تأثير الفوسفات في نمو بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* خارج الجسم الحي

د. **عبد المجيد عبد الله السعدي** د. **زهرة محسن علي** **مسلم عيدان محسن**

كلية العلوم /جامعة الكوفة

الخلاصة:

هدفت الدراسة إلى معرفة أو بيان تأثير الفوسفات في نمو بكتريا الزوائف الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* خارج الجسم الحي إذ إن لهذه البكتريا القدرة على البحث عن الفوسفات غير العضوي الموجود داخل الأنسجة او في الأوساط الزرعية الهامة في العمليات الايضية لهذا المايكروب.

تمت الدراسة خارج الجسم الحي (*In vitro*) من خلال دراسة تأثير تراكيز مختلفة من الفوسفات في نمو البكتريا إذ كانت للبكتريا القدرة في النمو بتراكيز عالية من الفوسفات حيث وصلت في الأوساط الصلبة إلى تركيز 13% بينما كان تركيز الفوسفات بالأوساط السائلة 17%.

تم دراسة تأثير تراكيز مختلفة من الفوسفات على منحنى النمو لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* ، حيث إن زيادة النمو تتناسب طرديا مع زيادة تركيز الفوسفات في الوسط الزرعي. وأظهرت النتائج ايضا ان بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة لعدد من مضادات الحياة المختبرة.

المقدمة

تعد بكتريا *Ps. aeruginosa* ممرضات انتهازية Opportunistic Pathogen من النادر إن تسبب المرض في الأشخاص السليمين ، لكنها عالية الضراوة في المرضى ذوي الميكانيكيات الدفاعية الضعيفة مسببه تجرثم الدم Bacteremia واخماج العين Eye Infections واخماج الإذن Ear infections و اخماج الجلد Skin infections واخماج الحروق والجروح وان الطيف الواسع من الإمراض الناتجة من قبل هذه البكتريا يعتمد على امتلاكها عوامل ضراوة متعددة (Gorbach *et al*., 1996).

إن الضراوة الانتهازية للبكتريا مرتبط مع قدرتها على استعمار مواقع تشريحية مختلفة (وهذا يعود لامتلاكها ميكانيكيات التصاق فعالة ومتطلبات تغذوية قليلة ومقاومة للمضادات الحيوية) كما إن قدرتها على غزو الأنسجة تعتمد على مقاومتها لعملية البلعمة Phagocytosis والدفاعات المناعية للمضيف Host Immune defenses وإفرازها للإنزيمات الخارجية والذيفانات التي تحطم الحواجز الفيزيائية وتشارك في الغزو البكتيري (Heale *et al*., 2001) ، ومن التصاعد الملحوظ في ظاهرة المقاومة للمضادات الحيوية فضلا عن ما هو معروف عن المضادات الحيوية من إعراضها الجانبية السلبية التي تؤثر على صحة الإنسان فان العلماء ما زالوا يتطلعون إلى طرق علاجية بديلة تكون أكثر فعالية وقليلة أو منعدمة الضرر.إحدى الرؤى الحديثة التي تبنتها شركة ميداوي للمستحضرات الطبية تجاريا وعمليا تعتمد على محاولة الفهم الدقيق للظروف التي تمكن الميكروب لإحداث المرض والتي يمكن عن طريق التغلب عليها أو حتى منع حدوثها وذلك دون الدخول في مواجهة مباشرة مع الميكروب وتأتي هذه الدراسة لبيان قدرة بعض المركبات الكيميائية المهمة في العمليات الايضية ومن ضمنها مركبات الفوسفات حيث تعتبر هذه المركبات ضرورية في بعض العمليات الايضية للبكتريا ، ومن اجل التوصل إلى تحديد الصلة بين انخفاض نسبة الفوسفات في الجسم وتحول هذه البكتريا إلى كائن شرس تمت دراسات حديثة في هذا الموضوع. وجد إنها تكون غازية عندما يكون هناك نقص في الفوسفات بالجسم، حيث لوحظ في المرضى الضعيفين مناعيا أو خاضعين إلى عمليات جراحية حيث يبدأ انخفاض الفوسفات في جسم هؤلاء المرضى ومن ثم تمكن البكتريا من غزو الأنسجة وإحداث المرض ولتفسير هذه الظاهرة لقد وجدوا مجموعة باحثين إن انخفاض مستوى الفوسفات بالجسم كما يحدث بالعمليات الجراحية سوف يؤدي إلى تحول البكتريا من كائن مسالم إلى كائن قاتل ويجد نفسه مضطرا للبحث عن الفوسفات وبدل إن يتم البحث عنه بالدم حيث يكون بانتظاره خلايا الدم البيض المناعية يتحول إلى اختراق أنسجة الجسم محاولا استخلاص الفوسفات منها مما يسبب ضررا لأعضاء الجسم ويزداد الأمر خطورة عندما يتم مهاجمة الأجزاء الحساسة مثل الرئة والكلى ويمكن إن ينتهي بحدوث حالة من الوفاة (Zaborin *et al*., 2008).

