

عزل وتشخيص بكتريا *Pseudomonas* من التربة ومن حالات اصابة مختلفة و دراسة حساسيتها للمضادات الحيوية

علي حازم عبد الكريم

مثنى بديع فرحان

إشراق عبد الرزاق صالح

كلية العلوم / جامعة الانبار

كلية التربية للبنات / جامعة الانبار

الخلاصة:

تم جمع 85 عينة لغرض التحري عن بكتريا *Pseudomonas spp.* ودراسة مقاومتها للمضادات الحيوية. وقد شملت العينات (18 عينة من التهابات الجروح، 21 عينة حروق ، 23 عينة التهاب الأذن الوسطى، 6 من التهاب المجاري البولية و3 عينة قشع) بالإضافة الى 14 عينة من التربة. وشُخصت هذه الحالات باستخدام الفحوصات الزرع والكيموحيوية، وايضاً تم التشخيص باستخدام اختبار نظام API 20E . وبينت النتائج اعلى نسبة عزل لبكتريا *Pseudomonas spp* كانت للحروق والاذن بنسبة 23% وشملت الانواع التابعة لجنس *Pseudomonas sp.* التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* 49(94.2%) تليها *Pseudomonas fluorescens* 2(3.8%)، *Pseudomonas oryzihabitans* 1(1.9%). فُحصت مقاومة عزلات *Pseudomonas spp.* تجاه 10 انواع من المضادات الحيوية، واطهرت العزلات اعلى حساسية لمضادات Imipinem ، Ciprofloxacin ، Amikacin ، وبنسبة 98.1% و 92.3% و 90.4% على التوالي. وسجلت اعلى نسبة مقاومة لجميع العزلات كانت لمضاد Cefotaxime وبنسبة 88.5% .

كلمات مفتاحية: عزل ، تشخيص ، *Pseudomonas* ، التربة ، حالات مرضية ، مضادات الحيوية

المقدمة

امتلاكها وفترة منخفضة من البورينات الغير متخصصة non-specific porins ، مع العديد من آليات تدفق الادوية او المضادات الحيوية للخارج drug efflux (6) . وقد ذكر ايضا ان النفاذية المنخفضة لقناة البورين هي العامل الرئيسي الذي يعزز أنواع أخرى من آليات المقاومة وغالبا ما يخلق المقاومة للأدوية المتعددة القوية للممرض pathogen داخل المستشفيات (7). حيث ان هنالك مساران ضروريان لامتصاص المضادات الحيوية من قبل الغشاء الخارجي outer membrane : مسار بوساطة الدهون للمضادات الحيوية الكارهة للماء ، والبورينات العامة (الغير متخصصة) لانتشار المضادات الحيوية المحبة الماء (8). و ان التغييرات التي تحصل في البورينات او غياب هذه البروتينات تقلل من وصول او اجتياز المضادات الحيوية القطبية عبر الغشاء الخارجي، وبالتالي يمكن أن تساهم في مقاومة المضادات الحيوية ، وان انخفاض النفاذية يقلل من عبور المغذيات عبر الغشاء (9) . ويتبين من ذلك ان هناك نوعان من انظمة النقل المختلفة عبر الغشاء البكتيري - الدفق للداخل influx و الضخ او الدفق للخارج efflux (10) مضادات β -Lactams هي صنف من المضادات الحيوية الرئيسية، التي تستخدم البورينات porins للمرور عبر حاجز الغشاء الخارجي للبكتيريا السالبة لكرام. (11) لقد اثبتت العديد من الدراسات وجود علاقة وثيقة بين بورين oprD لبكتريا *P.aeruginosa*

بكتريا *Pseudomonas* سالبة لصبغة كرام تعود لعائلة Pseudomonadaceae، هوائية اجبارية، متحركة، حيث يستخدم المصطلح Pseudomonad بدقة لوصف البكتريا الهوائية السالبة لكرام والغير مكونة للسيرورات (1). تنتشر هذه البكتريا بشكل واسع في الطبيعة بما في ذلك التربة والمياه العذبة وايضا تم عزلها من الادوات الطبية والعديد من اجسام الكائنات الحية، وقد يعزى سبب ذلك قدرتها على استهلاك العديد من المركبات العضوية البسيطة والمعقدة، تنمو هذه البكتريا في درجة حرارة (4-42) م°، و pH بين 4-8 (2) تنتشر هذه البكتريا بشكل واسع في الطبيعة خاصة في البيئات الرطبة، حيث تعتبر *Pseudomonas aeruginosa* من الممرضات الرائدة و المسببة لعدوى المستشفيات خاصة في وحدات العناية المركزة intensive care units (ICU) (3). وقد ذكر حديثا نقشي تجرثم الدم ببكتريا *P. fluorescens* لمرضى السرطان حيث تنقل بواسطة حقن الهيبارين للمرضى (4). وكما ذكر (5) وجود *Pseudomonas oryzihabitans* في مواقع مختلفة داخل المستشفيات، كاجهزة علاج الجهاز التنفسي ، ومياه الصرف الصحي ، بالإضافة الى وجودها في الشاش المعقم حيث تسبب pseudobacteremia خاصة لمرضى نقص المناعة. وكما تعد بكتريا *P.aeruginosa* الأكثر مقاومة للعلاج بالمضادات الحيوية، بسبب

