مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 20 العدد 1 سنة 2015
ازهار نوري \ حيدر سعود ISSN 1997-2490

*دراسة مقاومة المضادات الحيوية لعزلات المكورات المعوية البرازية المعزولة من حالات سريرية مختلفة في مدينة الديوانية

تاريخ الاستلام :7\10\2013 تاريخ القبول :16\12\2013

ازهار نوري حسين الموسوي
كلية الصيدلة / جامعة القادسية

حيدر سعود مايح الكرعاوي
كلية التربية / جامعة القادسية

az.almousawi@yahoo.com

الخلاصة

جمعت 280 عينة من حالات سريرية مختلفة من مستشفى الديوانية التعليمي ومستشفى الولادة و الأطفال في مدينة الديوانية للفترة من 2012/11/20 لغاية 2013/4/12 . تم الحصول على 20 عزلة من المكورات المعوية البرازية *Enterococcus faecalis* بواقع 10 عزلات من اخماج المسالك البولية و10 عزلات من حالات الاسهال في حين لم تعزل من أخماج الجروح والحروق . اعتمدت الصفات الزرعية و المجهرية للبكتريا المدروسة ،والاختبارات الكيموحيوية ،كما تم التشخيص على وسط اكار الكروم Chrom agar ثم التشخيص النهائي بواسطة جهاز Vitek 2 .اجري فحص الحساسية للعزلات المدروسة اتجاه (11) مضاداً حيوياً ، وقد اظهرت العزلات مقاومة مطلقة اتجاه مضادات Erythromycin وTetracycline و Rifampin و Ciprofloxacin وبنسبة 100%، في حين أظهرت هذه البكتريا حساسية مطلقة اتجاه مضاد Imipenem وبنسبة 100% ، وتباينت المقاومة اتجاه مضادات Chloramphenicol وNitrofurantoin و Pnicillin و Gentamycin و Vancomycin وبنسب 50% و 85% و 60% و70% و 35% على التوالي. كما ان نسبة مقاومة الكلية لعزلات *E.faecalis* لمجموع المضادات المستخدمة في الدراسة أعلى من حساسيتها من حيث مقاومتها لأكثر من 70%من هذه المضادات .

الكلمات المفتاحية : مضادات حيوية ، انزيمات ، بكتريا .

Microbiology classification : QR171

المقدمة

تعد المكورات المعوية *Enterococcus* بكتريا موجبة لصبغة كَرام وهي جزء من النبيت الطبيعي لقناة الهضمية gastrointestinal tract flora في الإنسان والحيوان ، وعندما لا توجد في موطنها الطبيعية تصبح بكتريا انتهازية وتتحول الى بكتريا مرضية (1) . وهي من الجراثيم المهمة في العالم التي تسبب الإمراض المكتسبة من المستشفيات nosocomial infections (2) . وتعد المكورات المعوية البرازية *Entrococcus feaecalis* من أكثر أنواع جنس المكورات المعوية في أحداث إصابات المكورات المعوية Enterococcal infections في الإنسان ، إذ تشكل *E.faecalis* (80-90 %) من هذه الإصابات ، فيما يشكل النوع *E. faecium* اغلب النسبة المتبقية من هذه الإصابات (3). وهي ممرضة انتهازية opportunistic pathogenic وتسبب أمراض عديدة منها اخماج المسالك البولية urinary tract infections(UTI) ، اخماج شغاف القلب endocarditis ، تجرثم الدم bacteremia و اخماج الجروح wound infections (4). وتكون معظم الإصابات بهذه البكتريا داخلية المنشأ Endogneous أي من المريض نفسه ومصدر هذه الإصابات القناة المعوية و أصابتها أو قد تكون هذه الإصابات خارجية المنشأ Exogneous و مصدرها اشخاص اخرين كالعاملين في المستشفيات او الزائرين فضلا عن البيئة الملوثة (5). وتشكل المكورات المعوية البرازية اليوم المرتبة الثانية إو الثالثة من بين البكتريا التي تعزل من المرضى الراقدين في المستشفيات (6). تمتلك هذه البكتريا العديد من عوامل ضراوة المهمة في أحداث أمراضية

*** البحث مستل من رسالة ماجستير للباحث الثاني**

المكورات المعوية والتي تساعدها على التمسك بخلايا المضيف host cells وإفراز مواد تساهم في غزوها للانسجة كذالك تؤثر على مناعة المضيف(7) . ومن عوامل الضراوة التي تمتلكها هذه البكتريا هي مواد التجمع Aggregation substance (Agg) ،الجيلاتين gelatinase (GelE) ، الهيمولايسين hemolysin ، البروتينات السطحية enterococcal surface protein (Esp) و الاوكسيد الفائق الخارج خلوي Extracellular Superoxide (8) .