الهدف من البحث:

دراسة تأثير الفوسفات في نمو بكتريا *Ps. aeruginosa* ، وقد تمحورت هذه الدراسة على بعض النقاط الهامة لبيان هذه الفرضية وصحتها وكانت كالأتي:

1.عزل بكتريا *Ps. aeruginosa* من اخماج الحروق وتشخيصها من اجل مقارنة صفاتها الامراضية.

2. اختبار مدى حساسية العزلات المدروسة للمضادات الحيوية .

3. دراسة تأثير الفوسفات في نمو البكتريا.

4. دراسة منحنيات نمو بكتريا *Ps. aeruginosa* بوجود تراكيز مختلفة من الفوسفات.

طرائق العمل Methods

1. جمع النماذج Specimens collection

تم جمع (50) عينة من مرضى اخماج الحروق الراقدين في مستشفى الصدر التعليمي في النجف الاشرف للمدة (2009/11/4 إلى 24/ 1/ 2010)، أخذت مسحات باستخدام Cotton swab معقم من الحروق وجلبت لغرض عزل بكتريا *Ps. aeruginosa* وتشخيصها باستعمال الأوساط الزرعية والاختبارات البايوكيمائية Biochemical test حسب ما جاء [Macfadden, 2000].

2. تأثير المضادات الحياة على نمو البكتريا بطريقة الانتشار بالاكار The disc diffusion method

استعملت طريقة Kirby و Bauer، (1966) لمعرفة استجابة البكتريا للمضادات الحيوية المستعملة في الدراسة و ذلك بنقل 1 مل من معلق البكتريا *Ps. aeruginosa* لكل سلالة Strains بعمر 18 ساعة إلى سطح وسط MHA وفرشت جيدا بالـ Swab المعقم وتركت نصف ساعة ليجف سطحها ووزعت على سطح الوسط الملقح أقراص المضادات الحياة القياسية.

3. دراسة تأثير الفوسفات في نمو البكتريا خارج الجسم الحي *In vitro*

ا. باستخدام الأوساط الصلبة Nutrient agar

عرضت البكتريا الى تراكيز مختلفة من ال Na2HPO4 وهي كل من(1، 2، 3، 4، 5، 6،7، 8، 9،10،11، 12، 13،14، 15، 16، 17، 18، 19،20) % حيث أضيفت التراكيز إلى الوسط الزرعي Nutrient agar الصلب، حيث صب الوسط الزرعي الخالي من الفوسفات إلى نصف الطبق وصب النصف الأخر من الطبق بالاكار المغذي الذي يحتوي على تركيز من الفوسفات وبعد ذالك وضعت كمية مقدارها 0.1 مللتر من اللقاح البكتيري على سطح الاكار المغذي ثم وزعت على سطح الاكار ثم حضنت الإطباق بدرجة حرارة 37ºم لمدة 24 ساعة وقد تم قراءتها في اليوم التالي لتحديد ظهور النمو البكتيري.

ب. باستخدام الأوساط السائلة Nutrient broth

عرضت البكتريا إلى تراكيز مختلفة من ال Na2HPO4 وهي كل من(1، 2، 3، 4، 5، 6،7، 8، 9،10،11، 12، 13،14، 15، 16، 17، 18، 19،20) % حيث أضيفت التراكيز إلى الوسط الزرعي السائل Nutrient broth ، ثم لقحت الأنابيب بالبكتريا حيث وضعت كمية مقدارها 0.1 مللتر من اللقاح البكتيري ثم حضنت بدرجة حرارة 37ºم لمدة 24 ساعة وقد تم قراءتها في اليوم التالي لتحديد ظهور النمو البكتيري.