مايكروغرام)، (CTX) Cefotaxime (30 مايكروغرام)، Co-
Piperacillin ، (COT) Trimoxazol (25 مايكروغرام) ،
(PI) (100 مايكروغرام) ، (TE) Tetracycline (30
مايكروغرام)، (C) Chloramphenicol (30 مايكروغرام).

النتائج و المناقشة:

جُمعت (71) عينة مرضية شملت التهاب المجاري البولية
ومسحات الجلد (الجروح، إلتهابات الحروق، التهابات الأذن) ومن كلا
الجنسين الذين تراوحت اعمارهم ما بين (4-60) سنة في مستشفى الرمادي
العام ، بالإضافة الى (14) عزلة من التربة اخذت من المستشفى ومواقع
اخرى لنفس المكان وكانت جميع عزلات *Pseudomonas* سالبة لصبغة
كرام وموجبة للكاتليز و ايضا كانت جميع العزلات موجبة لاختبار
الاوكسيديز ، عدا عزلة واحدة تعود لبكتريا *Pseudomonas*
oryzihabitas كانت سالبة لفحص الاوكسيديز وهذا يتفق مع نتائج
(18) كذلك ذكروا انها سالبة للاوكسيديز .

ويتضح انتشار الإصابة ببكتريا *Pseudomonas* في مختلف الفئات
العمرية مع اختلاف نسب توزيعها ولوحظ أن أعلى نسبة للإصابة ببكتريا
Pseudomonas كانت في مرضى التهاب الاذن الذين كانوا باعمار اقل من
20 سنة ، وايضا لوحظ عدم وجود تباين كبير في نسبة انتشار الإصابة بهذه
البكتريا بين الذكور والإناث

تم اجراء فحص الحساسية لتحديد مدى حساسية ومقاومة عزلات بكتريا *sp.*
Pseudomonas المعروفة بأمتلاكها مقاومة ذاتية ومكتسبة للعديد من
الادوية المضادة للميكروبات التي يتم استخدامها على نطاق واسع (19)
وعلاقة ذلك مظهرها بوجود او تركيز ونوع القنوات البروتينية ()
البورينات) الموجودة على الغشاء الخارجي لـ *Pseudomonas sp.*
والمسؤولة عن الية التدفق الى الداخل influx للعديد من المركبات
ومن ضمنها المضادات الحيوية مثل مضادات البيتا لاكتام كمضاد
الاميبينيم ومضادات الفلوروكينولونات (20) . حددت حساسية
العزلات البكتيرية تجاه المضادات الحيوية بحسب ما ورد في (21)

مضاد imipenem ، حيث ان الحساسية لمضاد imipenem تكون بسبب
وجود حلقات loop 2 و 3 في تركيب هذا البورين التي تقوم بالارتباط مع
المضاد وبالتالي امتصاصه من قبل *P.aeruginosa* . (12).
ألمينوكلايكوسيدات aminoglycosides وكوليسيتين colistin لا تعبر
الغشاء الخارجي عبر قنوات البورين . (13) . تكون المقاومة الذاتية
والمكتسبة الأولية للأمينوكلايكوسيدات بسبب نظام التدفق المتعدد للأدوية
MexXY في العزلات و المختبرات السريرية (14). و اخيرا ، ان البكتيريا
المقاومة تتحكم بنفاذية اغشيتها كخط دفاع اول لحماية نفسها من المركبات
السامة الخارجية مثل المضادات الحيوية والمبيدات الحيوية (15).

المواد وطرائق العمل:

جُمعت العينات من المرضى المصابين بالتهابات الجروح
(18) والحروق (21) والتهاب الاذن الوسطى (23) والقشع (3)
والتهاب المجاري البولية (6) من المرضى الوافدين الى مستشفى
الرمادي العام للفترة من 3 /3/ 2015 الى 29/3/2015.
بالإضافة الى 14 عينة اخذت من التربة من مناطق مختلفة لمدينة
الرمادي