تعتبر بكتريا المكورات المعوية من البكتريا التي لها المقدرة الكبيرة على اكتساب المقاومة ضد العديد من المضادات الحيوية ، حيث تثبت الإحصائيات العالمية تصاعد حدوث هذه العدوى فقد أصبحت احد المسببات الرئيسية للإصابة بالعدوى في المستشفيات (9). وتشكل المكورات المعوية تحدياً علاجياً لمقاومتها مجموعة واسعة من المضادات الميكروبية بما في ذلك المضادات التي تأثر على جدار الخلية ،كما هو في المضادات المتاحة تجارياً مثل مجموعة الامينوكلايكوسايد aminoglycosides ،البنسلين ،الامبسلين ampicillin والفانكومايسين vancomycin ، وهذا ما يؤكد الحاجة إلى التعرف إلى هذه الجراثيم والمنضوية ضمن مجموعة D و التفريق بينها وبين مجموعة العقديات streptococci والتي تكون أكثر حساسية للمضادات الحيوية (10).
نظرا لقة الدراسات المتوفرة عن مدى مقاومة المكورات المعوية البرازية وعدم تناولها في مختبرات المستشفيات التابعة لمدينة الديوانية لذا جاءت هذه الدراسة لتحري عن هذا الموضوع ووفق الخطوات التالية :

1- عزل وتشخيص بكتريا المكورات المعوية البرازية من حالات سريرية مختلفة (أخماج المسالك البولية ، حالات الإسهال ، أخماج الجروح والحروق).
2- اختبار الحساسية للمضادات الحيوية لمعرفة مدى مقاومة هذه البكتريا لهذه المضادات الحيوية .

المواد وطرائق العمل :

1- جمع العينات Collection of samples

جمعت 280 عينة مرضية مختلفة شملت 140 عينة إدرار و40 عينة براز و50 مسحة من الجروح و 50 مسحة من الحروق. من المرضى المراجعين والراقدين في مستشفى الديوانية التعليمي ومستشفى الولادة و الاطفال في مدينة الديوانية و لكلا الجنسين و بأعمار مختلفة ، للفترة من 2012/11/20 الى 2013/4/12 ، (فيما يخص عينات الادرار اوصي المرضى بجمع الادرار الوسطي في قناني بلاستكية معقمة ، كما جمعت عينات البراز في قناني بلاستكية معقمة) .

2- العزل والتشخيص Isolation and identification

زرعت العينات التي تم الحصول عليها مباشرتاً على وسط اكار الدم Blood Agar و اكار الماكونكي MacConkeys Agar ووسط اكار الكروم Hicrom agar M1418 و الوسط الانتخابي للمكورات المعويةHichrom Enterococci agar بطريقة التخطيط ، وحضنت الاطباق لمدة (24) ساعة بدرجة حرارة (37) مْ . كما اجريت مجموعة من الاختبارت الكيموحية وحسب ما جاء في (11) ومنها

- اختبار الكاتاليز Catalase test
- اختبار الاوكسديز Oxidase test
- اختبار تحمل الملوحة Salt tolerance test
- اختبار تحمل القاعدية Alkaline tolerance test
- النمو في (10) و (45) مْ Growth at 10 and 45 °C
- اختبار تحلل الاسكولين Asculin hydrolysis test
- اختبار تحمل درجة 60 مْ لمدة 30 دقيقة Tolerance 60°C for 30 minute

ولغرض التأكد من العزلات البكتيرية استعمل جهاز التشخيص VITEK2 المجهز من قبل شركة BioMerieux والذي يتضمن 64 اختبار من اختبارت الكيموحيوية التي تستعمل في تسخيص البكتريا اذ تصل دقة التشخيص بهذا الجهاز الى 99%. اجري الاختبار حسب تعليمات الشركة المجهزة له وكما يأتي:

1. زرعت العزلات قيد الدراسة على وسط اكار المكونكي وحضنت بعد ذلك لمدة (24) ساعة وبدرجة حرارة (37) مْ .

2. حُضر العالق البكتيري لكل عزلة من خلال اخذ جزء من النمو بكتيري ووضعه في انبوبة معقمة تحتوي على (3) مل من محلول الملح الفسلجي بتركيز 0.85 % ثم خُففت عكورة النمو للحصول على عالق كثافتهِ تتراوح بين (0.5–63.0) ملغم. مل والذي يُكافئ 1.5×10^8خلية/مل بإستخدام جهاز المطياف الضوئي بطول موجي 230 نانومتر.
3. وضعت الانابيب في المحمل الخاص بها في الجهاز ووصلت بالشريط الخاص لهذا الغرض (GP) اذ ادخل الرقم الشريطي barcode الى جهاز الحاسوب المرفق مع جهاز الفايتك ، بعد ذالك نقل المحمل ووضع في filler الذي يقوم تلقائياً بملئ الاشرطة بالعالق البكتيري وبعد الانتهاء من العملية يعطي الجهاز ايعاز complete.
4. نقل المحمل الى الحقل الثاني reader الذي يقوم بقطع الاشرطة (قطع الانبوبة الرفيعة الموصلة بين الشريط والانابيب) واعطاء ايعاز بشكل اشارة رقمية اذ يحتفظ بالاشرطة ، اما المحمل الذي يحتوي على الانابيب فاخرج من الجهاز، وبعد الوقت المحدد قرأت النتائج .

3- اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic Sensitivity Test

اعتمدت طريقة Kirby و Bauer ،وكما جاء في (12) لاجراء اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية المبينة في الجدول (2-1) وكما في الخطوات التالية :

1. تم تنمية البكتريا في(5) مل من المرق المغذي وحضنت لمدة (18-24) ساعة وبدرجة (37) مْ.
2. ضبط العالق البكتيري للحصول على عكورة مساوية لعكورة أنبوبة ماكفرلاند No.(0.5) (1.5×10^8) خلية / مل .
3. غمست مسحة قطنية معقمة بالمرق المغذي المزروع وأزيل الفائض من المرق بضغط مسحة القطن على الجدار الداخلي لانبوبة الاختبار ثم نشرت على اكار مولر_هنتون بثلاثة اتجاهات متعاكسة لتكون طبقة رقيقة متجانسة من الزرع الجرثومي على جميع أجزاء سطح الوسط الزرعي تركت الأطباق لتجف بدرجة حرارة الغرفة 10- 15 دقيقة
4. استخدام ملقط معقم لوضع أقراص المضادات الحيوية على أطباق من وسط مولر هنتون بحيث يكون توزيعها على أماكن منتظمة تسمح بقياس قطر التثبيط للنمو الجرثومي حول قرص المضاد الحيوي ، وحضنت الأطباق لمدة (24) ساعة وبدرجة حرارة (37) مْ.
5. تمت قراءة النتائج وذلك بقياس قطر التثبيط للنمو الجرثومي وبضمنها قطر قرص المضاد الحيوي بوحدة المليمتر بوساطة الفيرنيا الالكترونية وفسرت النتائج حسب (13) .

جدول (1): أقراص المضادات المستخدمة في الدراسة الشركات المصنعة لها.

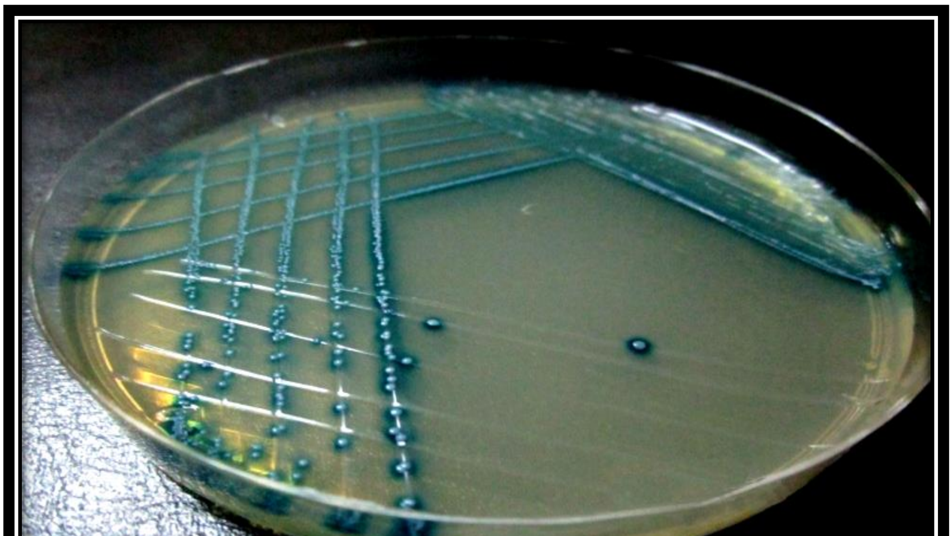
صنف المضاد الحيوي	أسم المضاد الحيوي	الرمز	التركيز	الشركة المصنعة
Penicillins	Penicillin	P	10units	Bioanalyse(Turkey)
Glygopeptides	Vancomycin	VA	30µg	
Macrolides	Erythromycin	E	15µg	
Tetracyclines	Tetracycline	TE	30µg	
Flouroquinolones	Ciprofloaxacin	CIP	5µg	
Nitrofurantoins	Nitrofurantoin	F	300µg	
Ansamycins	Rifampin	RA	5 µg	
Aminoglycosides	Gentamicin	CN	30µg	
Phenicols	Chloramphenicol	C	30µg	
Carbapenem	Imipenem	IPM	10µg	Himedia (India)

النتائج والمناقشة :-

تم تشخيص 20 عزلة لبكتريا *E.faecalis* المعزولة من مصادر سرية مختلفة شملتها الدراسة وعلى النحو الاتي : 10 عزلات من اخماج المسالك البولية و10 عزلات من حالات الاسهال في حين لم تعزل من اخماج الحروق والجروح ، وذلك بعد زراعتها وتنقينها ، وحسب ماورد في (14) و(15).