ج. باستخدام الوسط الكيميائي المعرف السائل Chemically defined medium

عرضت البكتريا إلى تراكيز مختلفة من ال Na2HPO4 وهي كل من(1، 2، 3، 4، 5، 6،7، 8، 9،10،11، 12، 13،14، 15، 16، 17، 18، 19،20) % حيث أضيفت التراكيز إلى الوسط الكيميائي السائل المحضر ،ثم لقحت الأنابيب بالبكتريا حيث وضعت كمية مقدارها 0.1 مللتر من اللقاح البكتيري ثم حضنت بدرجة حرارة 37ºم لمدة 24 ساعة وقد تم قراءتها في اليوم التالي لتحديد ظهور النمو البكتيري.

د. باستخدام الوسط الكيميائي المعرف الصلب Chemically defined medium

عرضت البكتريا إلى تراكيز مختلفة من ال Na2HPO4 وهي كل من(1، 2، 3، 4، 5، 6،7، 8، 9،10،11، 12، 13،14، 15، 16، 17، 18، 19،20) % حيث أضيفت التراكيز إلى الوسط الكيميائي الصلب المحضر ، حيث صب الوسط الزرعي الخالي من الفوسفات إلى نصف الطبق وصب النصف الأخر من الطبق بالاكار المغذي الذي يحتوي على تركيز من الفوسفات وبعد ذالك وضعت كمية مقدارها 0.1 مللتر من اللقاح البكتيري على سطح الاكار المغذي ثم وزعت على سطح الاكار ثم حضنت الإطباق بدرجة حرارة 37ºم لمدة 24 ساعة وقد تم قراءتها في اليوم التالي لتحديد ظهور النمو البكتيري.

4 . التعداد الحي للبكتريا Viable count

استخدمت طريقة Spreading Method حسب (Cruickshank *et al*., 1975):

حضرت سلسلة تخافيف عشرية لكل من العالق البكتيري للوسط السائل المغذي Nutrient broth بدون أي إضافة أي تركيز من الفوسفات الذي يعتبر كسيطرة نقارن من خلاله ، العالق البكتيري للوسط السائل المغذي Nutrient broth المضاف إليه تراكيز مختلفة من الفوسفات وهي (0.25، 0.5، 0.75، 1) % ومقارنتها مع العالق البكتيري للوسط الكيميائي السائل Chemical brothالمضاف إليه تراكيز مختلفة من الفوسفات وهي (0.25، 0.5، 0.75، 1) %.

5. التحليل الإحصائي:

تم تحليل النتائج وفق نموذج التجارب العاملية وبتصميم تام التعشية وتم استعمال اختبار اقل فرق معنوية Least significance differences test (L.S.D) وجدول تحليل التباين Analysis of varience (ANOVA)تحت مستوى 0.05 لبيان معنوية النتائج (الراوي وخلف الله، 2000)

النتائج والمناقشة The results and discussion :

جمعت(50) عينة سريرية من المرضى المصابين بأخماج الحروق الراقدين في مستشفى الصدر التعليمي في مدينة النجف الاشرف للفترة من (2009/11/4 إلى 24/ 1/ 2010)، وكانت (10) عزلات منها لبكتريا *Ps. aeruginosa* بنسبة عزل (20) % وانواع مختلفة من البكتريا التابعة لأجناس مختلفة.

عزلات بكتريا الزوائف الزنجارية كانت نسبتها 20 % وهي نسبة غير مشابهة لنسبة الشيباني (2004) (8.72 %) ، إما عوف (2001) فذكر إن نسبة العزل كانت عنده 22 % وقد توصل DeMacedo and Santos (2005) الى ان بكتريا *Ps. aeruginosa* هي المسبب الثاني لالتهابات اصابات الحروق بعد بكتريا *S. aureus* وتحدث الاصابة بدءاً من الاسبوع الثالث للاصابة بالحرق. اما Zhang *et al.* (2005) فقد وجدوا ان هناك ارتفاعاً في نسبة بكتريا *Ps. aeruginosa* المعزولة من اصابات الحروق إذ كانت نسبة العزل عام (1997) 24.51 % وارتفعت عام (2003) الى 55.72 %، تم اختبار حساسية (10) عزلات لبكتريا *Ps. aeruginosa* تجاه (12) من مضادات الحياة وهي : Ceftazidim ، و Cefotaxim ، و Ampicillin ، و Tetracyclin ، و Gentamicin ، و Ciprofloxacin باستخدام طريقة Kirby – Bauer وتم تحديد حساسية البكتريا تجاه المضاد بقياس أقطار مناطق التثبيط حول القرص (Benson, 2002) ، ثم قورنت النتائج مع الجداول القياسية العالمية (NCCL, 2002)، يستخدم هذا الاختبار لغرض الحصول على نسق المقاومة (Antibiogram) للعزلات قيد الدراسة.