أجري فحص الصبغة التفريقية وهي صبغة كرام لملاحظة اللون
والمظهر الخارجي للخلايا البكتيرية لعزلات الدراسة والتي يتم من
خلالها التشخيص المجهرى لبكتريا *Pseudomonas Sp.* اما
اختباري الكاتليز والاوكسيديز فتم اجراءهما بحسب (16)وكما اجري
اختبار نظام API 20E حسب توصيات الشركة المنتجة
(bioMerieux)فحص الحساسية للمضادات الحيوية: تم استعمال
طريقة Kirby Bauer المذكورة من قبل (17) للتعرف على مدى
حساسية عزلات *Pseudomonas sp* التي تم الحصول عليها وقد
استعملت مجموعة من أقراص المضادات الحيوية وتضمنت هذه
المضادات: Gentamycin (GM) (10 مايكروغرام)
، Amikacin (AK) (30 مايكروغرام) ، Netilimicin (NET)
(30 مايكروغرام)، Imipenem (IPM) (10
مايكروغرام)، Ciprofloxacin (CIP) (5

جدول (1): النسبة المئوية لحساسية بكتريا *Pseudomonas sp.* للمضادات الحيوية

COT	TE	C	PI	CIP	CTX	IPM	NET	AK	GM	عدد العزلات	مصدر العزلة
16.7	41.7	83.3	50.0	83.3	25.0	100	66.7	83.3	66.7	12	التهاب الحروق
10.0	10.0	80.0	50.0	100	0.0	100.0	50.0	70.0	60.0	10	التهاب الجروح
25.0	25.0	75.0	83.3	91.7	8.3	100	91.7	100.0	91.7	12	التهاب الأذن
50.0	16.7	100.0	66.7	83.3	16.7	100.0	50.0	100.0	66.7	6	التهاب المجاري البولية
0.0	0.0	100.0	100.0	100.0	0.0	100.0	100.0	100.0	100.0	1	القشع
90.0	63.6	100.0	90.0	100.0	9.1	90.0	100.0	100.0	100.0	11	التربة
19.2	34.6	86.5	69.2	92.3	11.5	98.1	75.0	90.4	78.8	52	المجموع الكلي

patients لمستشفيات مختلفة في مدينة السليمانية كانت مقاومة 100% للجنتاميسين. و ربما يعود سبب الحساسية العالية لبكتريا *P.aeruginosa* للجنتاميسين لامتلاكها معدل منخفض من انظمة التدفق efflux pump ، حيث وجد ان حذف الجين المسؤول عن ضخ المضادات للخارج MexXY يزيد من الحساسية للمضادات مثل MexXY-OprM ، erythromycin ، gentamycin اي ان له دور في مقاومة مضادات الأمينوكلايكوسيد (31)

و كما لوحظ ان مضاد Amikacin كان اكثر فعالية ضد *Pseudomonas. spp* من باقي مضادات الأمينوكلايكوسيد (Netilimicin،Gentamicin) المستخدمة في الدراسة الحالية شكل (2)، حيث بلغت نسبة الحساسية الكلية لجميع العزلات (90.38%) جدول (1) وهذا النسبة للحساسية اعلى مما ورد في نتائج (33) الذي بين ان 78% من *Pseudomonas aeruginosa* حساسة لمضاد amikacin. وقد يكون سبب فعالية هذا المضاد لأحتوائه على مجموعة aminohydroxybutyryl، والتي تمنع الانزيمات المحورة للبكتريا بالارتباط بهذا المضاد amikacin في مواقع متعددة و دون التدخل مع الارتباط بالموقع A من الحمض النووي rRNA (34) اما بالنسبة لمضاد Netilimicin ، كانت عزلات التربة وعزلة القشع حساسة 100% لهذا المضاد وكما سجلت عزلات التهاب الاذن حساسة عالية لهذا المضاد بنسبة 91.7% بينما عزلات الجروح ، التهاب المجاري البولية ، الحروق فكانت نسبة المقاومة 50 % ، 50% ، 33% على التوالي شكل (3).

اما مضاد Imipenem ، كانت نسبة حساسية العزلات قيد الدراسة 98.1% حيث ان جميع العزلات كانت حساسة لـ Imipenem عدا عزلة واحدة من التربة كانت مقاومة جدول (1) وشكل (4) ، و تختلف هذه النتيجة مع دراسة قام بها (35) اذ اثبتوا ان جميع عزلات *P. aeruginosa* كانت مقاومة 100% لمضاد Imipenem . اما الباحثان (36) اثبتا ان عزلة *P. aeruginosa* المقاومة لمضادات Carbapenem تكون فاقدة لبورين oprD ، بينما يحصل العكس في السلالة الحساسة لهذه المضادات. وان مستوى التعبير عن جين MexXY ، الذي ينتمي إلى نظام الإفراز (الضخ) المتعدد MexXY- oprM ، يزداد و بنسبة 102.5 أضعاف بالمقارنة مع السلالة الحساسة (37) وهذا يتفق مع نتائج اختيار حساسية المضادات في الدراسة الحالية وذلك لان اغلب العزلات كانت حساسة لمجموعة الأمينوكلايكوسيدات و بنفس الوقت حساسة لـ Imipenem وهذا ربما يدل عدم امتلاكها لجين الضخ MexXY- oprM او يتم التعبير عنه بشكل ضعيف حيث ان مقاومة مضادات الكاربابينيم carbapenem يكون بسبب انخفاض نفاذية الغشاء الخارجي (البورينات)، وزيادة انظمة الضخ، تغيير في البروتينات المرتبطة بالينسولين ، و الانزيمات المحللة للكاربابينيم carbapenemase (38).