1- نتائج الخصائص الزرعية و الاختبارت الكيموحية

ظهرت المستعمرات على وسط اكار الدم بشكل مستعمرات دائرية ذات لون ابيض مائل إلى الرمادي وأظهرت قدرات مختلفة للتحليل الدم ، اما المستعمرات النامية على وسط أكار الماكونكي رقم (2) والخالي من صبغة الكريستال البنفسجية فقد ظهرت بشكل مستعمرات وردية اللون و ذلك لتخميرها سكر اللاكتوز الموجود في الوسط ، كما ظهرت المستعمرات على وسط اكَار الاسكولين باللون الأسود و ذلك بسبب قدرتها على تحليل مادة الاسكولين إلى كلوكوز و اسكولتين محولة لون الوسط من المصفر إلى الأسود . كما ظهرت المستعمرات باللون الأزرق إلى اخضر تركوازي على وسط أكار الكروم (الصورة 1) ، في حين ظهرت المستعمرات باللون الأزرق وصغيرة الحجم (بحجم رأس الدبوس) على الوسط الانتخابي للمكورات المعوية البرازية أكار كروم المكورات المعوية ، و يختلف هذا الوسط عن الأوساط الأخرى المستخدمة في الدراسة الحالية باحتوائه على مادة أزايد الصوديوم Sodium azide ، اذ تعمل هذه المادة على تثبيط نمو البكتريا السالبة لصبغة كرام لذلك يُعد هذا الوسط ذو كفاءة عالية لعزل المكورات المعوية (16) . اما نتائج الفحص المجهري فقد بينت ان مستعمرات هذه البكتريا تكون بشكل مكورات أو أزواج وقد تكون بشكل سلاسل قصيرة موجبة لصبغة كرام .



صورة (1) المكورات المعوية البرازية على وسط أكار الكروم

كما أظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية أن جميع عزلات بكتريا المكورات المعوية البرازية كانت سالبة لفحص الكاتليز و الاوكسديز وموجبة لفحص تحمل الملوحة اذ نمت جميع العزلات بوسط نقيع الدماغ والقلب ذو التركيز الملحي (6.5%) ، وكذالك كانت النتائج ايجابية لفحص تحمل القاعدية . كما أظهرت جميع العزلات القدرة على تحليل الاسكولين و أيضا أظهرت هذه البكتريا القدرة على النمو في درجات الحرارة المختلفة ،اذ تمكنت من النمو في درجة حرارة (10) مْ و (45) مْ كما تمكنت من البقاء على قيد الحياة في درجة حرارة (60) مْ لمدة (30) دقيقة (الجدول 2).

جدول (2) نتائج الاختبارات الكيموحيوية لعزلات بكتريا المكورات المعوية البرازية .

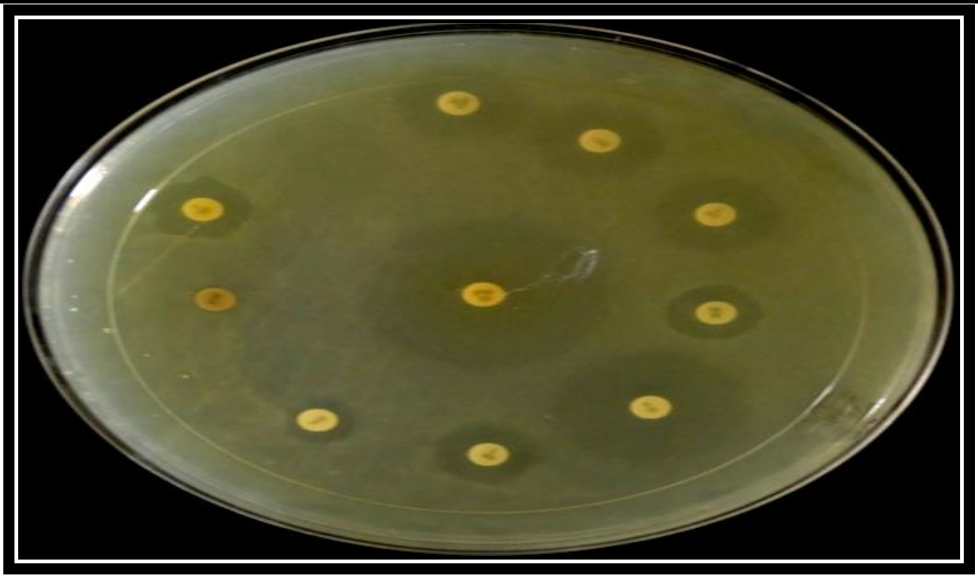
ت	الاختبار	النتيجة
1	اختبار فحص الكاليز	-
2	اختبار فحص الاوكسديز	-
3	اختبار تحمل الملوحة	+
4	اختبار تحمل القاعدية	+
5	تحلل الاسكولين	+
6	النمو في درجة حرارة (10) مْ و(45) مْ	+
7	تحمل درجة حرارة (60) مْ لمدة (30)دقيقة	+

كما ان التشخيص النهائي لهذه البكتريا بواسطة نظام الفايتك أكد عائديه جميع عزلات الى بكتريا المكورات المعوية البرازية .

2- اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

اجري اختبار فحص الحساسية لجميع عزلات بكتريا المكورات المعوية البرازية اتجاه (11) مضاد حيوي (الصورة 4-4) إذ تم تحديد حساسية العزلات البكتيرية تجاه المضادات الحيوية المختارة وذلك بقياس قطر منطقة التثبيط لأقراص المضادات الحيوية ومقارنة النتائج مع ماورد في (13) .