يتضح من الجدول (1) بكتريا *Ps. aeruginosa* مقاومة للمضادات Ampicillin ، و Amoxicillin ، Cefotaxime وهذا يتفق مع النتائج التي حصلت عليها الشيباني (2004) إذ

كانت نسبة المقاومة لمضاد Ampicillin 100 % ، بينما ذكر Puzova *et al.* (1994) ان نسبة مقاومة بكتريا *Ps. aeruginosa* لمضاد Ampicillin كانت 64 % ، اما الامير (1998) فذكرت ان نسبة المقاومة لـ Ampicillin هي 86 % و Augmentin 62 % وأشار كل من Hsueh *et al.* (2005) ، و Sligh *et al.* (2006) الى وجود مقاومة عالية تجاه مجموعة مضادات β –lactam من قبل عزلات *Ps. aeruginosa*.

ان المقاومة العالية تجاه هذه المجموعة من المضادات تعود الى الاستخدام غير الصحيح وبجرع غير صحيحة مما ولد مقاومة لدى البكتريا تجاه هذه المضادات ، إذ وجد Hsueh *et al.* (2005) ان ازدياد مقاومة البكتريا لعدد من المضادات ومنها مضادات β –lactam تزداد بزيادة استهلاك هذه المضادات. كذلك تعود هذه المقاومة الى انتاج البكتريا لعدد كبير من انزيمات β –lactamase المحطمة لهذه المضادات (VanDelden and Iglewski, 1998).

ولكن يلاحظ ان أكفا هذه المضادات هي Ciprofloxacin ، و Gentamicin وهذا يتوافق مع معظم النتائج بوصف هذه المضادات علاجاً فعالاً ضد بكتريا *Ps. aeruginosa* (Vessillier *et al.*, 2001 ; Hauser and Padman, 2005).

جدول (1): أقطار مناطق التثبيط للأقراص المضادات الحيوية (بالملم mm) الحساسة لها البكتريا

Antibiotic disc										Isolated number
CFM	N	KF	Cl	Ax	CN	Cip	CTX	Te	Am	
R	10	R	R	R	R	R	R	R	R	**PSA1**
R	11	R	R	R	18	16	R	R	R	**PSA2**
R	12	R	R	R	R	10	R	R	R	**PSA3**
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**PSA4**
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**PSA5**
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**PSA6**
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**PSA7**
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**PSA8**
R	R	12	R	R	R	R	R	R	R	**PSA9**
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	**PSA10**

Am: Ampicillin, Te: Tetracyclin, CTX: Cefotaxime, Cip: Ciprofloxacin, CN: Gentamicin,

Ax: Amoxicillin, Cl: Cephalexin,

أظهرت النتائج إن بكتريا *Ps. aeruginosa* لها القدرة على النمو في الوسط الزرعي السائل المغذي الحاوي على تراكيز مختلفة من الفوسفات المتمثلة بالمركب Na2HPO4 لوحظ من النتائج ان البكتريا لها القابلية على النمو بالتراكيز (1 الى 13) % في الوسط الصلب المحضر و كما في الشكل (1)، إما عند تنميتها بالوسط السائل الحاوي على تراكيز مختلفة من الفوسفات فلوحظ ان البكتريا لها القابلية على النمو بالتراكيز من (1 الى 17) % ، مقارنة بالوسط الزرعي الكيميائي فلوحظ انه أيضا كان لها نمو في التراكيز المختلفة فمثلا بالوسط الصلب المحضر استطاعت النمو بتركيز من (1

الى 11) % هذا يبين لنا ان البكتريا تبحث عن الفوسفات حيث وجد من خلال حركتها باتجاه الفوسفات ذات التركيز العالي الذي يبلغ 1% كما في الصورة (1) ، إما بالوسط الزرعي الكيميائي السائل فنمت البكتريا بتركيز من (1 الى 13) % فأذن لوحظ إن تركيز الفوسفات كان عامل مشجع لنمو كما موضح في جدول(2).