بالنسبة لالتهاب الحروق ، لوحظ ان عزلات الحروق كانت حساسة 100% لمضاد Imipenem وهذا يتفق مع Japoni واخرون (22) حيث بينوا ان جميع بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من مرضى الحروق تكون حساسة لمضادات الكاربينيمات (imipenem, meropenem). وايضا وجد ان عزلات *Pseudomonas* كانت حساسة و بنسبة 83% لكلا من مضادات Amikacin و Ciprofloxacin وذلك يختلف مع ماذكره Tsakris واخرون (23) اظهروا ان بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* تمتلك مقاومة متعددة لمضادي amikacin و ciprofoxacin.

اما عزلات الجروح، فقد وجد ان بكتريا *P.aeruginosa* كانت حساسة 100% لمضادي Imipinem ، Ciprofloxacin وفيما يخص المضاد الاخير فان نسبة الحساسية هذه اعلى بكثير من نتائج دراسة (24) في فرنسا. بينما نجد العكس بالنسبة لمضاد Cefotaxime حيث كانت *P.aeruginosa* مقاومة 100% لهذا المضاد ، وذلك لايتفق مع ماذكره الباحثان (25) اذ اظهرا حساسية *P.aeruginosa* المعزولة من الجروح لمضاد Cefotaxime. واتفقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة (26) في الولايات المتحدة اذ بينوا حساسية *P.aeruginosa* لمضادات Ciprofloxacin ، Gentamicin ، Amikacin . وفيما يخص التهاب الاذن Otitis media فقد بينت نتائج الدراسة الحالية زيادة الحساسية لمضادي Amikacin ، Imipenem بنسبة 100% وكذلك مضادات Ciprofloxacin ، Netilimicin،Gentamicin بنسبة 91.7% وهذا يتفق مع (27) اثبتوا حساسية *P. aeruginosa* لهذه المضادات.

بينما مضادي Tetracycline ، Co-trimaxazole كانت نسبة المقاومة لهما 75% وجاءت هذه النتائج قريبة من دراسة Muluye (28) اذ بينوا حساسية *P. aeruginosa* لهذين المضادين. اما بالنسبة لمضادي Piperacillin ، Chloramphenicol فقد كانت نسبة المقاومة 16.7% ، 25% على التوالي وهذه النتائج مقاربة لنتائج (29) حيث كانت عزلاتهم مقاومة بنسبة 21.9% لكلا المضادين.

كما ابدت عزلات *P.aeruginosa* قيد الدراسة المعزولة من التهابات المجاري البولية اعلى حساسية بنسبة 100% لمضادي amikacin ، imipenem واعلى مقاومة بنسبة 83.3% لمضادي Tetracycline ، cefotaxime جدول (1)

و اظهرت العزلات قيد الدراسة حساسية عالية للجنتاميسين وبنسبة (78.8%) جدول (1) شكل (1) و بمقارنة نتيجة الدراسة الحالية مع نتائج دراسة محلية (30) الذين توصلوا الى أن جميع عزلات *P.aeruginosa* التي اخذت من المرضى الوافدين hospitalized

ومن مجموعة البنسلينات اليبيرية (piperacillin) وجد ان مقاومة البكتريا لهذا المضاد كانت بنسبة 30.8% ، حيث سجلت اعلى نسبة مقاومة لعزلات الحروق والجروح شكل (7) .

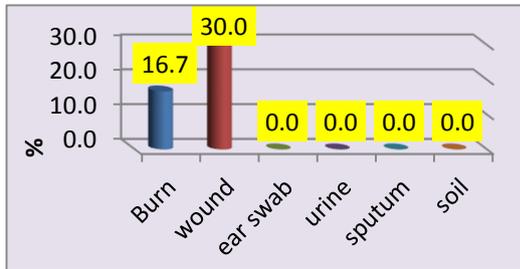
اما بالنسبة لمضاد Cefotaxime ، وجد ان حساسية جميع العزلات لهذا المضاد كانت بنسبة 11.5% جدول (1) اي ان العزلات كانت تمتلك مقاومة عالية شكل (6) وهذا يختلف مع نتائج (41) حيث بين ان مقاومة *P. aeruginosa* تكون قليلة لهذا المضاد وذكر بانه مضاد جيد ضد *P. aeruginosa* .