يلاحظ من الجدول (3) هنالك تباينا واضحاً في مقاومة العزلات قيد الدراسة اتجاه المضادات الحيوية المستخدمة ، فقد اظهرت النتائج ان جميع عزلات بكتريا المكورات المعوية البرازية ابدت مقاومة مطلقة لكل من المضادات Erythromycin وTetracycline و Rifampin و Ciprofloxacin وبنسبة 100%، في حين أظهرت هذه البكتريا حساسية عالية اتجاه المضاد الحيوي Imipenem وبنسبة 100%. في حين كانت المقاومة متوسطة لمضاد الحيوي Chloramphenicol اتجاه (10) عزلات وبنسبة 50% بينما اختلفت نسبة المقاومة للمضادات الحيوية الأخرى . إذ أظهرت (17) عزلة مقاومة لمضادNitrofurantoin وبنسبة 85% ، و12 عزلة مقاومة لمضاد Pnicillin و بنسبة 60% ، و (14) عزلة مقاومة للمضاد Gentamycin بنسبة 70% ، كما وجد ان (7) عزلات كانت المقاومة لمضاد Vancomycin وبنسبة 35% . ومن النتائج أعلاه يلاحظ أن نسبة مقاومة عزلات *E.faecalis* لمجموع المضادات المستخدمة في الدراسة أعلى من حساسيتها من حيث مقاومتها لأكثر من 70%من هذه المضادات .



الصورة (2) حساسية المكورات المعوية البرازية للمضادات الحيوية

وجاءت هذه النتائج متفقة مع (17) اذ اكد الباحث على ان جميع عزلات المكورات المعوية البرازية أبدت مقاومة مطلقة لمضادي Erythromycin وTetracycline وبنسبة 100% ، ايضاً اقتربت هذه النتائج مما توصل اليه (18) اذ بين ان عزلات هذه البكتريا كانت مقاومة لكلى المضادين ونسبة 92% و96% على التوالي ، كما ان نتائج هذه الدراسة جاءت اعلى مما سجلته (19) والتي وجدت نسبة المقاومة 70% لكل من المضادين ، وقد يعزى سبب المقاومة العالية لمضاد Erythromycin الى التغير في موقع الهدف من خلال الانزيم methylase المشفر له بواسطة الجين *emr* وهي الالية الاكثر شيوعاً، او طرح المضاد الحيوي خارج الخالية (20) . اما سبب المقاومة العالية لمضاد Tetracycline ربما يعزى الى امتلاك هذه البكتريا آليتين تقع تحت سيطرة بلازميدية هما اختزال اخذ المضاد عبر الأغشية الخلوية نتيجة تغير نفاذيتها ، وزيادة طرح المضاد الحيوي خارج الخلية البكتيرية بآلية الضخ الخارجي efflux pump (21). كما جاءت نتائج هذه الدراسة مماثلة لنتائج الدراسة المحلية لـ (2) والتي بينت ان جميع عزلات بكتريا المكورات المعوية البرازية كانت حساسة لمضاد Imipenem ، كما اتفقت هذه النتائج مع ما توصل اليه (22) واللذان أكدا على أن جمع عزلات هذه البكتريا كانت حساسة لمضاد Imipenem . اذ يُعدّ الأميبينيم من مجموعة الكاربابينيم ذو الفعالية الجيدة ضد مجاميع البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام، وكذلك ضد البكتريا اللاهوائية، فهو مركب مستقر جداً ولا يتأثر بأنزيمات البيتالاكتاميز (23) . واختلفت نتائج هذه الدراسة مع (22) اللذان اشارى الى ان المكورات المعوية البرازية كانت حساسة وبنسبة 100% لمضاد Nitrofurantoin في حين أشارت الدراسة الحالية ان عزلات البكتريا ابدت مقاومة لهذا المضاد وبنسبة 85% ، كذالك لم تتفق هذه النتائج مع دراسة (24) والتي أشارت إلى أن هذه البكتريا أبدت حساسية اتجاه مضادNitrofurantoin وبنسبة 94.73%، كما ان الدراسة اختلفت مع الباحثة اعلاه والتي أشارت في دراستها الى ان بكتريا المكورات المعوية البرازية كانت حساسة لمضاد Rifampin وبنسبة84.21% ، في حين اظهرت النتائج الدراسة الحالية ان بكتريا المكورات المعوية البرازية كانت مقاومة لمضاد الريفامبين وبنسبة 100% واتفقت هذه النتيجة مع (2) ، وتعزى المقاومة لمضادNitrofurantoin نتيجة حدوث طفرات وراثية ، اما المقاومة للمضاد Rifampin لربما تحدث نتيجة حصول طفرة وراثية تعمل على تغيير تركيب أنزيم RNA–polymerase وبذلك يفقد المضاد القدرة على الارتباط بهذا الانزيم (25).

فيما يخص المقاومة لمضاد Chloramphenicol فقد جاءت نتائج الدراسة الحالية اقل مما سجلته (26) اذ كانت 66% من عزلاتها مقاومة لهذا المضاد في حين اظهرت الدراسة الحالية ان نسبة مقاومة لهذا المضاد بنسبة 50% كما كانت النتائج أعلى مما سجله (17) اذ كانت نسبة العزلات المقاومة في دراسة الباحث 29.6%، وتعزى مقاومة البكتريا لمضاد الكلورومفينيكول الى انتاج انزيمات Chloramphenicol acetyl transferase-CAT (16) .