اتجاه النمو

شكل (1): تأثير الفوسفات في نمو البكتريا

جدول(2) : تأثير الفوسفات في نمو البكتريا

Chemically defined medium		Broth medium	Solid medium	تركيز الفوسفات%	ت
Broth medium	Solid medium				
+	+	+	+	1	1
+	+	+	+	2	2
+	+	+	+	3	3
+	+	+	+	4	4
+	+	+	+	5	5
+	+	+	+	6	6
+	+	+	+	7	7
+	+	+	+	8	8
+	+	+	+	9	9
+	+	+	+	10	10
+	+	+	+	11	11
+	-	+	+	12	12
+	-	+	+	13	13
-	-	+	-	14	14
-	-	+	-	15	15
-	-	+	-	16	16

17	17	-	+	-	-
18	18	-	-	-	-
19	19	-	-	-	-
20	20	-	-	-	-

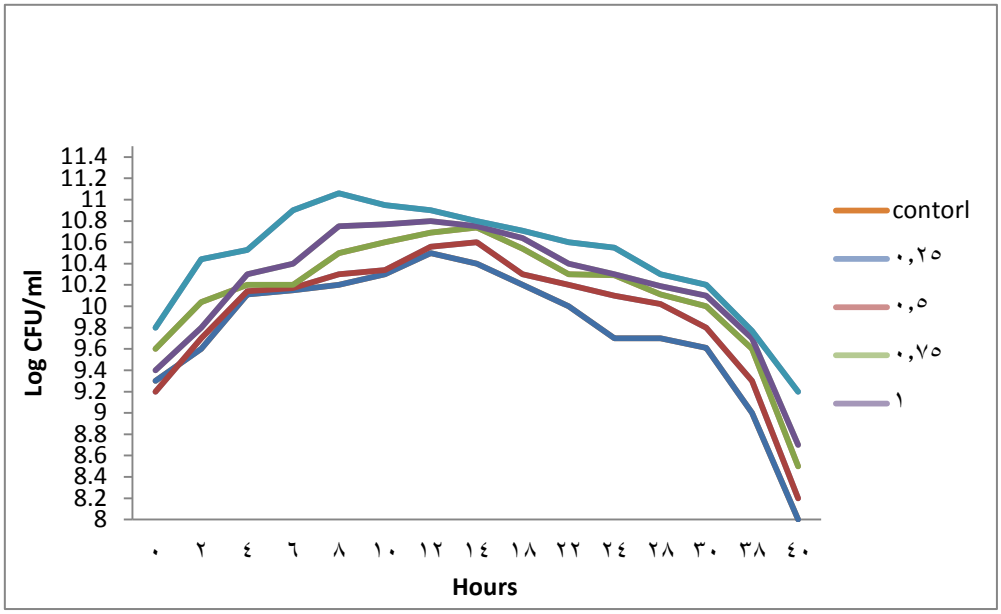
+: وجود نمو - : عدم وجود نمو

أظهرت النتائج إن هنالك حالة من الارتفاع في النمو أو زيادة في عدد خلايا بكتريا الزوائف الزنجارية بوجود الفوسفات حيث وجد إن في الوسط الزرعي المغذي السائل ان عدد المستعمرات البكتيرية تزداد بشكل تناسبا طرديا مع زيادة تركيز الفوسفات المضاف إلى الوسط ومن خلال رسم منحنى النمو للتعداد الحي Viable count بين المعدل الزمني وعدد الخلايا البكتيرية Log Colony forming unit / ml كما في شكل (2) وجدول (3) حيث لوحظ زيادة في عدد البكتريا بالتراكيز المستخدمة فوجد إن عدد الخلايا تتزايد تدريجيا بزيادة تركيز الفوسفات المستخدم. تبين من ذلك ان ارتفاع عدد الخلايا البكتيرية تزداد بزيادة تركيز الفوسفات وهذا يثبت ان الفوسفات هو احد العوامل الرئيسية والهامة التي تعتمد عليها بكتريا الزوائف الزنجارية في نموها (Wanner, 1987). مقارنة بالوسط الزرعي الكيميائي Chemically defined medium فلوحظ إن هناك زيادة كبيرة ملحوظة في عدد الخلايا من خلال رسم منحنى النمو كما في شكل (3) وجدول (4)، ربما يرجع هذا الارتفاع إلى اعتماد البكتريا بشكل رئيسي على الفوسفات بوصفها مصدراً يسهم في المسارات الايضية رئيسي عكس ما موجود في الوسط الزرعي المغذي السائل الذي يحتوي على مغذيات أخرى وأيضا يعتبر الوسط الكيميائي الوسط الخاص في زيادة نمو بكتريا الزوائف الزنجارية ولكي يتم إثبات إن الزيادة في النمو للبكتريا كانت