اظهرت جميع العزلات حساسية للكورمفينيكول وبنسبة 86.5% جدول (1) و شكل (8)، وتتفق هذه النتائج مع الدراسة التي قام بها الباحثان (42) اذ بينوا حساسية *P. aeruginosa* للكورمفينيكول. و بالنسبة لمضاد التتراسايكلين فقد كانت نسبة الحساسية لجميع العزلات 34.6% جدول (1) شكل (9)، اي يمتلك مقاومة اعلى من ما توصل اليه (43) اذ بين ان نسبة المقاومة لهذا المضاد لعزلات *Pseudomonas spp* 67% .

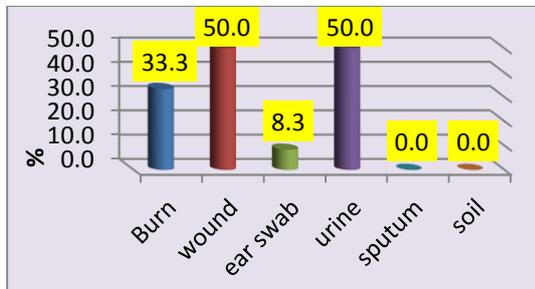
اما بالنسبة لمضاد Co-trimoxazole فان نسبة الحساسية لجميع العزلات 19.2% جدول (1) و شكل (10)، وهذه النتائج تتفق مع (15) حيث ذكر مقاومة *P. aeruginosa* لمضادات السلفوناميد Sulfonamides .

اما بالنسبة لمضادات الكينولونات ، ومنها Ciprofloxacin فلقد بلغت نسبة حساسية جميع العزلات لهذا المضاد (92.6%) 50، بينما المقاومة (7.4%) 4 جدول (1) ، شكل (5) وتقترب هذه النتائج مع ما توصل اليه الباحثين Lomholt and (2003) Kilian حيث ذكروا ان مقاومة *P. aeruginosa* لمضاد Ciprofloxacin كانت (2.8%) 3 من بين 106 عزلة، وبينوا ايضا ان مقاومة *P. aeruginosa* لمضاد Ciprofloxacin تكون نادرة. لقد وجد ان أوية الفلوروكينولونات FQs تنشط نظام الضخ MexXY-OprM، مما يؤدي الى مقاومة *P. aeruginosa* لمضادات الكاربامبينيمات (39). ولو حظ من نتائج الحساسية للدراسة الحالية ان 92.6% من العزلات كانت حساسة لمضاد ciprofloxacin ، و 98.1 حساسة لـ Imipenem جدول(1) وقد يدل ذلك على ان مضاد ciprofloxacin لم يحفز انظمة الضخ ومن ضمنها MexEF-OprN، الذي يشارك في مقاومة ciprofloxacin وبالتالي لم يؤثر على بروتين oprD لامتصاص Imipenem فكانت جميع العزلات عدا واحدة من عزلات التربة مقاومة Imipenem .

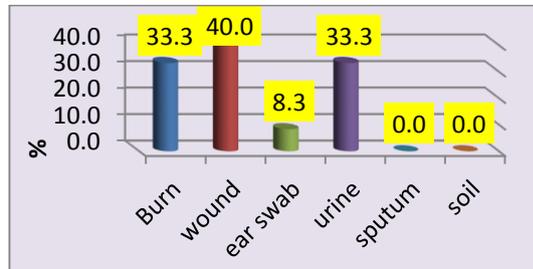
وقد اكد ايضا ان الفلوروكينولونات تحفز التعبير عن انظمة الافراز excretion pump system مما يجعل البكتريا مقاومة لمضاد ciprofloxacin، والاخير يقلل من تعبير oprD2، مما يؤدي الى مقاومة Imipenem (40).



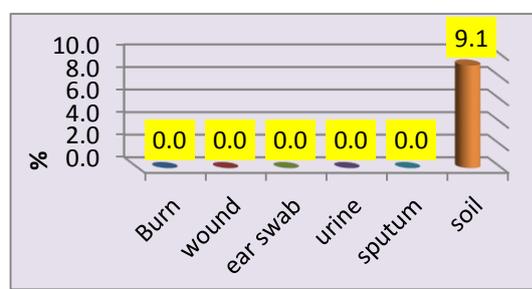
شكل (2): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Amikacin) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp.*



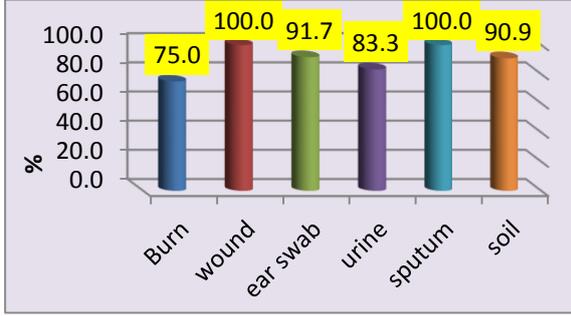
شكل (3): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Netilmicin) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp.*