اما مضاد Gentamycin والذي يعد من مضادات الامينوكلايكوسيدات فقد ابدت له العزلات مقاومة بنسبة 70% وجاءت هذه النتائج اقل مما سجلته (26) اذ بلغت نسبة المقاومة في له 82% ، و أعلى مما سجله (27)

في دراسته والبالغ 30.3% في حين جاءت هذه النتائج متقاربة مع ماسجلته (9) و (19) اذ كانت نسب المقاومة في دراستهما 78.6% و 60% على التوالي ، ان المستوى العالي لمقاومة الجنتامايسين قد يتم بفعل الأنزيمات المحور لمضادات الامينوكلايكوسايد *aac*(6)-*aph* Amioglycoside modifying enzyme (5)، والتي تحدث تغيرات في موقع الهدف مؤدية الى التقليل من الارتباط الرايبوسومي (16) . كما أظهرت عزلات المكورات المعوية البرازية في الدراسة الحالية مقاومة لمضادات البيتالاكتام ومنها البنسلين اذ أبدت العزلات في هذه الدراسة نسبة مقاومة 60% لهذا المضاد ، و جاءت هذه النتائج متفقة مع ما توصل اليه (28) و(29) اذ اكدو في دراستهم ان 60% من المكورات المعوية البرازية مقاومة لمضاد البنسلين وهذا يتفق تماما مع نتيجة الدراسة الحالية . وتعزى هذه المقاومة الى امتلاك هذه البكتريا البروتينات الرابطة للبنسلين (PBPs) وخاصة ذات الوزن الجزيئي الواطئ التي تكون ذات ألفة واطئة للارتباط بهذه المضادات ، او نتيجة حدوث طفرات وراثية تؤدي إلى تغيير في الفعالية الوظيفية لهذه البروتينات ، اذ تعد هذه الآليات أكثر شيوعا في مجموعة الجراثيم الموجبة لصبغة گرام ، فضلا عن ذلك تنتج إنزيمات البيتالاكتاميز، كما يمكن ان تكتسب المقاومة من العناصر القافزة (25).

من جانب اخر ابدت البكتريا مقاومة مطلقة لمضادCiprofloxacin الذي يعد من مضادات الكوينولونات، وجاءت هذه النتيجة اعلى مما سجلته العديد من الدراسات ومنها دراسة (30) والذي أشار الى 88% من العزلات كانت مقاومة لهذا المضاد ،ايضاً جاءت النتائج اعلى مما سجلته دراسة (26) اذ اظهرت نتائج الباحثة ان 76% من العزلات كانت مقاومة لهذا المضاد ، وقد تعزى هذه المقاومة الى حدوث طفرات في جينات *gyr* A و *par* C والتي تساهم بتطوير مستوى عالي من المقاومة ، او ربما تعزى هذه المقاومة إلى أنظمة التدفق (31) . اما المقاومة لمضاد Vancomycin والذي يعد الاكثر شيوعاً واستخدماً من مضادات المجموعة الكلايكوبتيدية فقد بلغت نسبة المقاومة له 35 % في الدراسة الحالية وجاءت هذه النتائج اقل مما سجله (32) اذ وجد ان 64% من العزلات مقاومة لهذا المضاد ، كما جاءت هذه النتائج أعلى مما سجلته (19) والتي وجدت نسبة مقاومة هذا المضاد 20% ، في حين لم تتفق هذه النتائج مع (33) والتي بينت ان جميع العزلات كانت حساسة لمضاد الفانكومايسين ، اذ يؤثر هذا المضاد على الاصرة D-alanin-D-alanin مثبطاً بذلك تكوين الجدار، حيث تلجأ بعض البكتريا الى تغير هذه الآصرة من خلال استبدال نهاية الاصرة بـ D–lactate او D–serine ليصبح D–Ala–D–Lac او D–Ala–D-serine بدلا من النهاية الطبيعيةD-Ala-D-Ala ، وبالتالي لا يعمل المضاد الحيوي مسببة ظهور عزلات مقاومة لمضاد الفانكومايسين (34) . ان الاختلاف في ارتفاع وانخفاض نسب المقاومة والحساسية للمضادات الحيوية بشكل عام في هذه الدراسة قد يعزى لعدة أسباب منها (طبيعة النماذج المرضية التي عزلات منها البكتريا ، الاختلاف بالجنس والعمر ، المقاومة الذاتية ، قابلية العالية لأكتساب المقاومة ، تحمل ظروف بئية قاسية ،الانتقال بالأيدي والأجهزة الطبية ، الاستخدام الغير مقنن للمضادات الحيوية والتي يمكن لها ان تزيد من مقاومة هذه البكتريا).

جدول (3) مستويات المقاومة و الحساسية للمضادات الحيوية بين عزلات بكتريا *E.faecalis*.