نتيجة الاعتماد على المركب الفوسفات وليس على المركبات الأخرى جرى باستعمال هذا الوسط ولا يهمل قدرة العوامل المغذية الأخرى على تغذية المايكروب ولكن وجد ان الفوسفات بتراكيز مختلفة هو عامل مساعد للنمو وبثبوت تركيز تلك المغذيات الأخرى الموجودة في الوسط وهذا ما يؤكده الباحثين ومنهم (Zaborin *et al*., 2008) الذي استخدام نوع شهير من الديدان و يسمى Caenorhabditis elegans و الذي يتم استخدامه بكثرة في الدراسات المعملية كنموذج للكائنات ذات الخلايا حقيقية النواة ، حيث قاموا بتنمية هذا النوع من الديدان في وسط يحتوى على *Ps. aeruginosa* و في وجود تركيز منخفض من الفوسفات و في وسط آخر يحتوى على وجود نفس الميكروب مع وجود تركيز مرتفع من الفوسفات. و وجد أن الميكروب قد تمكن من القضاء على الديدان في الوسط المحتوى على تركيز منخفض من الفوسفات بينما ظلت الديدان حية فى الوسط المحتوى على تركيز مرتفع من الفوسفات حيث لا حاجة للبكتريا لمهاجمة الأنسجة الحية بحثا عن الفوسفات لتوفرها في الوسط المحيط بها.

جدول (3) : العلاقة بين تراكيز مختلفة من الفوسفات ومعدل النمو مع المعدل الزمني لنمو بكتريا الزوائف الزنجارية باستخدام الوسط الزرعي المغذي السائل

تركيز الفوسفات (%) (Nutreint broth)					الوقت (Hours)
Control	0 .25	0 .50	0 .75	1	
Log (CFU)					
9.3	9.2	9.6	9.4	9.8	0
9.6	9.7	10.04	9.8	10.44	2
10.11	10.14	10.2	10.3	10.53	4
10.15	10.17	10.2	10.4	10.9	6
10.2	10.3	10.5	10.75	11.06	8
10.3	10.34	10.6	10.77	10.95	10
10.5	10.56	10.69	10.8	10.9	12
10.4	10.6	10.74	10.75	10.8	14

10.71	**10.64**	**10.54**	**10.3**	**10.2**	**18**
10.6	**10.4**	**10.3**	**10.2**	**10**	**22**
10.55	**10.3**	**10.29**	**10.1**	**9.7**	**28**
10.3	**10.19**	**10.11**	**10.02**	**9.7**	**30**
10.2	**10.1**	**10**	**9.8**	**9.61**	**35**
9.77	**9.7**	**9.6**	**9.3**	**9**	**40**
9.04	**8.87**	**8.79**	**8.65**	**8.55**	**LSD(P≤0.05)**