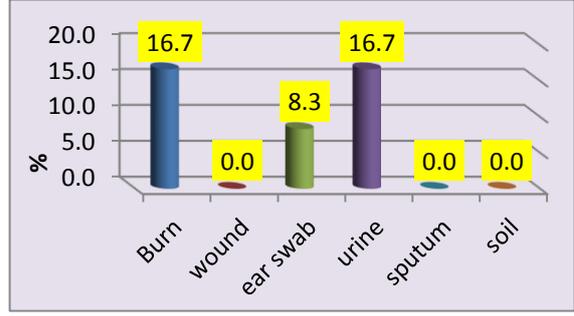
شكل (1): النسبة المئوية لمقاومة مضاد الجنتاميسين (GM) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp.*



شكل (4): النسبة المئوية لمقاومة مضاد (Imipenem) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp.*



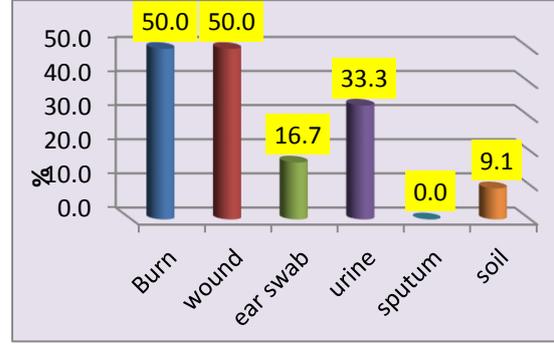
شكل (6): النسبة المئوية المنوية لمقاومة مضاد (Cefotaxime) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*



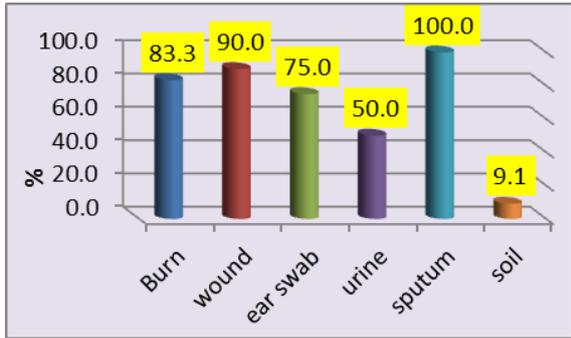
شكل (5): النسبة المئوية المنوية لمقاومة مضاد (ciprofloxacin) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*



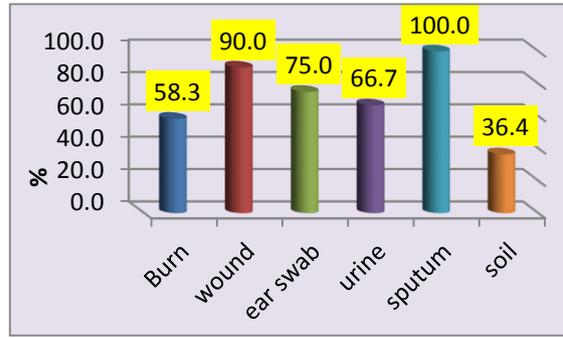
شكل (8): النسبة المئوية المنوية لمقاومة مضاد (Cloramphenicol) ومصادر عزلات *Pseudomonas sp*



شكل (7): النسبة المئوية المنوية لمقاومة مضاد (piperacillin) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*



شكل (9): النسبة المئوية المنوية لمقاومة مضاد (Tetracyclin) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*



شكل (10): النسبة المئوية المنوية لمقاومة مضاد (Co-trimoxazole) ومصادر عزلات *Pseudomonas spp*

- School of Biotechnology and National Institute for Cellular Biotechnology, Dublin City University, Dublin 9, Ireland
2. Franzetti L and Scarpellini M (2007). Characterisation of *Pseudomonas*

المصادر:

1. Ferguson, D. (2007). A study of clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* and the investigation of antibiotic resistance mechanisms in the multidrug resistant strain PA13.

