM-IQ2 isolate extended-spectrum

*****.beta-lactamase TEM-156 (blaTEM-156) gene, partial sequence**

ACCESSION Seq14

VERSION

.KEYWORDS UNVERIFIED

*SOURCE Proteus mirabilis*

*ORGANISM Proteus mirabilis*

;Bacteria; Proteobacteria; Gammaproteobacteria; Enterobacteriales

*.Enterobacteriaceae; Proteus*

(REFERENCE 1 (bases 1 to 634

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Prevalence of TEM beta- Lactamase Proteus mirabilis in AL-Diwaniya

city

JOURNAL Unpublished

(REFERENCE 2 (bases 1 to 634

**.AUTHORS kadum,N.J. and Alwan,S.K**

TITLE Direct Submission

,JOURNAL Submitted (29-AUG-2016) Microbiology, College of Science

,University of Al-Qadissyia, Al-Diwanyia street, Al-Diwanyia

Alqadissiyia 00964, Iraq

COMMENT GenBank staff is unable to verify sequence and/or annotation

.provided by the submitter

.Bankit Comment: ALT EMAIL:njnjnj.hu4@gmial.com

Bankit Comment: Vecscreen Comment:Submitter says that this sequence

.represents a Cloning Vector

.Bankit Comment: TOTAL # OF SEQS:14

.Bankit Comment: TOTAL # OF SETS:14

##Assembly-Data-START##

Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing

##Assembly-Data-END##

FEATURES Location/Qualifiers

source 1..634

*"organism="Proteus mirabilis/*

"mol_type="genomic DNA/

"strain="PM-IQ2/

"isolation_source="Burn/

"db_xref="taxon:584/

"country="Iraq/

"collection_date="20-Jan-2016/

"identified_by="Hassan Hachim/

"[note="[cultured bacterial source/

BASE COUNT 167 a 152 c 166 g 149 t

ORIGIN

agatcagttg ggtgcacgag tgggttacat cgaactggat ctcaacagcg gtaagatcct ١

tgagagtttt cgccccgaag aacgttttcc aatgatgagc acttttaaag ttctgctatg ٦١

tggcgcggta ttatcccgtg ttgacgccgg gcaagagcaa ctcggtcgcc gcatacacta ١٢١

ttctcagaat gacttggttg agtactcacc agtcacagaa aagcatctta cggatggcat ١٨١

gacagtaaga gaattatgca gtgctgccat aaccatgagt gataacactg cggccaactt ٢٤١

acttctgaca acgatcggag gaccgaagga gctaaccgct tttttgcaca acatagggga ٣٠١

tcatgtaact cgccttgatc gttgggaacc ggagctgaat gaagccatac caaacgacga ٣٦١

gcgtgacacc acgatgcctg cagcaatggc aacaacgttg cgcaaactat taactggcga ٤٢١

actacttact ctagcttccc ggcaacaatt aatagactgg atggaggcgg ataaagttgc ٤٨١

aggaccactt ctgcgctcgg cccttccggc tggctggttt attgctgata aatctggagc ٥٤١

cggtgagcgt gggtctcgcg gtatcattgc agca ٦٠١

## Summary

*Proteus mirabilis* is widespread in the environment and responsible for nosocomial infections and occur a part of the normal flora for human gut and is also of great importance in urinary tract inflammation ,burn infection, otitis media ear infection , bacteremia was therefore a complete current study of each clinical samples mentioned above.

The samples of the study were collected from different clinical sources 185 isolates of hospitals of the Diwaniyah city during the period from October 2015 to April 2016 and divided the samples, according to sources collected into five groups (44 swab ear, 40 swab burns, 37 a stool sample, 57 urine sample and 7 blood sample), as results showed that

cultural and biochemical tests 69 isolated belong to *P.mirabilis*, diagnosis was confirmed by api 20E and the use of polymerase chain reaction.

The sensitivity of isolates P.mirabilis tested about 15 types of antibiotics by disk diffusion method, and belonging to ten classes of antibiotics,The showed the proportion of resistant *P.mirabils* antimicrobial β- lactam antibiotic represented in Amoxicillin resistance and Ampicillin 84.05%, Amoxicillin/cluvanic acid 47.82%, Ticarcillin and , Cefatozidime 66.66%, Cefotaxim 53.62%, Meropenem 5.6%. The rate of resistance to antibiotics aminoglycosides represented in Amikacin resistance 17.36 %, Gentamicin percentage resistance 33.33%, Quinolones represented in Nalidic acid resistance 75.36%, while the Ciprofloxacin counted lower proportion of resistance 4.34 %, Trimethoprim resistance75.36 %.Chloramphenicol have high resistance rate of 82.60 %, as well as all of the Tetracycline 82.60%, and Rifampin 91.30% .

The result showed that there are 42 (60.86%) isolates were resistant to five type of antibiotics so these isolates vowed multi-resistant of antibiotics (multidrug resistance) the highest proportion among the three types of resistance, and the isolates of the overall resistance (extensive drug resistance) ratio of resistance 24 (34.78 %) , while the third type of resistance (pand drug resistance) the proportion 3(4.34 %) the resistance to all class of antibiotics in the current study.

Tested 24 isolates *P.mirabilis* to examine the capability of production of enzymes β- lactam $bla_{TEM}$ type using PCR, was $\boldsymbol{bla_{TEM\ -177}}$ the most frequently identified gene among isolates of bacteria *P.mirabilis* percentage 87.5%, while the gene $\boldsymbol{bla_{TEM\ -160}}$ percentage 59.38%, and

***bla****$_{TEM}$* ***-****$_{72}$* percentage 56.25%, ***bla****$_{TEM}$* ***-****$_{1}$* percentage 56.25%, ***bla****$_{TEM}$* ***-****$_{156}$* percentage 53.13%, ***bla****$_{TEM}$* ***-****$_{89}$* percentage 31.25%, while ***bla****$_{TEM-3}$* counted the lowest percentage among the studied genes in bacteria *P.mirabilis* percentage 6.25% .

Analyzed Phylogenetic tree genetic tree analysis to *bla*$_{TEM}$ by Mega6 program, were used genetic tree analysis of the type UPGMAtree Test yields 14 sample of isolates *P.mirabilis*. compared 2 isolates of *P.mirabilis* in the current study compeared with Sequence in NCBI . The results of the analysis, there is a Correspond of the isolates of *P.mirabilis* genes *bla*$_{TEM}$ local isolates with worldwide origin *P.mirabilis* in NCBI .

**Ministry of Higher Education & Scientific Research**
**AL– Qadisiya University /College of Science**
**Department of Biology**

# Prevalence of The Broad –Spectrum β-Lactamase Type TEM Among Isolates of *Proteus mirablis* in AL-Diwaniya City

**A Thesis**
**Submitted to the Council of the College of Science/ University of AL-Qadisiya in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master in Biology/Microbiology**

**By**

Nuha Jawad kadum

**(B. Sc. Biol./College of Science /AL–Qadisiya University/2014)**

**Supervisor**

Asst. Prof. Dr. Syoof Khowman. Alramahy

**1437 A. H.** **2016A.D.**