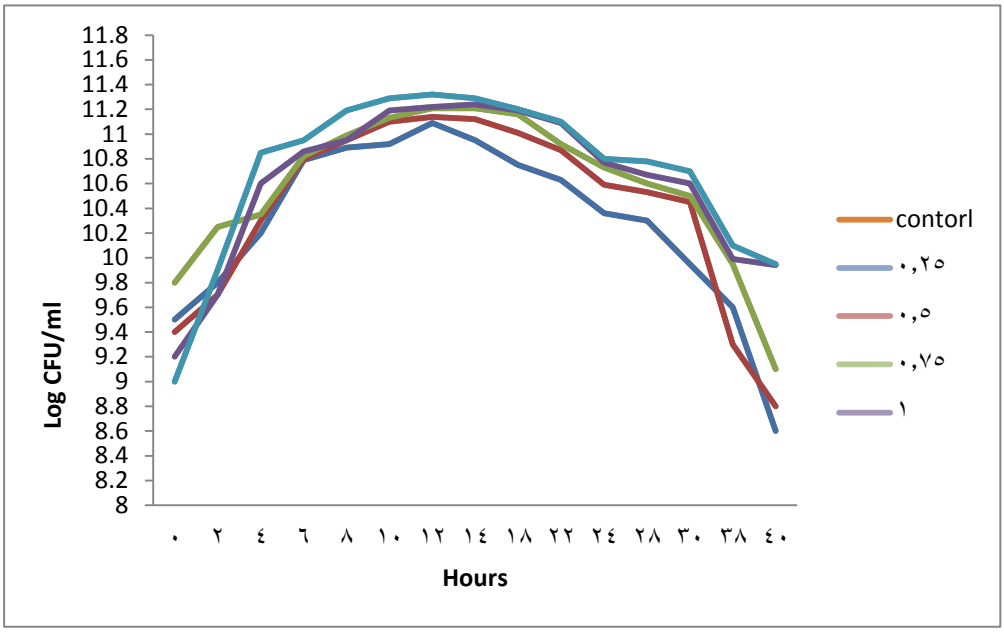


شكل (2): العلاقة بين تراكيز مختلفة من الفوسفات ومعدل النمو مع المعدل الزمني لنمو بكتريا الزوائف الزنجارية باستخدام الوسط الزرعي المغذي السائل

جدول (4) : العلاقة بين تراكيز مختلفة من الفوسفات ومعدل النمو مع المعدل الزمني لنمو بكتريا الزوائف الزنجارية باستخدام الوسط الزرعي الكيميائي السائل

تركيز الفوسفات(%) (Chemically defined broth)					الوقت (Hours)
1	0 .75	0 .50	0 .25	Control	
Log (CFU)					
9	9.2	9.8	9.4	9.5	0
9.9	9.7	10.25	9.7	9.8	2
10.85	10.6	10.35	10.3	10.2	4
10.95	10.86	10.82	10.8	10.79	6
11.19	10.95	10.99	10.95	10.89	8
11.29	11.19	11.13	11.1	10.92	10
11.32	11.22	11.21	11.14	11.09	12
11.29	11.24	11.21	11.12	10.95	14
11.2	11.19	11.16	11.01	10.75	18
11.1	11.09	10.92	10.87	10.63	22
10.8	10.77	10.73	10.59	10.36	24
10.78	10.67	10.6	10.53	10.3	28
10.7	10.6	10.5	10.45	9.95	30

10.1	**9.99**	**9.95**	**9.3**	**9.6**	**38**
9.95	**9.94**	**9.1**	**8.8**	**8.6**	**40**
9.44	**9.2**	**9.09**	**8.99**	**8.94**	**LSD(P≤0.05)**



شكل (3): العلاقة بين تراكيز مختلفة من الفوسفات ومعدل النمو مع المعدل الزمني لنمو بكتريا الزوائف الزنجارية باستخدام الوسط الزرعي الكيميائي السائل

المصادر

الراوي، خاشع محمود وخلف، عبد العزيز. (2000)، تصميم وتحليل التجارب الزراعية. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. الطبعة الثانية. ص 488.

الأمير، لينة عبد الكريم عبد الرزاق. (1998). دراسة جزيئية لعوامل الضراوة في بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*. أطروحة دكتوراه. كلية العلوم – جامعة بغداد.

الشيباني ، انتصار ناظم خلخال. (2004). دراسة تصنيفية للأنواع التابعة للـ *Pseudomonad* المعزولة من المستشفيات في بغداد وتأثير بعض العوامل عليها. رسالة دكتوراه. كلية العلوم – الجامعة المستنصرية.

عوف ، عبد الحكيم. (2001). دراسة بكتريولوجية وإنزيمية لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* المنتجة للايلاستيز. رسالة ماجستير. كلية العلوم – جامعة الكوفة.

Bauer, A. W. ; Kirby, W.M..M.; Sherris, E.G.; and Jurk, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. Am. J. Clin. Pathol. 45: 493-496.

Benson, J. H. (2002). Microbiological Applications : Laboratory Manual in General Micrbiology. 8th ed. McGraw Hill.P. 145, 168 – 175.