12. Nikaido, H. and Rosenberg, E. Y. (1983) Porin channels in *Escherichia coli*: studies with liposomes reconstituted from purified proteins. *J Bacteriol*;153:241–252.
13. Kobayashi, Y.; Takahashi, I.; and Nakae, T.(1982). Diffusion of beta-lactam antibiotics through liposome membranes containing purified porins. *Antimicrob Agents Chemother*;22:775–780.
14. Ochs MM, Bains M, Hancock REW. (2000). Role of putative loops 2 and 3 in imipenem passage through the specific porin OprD of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:1983–1985.
15. Trias, J.; Dufresne, J.; Levesque, R. C. & Nikaido, H. (1989). Decreased outer membrane permeability in imipenem-resistant mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 33, 1202–1206.
16. Lambert, P. A.(2002). Mechanisms of antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of the Royal Society of Medicine* 95, Suppl.41, 22–6.
17. Morita, Y., Tomida, J., and Kawamura, Y. (2012). Primary mechanisms mediating aminoglycoside resistance in the multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate PA7. *Microbiology* 158, 1071-1083
18. Masi, M. and Pagès, J-M. (2013). Structure, Function and Regulation of Outer Membrane Proteins Involved in Drug Transport in Enterobacteriaceae: the OmpF/C – TolC Case. *The Open Microbiology Journal* , 7, (Suppl 1-M2) 22-33.
19. Atlas, R.M. (1995). *Principles of microbiology*. (1st ed.). Mosby Year Book, Inc., Boston, Pp :111-510.
20. MacFaddin, J. F.(2000). *Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria*. 3rd ed. Philadelphia:Lippincott Williams and Wilkins; 2000. p. 363-7
21. Vandpitte, J.; Engback, K.; Piot, P. and Heuck, C.C.(1991). *Basic laboratory procedures in clinical* spp. isolated from foods. *Annals of Microbiology.* 57(1): 39-47.
3. Moore E. R. B.; Tindall B. J.; Santos V. A. P. M. D; Pieper D.H.; Ramos J-L; Palleroni N.J.(2006). *Nonmedical: Pseudomonas. Prokaryotes* 6:646–703
4. Blanc, D. S.; Francioli, P. and Zanetti, G.(2007). *Molecular Epidemiology of Pseudomonas aeruginosa in the Intensive Care Units – A Review. The Open Microbiology Journal*, 1, 8-11
5. Gershman M. D., et al. 2008. Multistate outbreak of *Pseudomonas fluorescens* bloodstream infection after exposure to contaminated heparinized saline flush prepared by a compounding pharmacy. *Clin. Infect. Dis.*47:1372–1379.
6. Woo, K-S; Choi, J-L; Kim, B-R; Kim, J-E; Kim, K-H; Kim, J-M; and Han, J-Y. (2014). Outbreak of *Pseudomonas Oryzihabitans* Pseudobacteremia Related to Contaminated Equipment in an Emergency Room of a Tertiary Hospital in Korea. *Infect Chemother*;46(1):42-44.
7. Pagès, Jean-Marie; James, Chloë E; and Winterhalter, Mathias. (2008).The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria. *naTuRE REvIEWs | microbiology*, vOl, 6. P: 893-903.
8. Sugawara, E.; Nagano, K.; and Nikaido, H.(2011). Alternative folding pathways of the major porin OprF of *Pseudomonas aeruginosa*. *FEBS Journal* 279, p: 910–918
9. James, C. E.; Mahendran, K. R.; Molitor, A.; Bolla, J-M.; Bessonov, A. N. et al. (2009). How β -Lactam Antibiotics Enter Bacteria: A Dialogue with the Porins. *PLoS ONE* 4(5): e5453.
10. Delcour, A. H.(2009). Outer membrane permeability and antibiotic resistance. *Biochim Biophys Acta*;1794(5):808-16.
11. Ferenci, T. and Phan, K.(2015). How Porin Heterogeneity and Trade-Offs Affect the Antibiotic Susceptibility of Gram-Negative Bacteria. *Genes* 2015, 6, 1113-1124