اسم المضاد الحيوي	المقاومة العدد(%)	الحساسية العدد(%)
Pnicillin	(60)12	(40) 7
Vancomycin	(35)7	(65)13
Chloramphenicol	(50)10	(10) 10
Imipenem	(0)0	(100)20
Nitrofurantoin	(85)17	(15)3
Ciprofloxacin	(100)20	(0)0
Gentamycin	(70)14	(30) 6
Erythromycin	(100) 20	(0)0
Rifampin	(100) 20	(0)0
Tetracycline	(100)20	(0)0

المصادر

17- شيروزة ، بسام كريم خضير.(2011)الاستجابة المناعية للمصابين ببكتريا *Enterococcus faecalis* واختبار الكفاءة الاستضدادية لمتعدد السكريد المحفظي .رسالة ماجستير .كلية العلوم. جامعة الكوفة .

24- حنا حنو ، جورجيت نيسان شمعون (2002). دراسة تشخيصية ومرضية للمكورات المعوية المعزولة من المصابين باخماج القناة البولية وقدرتها على إحداث التهاب شغاف القلب التجريبي. أطروحة دكتوراه. كلية العلوم. جامعة الموصل .

26- قندلا،نهى جوزيف نجيب.(2006)انتاج وتنقية وتوصيف الانتروسين المنتج من بكتريا *Enterococcus faecalis*المعزولة محليا من مصادر سريرية مختلفة. اطروحة دكتوراه.كلية العلوم.جامعة المستنصرية.

27- الخفاجي، جواد كاظم طراد.(2005).دراسة بكتريولوجية ووراثية لبعض عزلات *Enterococcus faecalis* المعزولة من مصادر سريرية وبيئية في محافظة بابل.اطروحة دكتوراه.كلية العلوم جامعة المستنصرية .

32- حسن ،عباس ياسين ، فرحان ،عباس عبود و رؤف ،وعد محمود.(2013). دراسة حساسية عزلات *Enterococcus faecalis* المعزولة من حالات سريرية مختلفة . مجلة ديالى للعلوم الصرفة .9(3) :11-19.

33- العزاوي ، زينب حسين مهدي (2008). دراسة عوامل الفوعة والاستجابة للمضادات الجرثومية في المكورات المعوية المعزولة من المرضى . رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة ديالى .

1- Upadhyaya,P.G. ; Umapathy, B. L. and Ravikumar, K. L.(2010).Comparative Study for the Presence of Enterococcal Virulence Factors Gelatinase , Hemolysin and Biofilm Among Clinical and Commensal Isolates of *Enterococcus Faecalis.* J. Lab. Physi. ,**2**:100-104.

2-AL-Marjani,F.M.(2013). *vanA* in vancomycin-resistant *Enterococcus faecalis* isolated in Baghdad. Afri. Microbiol. Res., **7:**(2) 115-119.

3- Padilla,C.; Lobos,O. ; Brevis,P.; Abaca,P. and Hubert,E .(2004) In vitro antibacterial activity of the peptide PsVP-10 against antimicrobial-

resistant *Enterococcus faecalis* isolated from clinical samples. Journal of Antimicrob. Chemoth., 53: 390-392.

4- Malani, P.N., Kauffman, C.A.and Zervos, M.J.(2002). Enterococcal disease, epidemiology, and treatment. In: The Enterococci: Pathogenesis, Molecular Biology and Antibiotic Resistance Gilmore, M.S. (Ed.), ASM Press,Washington, DC, pp. 385-408.

5- Cetinkaya, Y.; Falk, P. and Mayhall, G. (2000). Vancomycin-resistant *Enterococci*. Clin. Microbiol. Rev., **13**(4):686-707.

6- Kayse, F.H. (2003). Safety aspects of *Enterococcus* from the medical point of view. Int. J. Food Microbiol., **88**: 255 - 263.

7- Portenier,I.; Waltimo,T.M. and Haapasalo,M.(2003). *Enterococcus faecalis* – the root canal survivor and 'star' in post-treatment disease. Endodontic Topics, **6**: 135-159.

8-Upadhyaya, P.G.; Ravikumar, K.L. and Umapathy, B.L.(2009). Review of virulence factors of Enterococcus: An emerging nosocomial pathogen. Indian J. Med. Microbiol., **27**:301-305.

9-Hijazi,N.M.(2007). Vancomycin-Resistant Enterococci in Fecal Samples from Hospitalized Patients and Non- Hospitalized Individuals in Gaza City.Thesis Master , Faculty of Science, Islamic University- Gaza.

10- Huycke, M.M., Sahm, D.F. and Gilmore, M.S. (1998). Multiple-Drug Resistant for the Future. Enterococci: The Nature of the Problem and an Agenda Emerging Infectious Diseases., **4**: 239-249.

11- Collee, J.C; Fraser, A. G.; Marmion, B.P. and Simmin, A.(1996). Mackie and Mc Cortney practical medical microbiology. Pearson professional, New York:PP. 385.

12- Hindler,J.(1998) Antimicrobial susceptibility testing .In:Essential procedures for clinical microbiology press. Washington.U.S.A.

13- Clinical and Laboratory Standards Institute . (2012) . Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, Twenty – Second informational supplement. **30** (1).

14- MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. 3rd ed. Williams and Wilkins. Baltimore. USA.