Cruickshank, R. ; Duguid, J. P. ; Marmion, B. P. and Swain, R. H. A. (1975). The practice of medical Microbiology. In : Medical Microbiology. Vol. 2. 12th ed. Churchill Livingstone. London. P. 141 – 181, 443 – 447.

DeMacedo, J. L. and Santos, J. B. (2005). Bacterial and Fungal Colonization of burn wounds. Mem. Inst. Oswaldo. Cruz. 100 (5) : 535 – 539.

Gorbach, S.L.; Bartlett, J.G. and Blacklow, N.R. (1996). "Infectious Disease". 2nd ed., Philadelphia, W.B. Saunders, pp. 1824-1837.

Hauser, A. and Padman, S. (2005). Severe *Pseudomonas aeruginosa* infections: talking the counudrum of drug resistance. Postgrad. Med. 117 (1): 41 – 48.

Heale, J.P.; Pollard, A.J.; Crookall, K.; Stokes, R.W.; Simpson, D.; Speert, D.P.; Tsang, A. and Bonnie, M. (2001). Two distinct receptors mediate nonopsonic phagocytosis of different strains of *Pseudomonas aeruginosa*. J. Infect. Dis., 183(8): 1-15.

Hsueh, P. P. ; Chen, W. H. and Luh, K. T. (2005). Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram – Negative bacteria causing nosocomial infections from 1991 – 2003 at a University Hospital in Taiwan. Int. J. Antimicro. Agents., Nov. 6.

Macfaddin, J.F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria (3rd ed.), Lippincott Williams and wilkins, U.S.A.

National Commetti of Clinical Laboratory Standards (NCCLS).(2002). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test. Vol. 20(2).

Puzova, H. ; Siegfried, L. ; Kmetova, M. ; Durovicova, J. and Kerestesova, A. (1994). Characteristics of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from urinary tract infections. Folia. Microbiol. 39 (4): 337 – 341.

Sligh, W. ; Taylor, G. and Brindley, p. G. (2006). Five years of nosocomial gram negative bacteria in a general intensive care unit : Epidemiology , antimicrobial susceptibility patterns , and outcomes. Int. Infect. Dis. (Feb. 3).

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

Vessillier, S. ; Delolne, F. ; Bernillon, J. ; Saulneir, J. and Wallach, J. (2001). Hydrolysis of glycin – containing elastin pentapeptides by LasA, Metallo-Beta-lactamase from *Pseudomonas aeruginosa* . Eur. J. Biochem. 268 : 1049 – 1057.

Wanner, B. L. (1987). Phosphate regulation of gene expression in *E. coli*, p. 1326-1333. In F. C. Neidhardt, J. L. Ingraham, B. Magasanik, K. B. Low, M. Schaechter, and H. E. Umbarger (ed), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: cellular and molecular biology, vol. 2. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

Zaborin, A. ; Romanowski, K. ; Gerdes, S. ; Holbrook, C. ; Lepine, F. ; Long, J. ; Poroyko, V. ; Diggle, S. T. ; Wilke, A. ; Righetti, K. ; Morozova, I. ; Babrowski, T. ; Liu, D. C.; Zaborina, O. and Alverdy. (2008). Red death in *Caenorhabditis elegans* caused by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1. Surgery, 15(106):6327-6332.

Zhang, Y. H. ; Deng, S. L. and Liu, J. W. (2005). Analysis of susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from burns toward antibiotics *in vitro* Zhonghue. Shao. Shang. Za. Zhi. 21 (2) : 104 – 106.

The Effect of Phosphate on Growth *Pseudomonas aeruginosa* *In vitro*

Dr. Abd-Al-Majed AL-Sadi — College of Science/ Kuffa university

Dr. Zahra muhsin Ali — College of Science/ Kuffa university

Muslim Idan muhsin — College of Science/ Kuffa university

Abstract

The aim of of this study was to determine the effect of phosphate compounds on the growth of *Pseudomonas aeruginosa in vitro* and *in vivo*. This bacteria has the ability to search for the non organic phosphate found in the tissue or in the culture media, this phosphate is very important for the metabolism and growth of this bacteria .

In vitro the study of phosphate concentration effect on bacterial growth in the liquid media reached an optimum of 13% while in the solid media it was 17%. The increase of phosphate concentration caused increase in the growth of this bacteria. This study showed the ability of their bacteria resistance for most antibiotic tested.