- in Greece. *J Clin Microbiol*, 38:1290-2.
31. Bertrand X, Thouverej M, Patry C, Balvay P, Talon D. (2001). *P.aeruginosa*: Antibiotic susceptibility and genotypic characterization of strains isolated in the intensive care unit. *Clin Microbiol Infect*;7:706-8.
 32. Manikandan, C. and Amsath, A.(2013). Antibiotic susceptibility of bacterial strains isolated from wound infection patients in Pattukkottai, Tamilnadu, India. *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci* 2(6): 195-203
 33. Karlowsky JA, Draghi DC, Jones ME, Thornsherry C, Friedland IR, Saham DF. Surveillance for antimicrobial susceptibility among clinical isolates of *P. aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* from hospitalized patients in the United states, 1998 to 2001. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:1681-8.
 34. Rashid, H.; Zeb, M.; Jamal, Q.; Waqar, M ; Farooqi, B. J. and Majid, A.(2014). Frequency and Antimicrobial Susceptibility Pattern of *Pseudomonas aeruginosa* in Ear Swabs. *World Applied Sciences Journal* 30 (7): 812-817.
 35. Mansoor, T.; Musani, M. A.; Khalid, G. and Kamal, M. (2009). PSEUDOMONAS AERUGINOSA IN CHRONIC SUPPURATIVE OTITIS MEDIA: SENSITIVITY SPECTRUM AGAINST VARIOUS ANTIBIOTICS IN KARACHI. *J Ayub Med Coll Abbottabad*;21(2).p. 120-3.
 36. Muluye, D.; Wondimeneh, Y.; Ferede, G.; Moges, F.; and Nega, T.(2013). Bacterial isolates and drug susceptibility patterns of ear discharge from patients with ear infection at Gondar University Hospital, Northwest Ethiopia. *BMC Ear, Nose and Throat Disorders* 13:10 Page 5.
 37. Ahmad, S.(2013). Antibiotics in chronic suppurative otitis media: A bacteriologic study. *Egyptian Journal of Ear, Nose, Throat and Allied Sciences* 14, 191–194.
 38. Adel, K.K. and Sabiha, S.S.(2010). Genetic Site Determination of bacteriology. WHO., Geneva., PP: 78-110.
 22. Bhatawadekar, S. M.(2013). Community-Acquired urinary tract infection by *Pseudomonas aeruginosa*. *J- Glob Infect Dis* 5(2): 82–84.
 23. Kodama et al., (1985) “Two New species of *Pseudomonas*: *P. oryzae* Isolated from Rice Paddy and *P. luteola* Isolated from Clinical specimens,” *Int J Bacteriol* 35: 467-474
 24. Shen, J. L.; Fang, Y. J.(2015). Detection of drug-resistance mechanism of *Pseudomonas aeruginosa* developing from a sensitive strain to a persister during carbapenem treatment. *Genetics and Molecular Research* 14 (2): 6723-6732.
 25. Strateva, T and Yordanov, D. (2009). *Pseudomonas aeruginosa* - a phenomenon of bacterial resistance. *J Med Microbiol*. 58 (Pt 9):1133–48.
 26. Nestorovich E. M.; Danelon C.; Winterhalter M.; and Bezrukov S. M.(2002). Designed to penetrate: Time-resolved interaction of single antibiotic molecules with bacterial pores. *PNAS* _ vol. 99 _ no. 15 _ 9789–9794.
 27. Terzi H. A.; Kulah C.; Atasoy A. R.; and Ciftci I. H.(2015). Investigation of OprD Porin Protein Levels in Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* Isolates. *Jundishapur J Microbiol*. 8(12): e25952.
 28. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disc susceptibility tests. NCCLS: Wayne PA;2014. M2-A6.
 29. Japoni A, Alborzi A, Kalani M, Nasiri J, Hayati M, Farshad S. (2006). Susceptibility patterns and cross-resistance of antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burn patients in the South of Iran. *Burns*;32:343-7.
 30. Tsakris A, Pournaras S, Woodford N, Palepou MF, Babini GS, Douboyas J, Livermore DM.(2000). Outbreak of infections caused by *Pseudomonas aeruginosa* producing VIM-1 carbapenemase

- (2008). Occurrence and mechanisms of amikacin resistance and its association with β -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: a Korean nationwide study. *J Antimicrob Chemother.* 62:47983
42. Kotra LP, Haddad J, Mobashery S (2000) Aminoglycosides: perspectives on mechanisms of action and resistance and strategies to counter resistance. *Antimicrob Agents Chemother* 44: 3249–3256.
43. Taneja N, Chatterjee S.S, Singh M, Singh S, Sharma M. (2010) Paediatric urinary tract infections in a tertiary care center from north India. *Indian J Med Sci.*;131:101-5.
- Antibiotic Resistance Genes in *Pseudomonas aeruginosa* by Genetic Transformation. *British Journal of Pharmacology and Toxicology* 1(2): 85-89.
39. Nemat-Gorgani N .(2009). Detecting mutations related to antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. Department of Biological Sciences, San Jose State University SJSU ScholarWorks.
40. Askoura, M.; Mottawea, W.; Abujamel, T. and Taher, I. (2011). Efflux pump inhibitors (EPIs) as new antimicrobial agents against *Pseudomonas aeruginosa* . *Liby. J. Med.* 6(6):5870-5878.
41. Kim, J.Y.; Park, Y.J.; Kwon, H.J.; Han, K.; Kang, M.W. and Woo, G.J.

Isolation and Identification of *Pseudomonas* from Soil and different cases and study of susceptibility to antibiotics

Ishraq A. Salih Muthana B. Farhan Ali H. Abdulkareem

E.mail: dean_coll.science@uoanbar.edu.iq

85 samples were collected to investigate *Pseudomonas* sp. bacteria and study their resistance to antibiotics. The samples were included (18 specimen of wounds, 21 of burns, 23 specimen otitis media, 6 of urine tract infact, 3 of sputum) and soil samples . These cases were diagnosed using cultural and biochemical tests, the diagnosis was confirmed using the API 20E system. The results showed high isolation from burns and otitis media (23%) . The species was obtained *Pseudomonas aeruginosa* 49 (94.2%) followed by the bacteria *Pseudomonas fluorescens* 2 (3.8%), *Pseudomonas oryzihabitans* 1 (1.9%). Resistance of *Pseudomonas* sp. isolates to antibiotics were examined to 10 antibiotics, and isolates showed highest sensitivity to antibiotics Imipinem, Ciprofloxacin, Amikacin 98.1% and 92.3% and 90.4%, respectively. Isolates were showed high resistant (88.5%) to Cefotaxime .