15- Holt, J.G., Kreig, N.R., Sneath, P.H.A., Staley, J.T. and Williams, S.T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed Williams and Wilkins, p. 528, 538-539.

16- Facklam, R.R. and Teixeira, L.M. (1997). Enterococcus. In: Collier, A. Balow, S. and Sussman, M., (Eds.), Microbiology and microbial infections. Topiey and Wilson, 9th ed., Edward Arnold, London, pp. 669-682.

18-Lee,G.(2013).Ciprofloxacin Resistance in *Enterococcus faecalis* Strains Isolated From Male Patients With Complicated Urinary Tract Infection .Korean J. Urol .,**54**:388-393.

19- Al-Yassery,K.A.H.(2011). Study of Antibiotic Susceptibility and Virulence Determinants among *Enterococcus faecalis* Isolated from Patients with Significant Bacteriuria in Najaf. Thesis Master .*College of Medicine*. Kufa University.

20-Zou,L.;Wang,H;Zeng,B.;Li,J.;Li,X.;Zhang,A.;Zhou,Y.;Yang,X.;Xu,C. and Xia,Q. (2011).Erythromycin resistance and virulence genes in *Enterococcus faecalis* from swine in China. New Microbiologica., **34**: 73-80.

21- Chopra, L. and Robert ,M. (2001) .Tetracycline antibiotic: Mode of action , applications ,molecular biology , and epidemiology of bacterial resistance . Microbiol. Mol. Biol. Rev., **65**:232-260.

22- Seo,Y. and Lee,G.(2013). Antimicrobial Resistance Pattern in *Enterococcus faecalis* Strains Isolated From Expressed Prostatic Secretions of Patients With Chronic Bacterial Prostatitis. Korean Journal of Urology, **54**:477-481.

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

25- Brooks, G. F. ; Butel, J. S. and Morse, S. A. (2004). Jawetz, Melnick and Adelberg Medical Microbiology. 23rd ed. McGraw – Hill Companies, New York .

28- Dupre, I., Zanetti, S.; Schito, A. M.; Fadda, G. and Sechi, L. A. (2003). Incidence of virulence determinants in clinical Enterococcus faecium and *Enterococcus faecalis* isolates collected in Sardinia (Italy). J Med Microbiol., **52**:491-498.

29-Shafiyabi,S. ;Mariraj,J. ;Sumathi,S. and Krishna,S.(2013).Emergence of vancomycin resistant enterococci in a tertiary care hospital in South India. Int. J. Pharm Biomed Res., **4**(2): 111-113.

30- Mathur, P. ; Kapil, A. ; Chandra,R. ; Sharma, P. and Das, B. (2003). Antimicrobial resistance in *Enterococcus faecalis* at a tertiary care centre of northern India. Indian. J. med. Res., **118** : 25-28.

31- Piekarska. K.; Gierczynski,R.; Lawrynowicz-Paciorek,M. Kochman,M. andJagielski,M.(2008). Novel gyrase mutations and characterization of ciprofoxacin-resistant clinical strains of Enterococcus faecalis isolated in Poland. Pol. J. Microbiol., **57**(2): 121-124.

34-Hollenbeck,B.L and Rice,L.B.(2012) Intrinsic and acquired resistance mechanisms in *Enterococcus*. Virulence **3**(5): 421-433.

*Study of antibiotics resistance for *Enterococcus faecalis* isolated from different clinical casea in Al- Diwaniyah city

Receved : 7\10\2013 **Accepted :16\12\2013**

Al-musawi, A. N.H. **Al-garawi,H.S.M.***
Collage of Pharm. **Dept. Biol./ College of Edu.**
Al-Qadisiya Univ.
az.almousawi@yahoo.com

Abstract

Twenty tow hundred samples were collected from different clinical cases of Diwaniyah Educational Hospital and Maternity and Children Hospital in the city of Diwaniya , for the period from 20/11/2012 until 12/04/2013 . This study showed there were 20 isolates of *Enterococcus faecalis* .This isolates distribted :10 isolates from infections urinary tracts and 10 isolates from cases of diarrhea while not isolated from infections of wounds and burns. Adopted qualities cultures and microscopic bacteria studied, and tests biochemical , as diagnostic center Chrom agar and then the final diagnosis by a Vitek 2. conducted screening sensitivity to isolates studied direction (11), Susciptibity test was shown that isolates were resistant absolute direction antibiotics Erythromycin and Tetracycline and Rifampin and Ciprofloxacin and 100% , while showed these bacteria sensitivity of the absolute direction of anti Imipenem and by 100 % , and varied the direction of anti - resistance Chloramphenicol , Nitrofurantoin and Penicillin Gentamycin and Vancomycin , with 50 % , 85% , 60 % , 70 % and 35 %, respectively. As the proportion of the total resistant to *E.faecalis* isolates the total antibiotic used in the study are higher than the sensitivity in terms of resistance to more than 70% of these antibiotics.

Keyword:Bacteria,enzymes,antibioties,

Microbiology classification : QR171

<u>*The Research is apart of on M.Sc. thesis in the case of the Second researcher</u>