

تأثير مزجات المضادات الحيوية على بكتريا *Proteus mirabilis* المتعددة المقاومة لها

تاريخ القبول: 2012/12/16

تاريخ الاستلام: 2012/10/21

محمد عودة حمد

قسم البيئة , كلية العلوم , جامعة الكوفة

Mohammedhamad23@gmail.com

الخلاصة

جمعت 321 عينة ادرار اخذت من مرضى مصابين بالتهابات المجاري البولية. عزلت وشخصت 39 عزلة من بكتريا (*Proteus mirabilis*) وبنسبة (12.14%) اعتمادا على خصائصها المظهرية (الزرعية والمجهريية) والاختبارات الكيموحيوية. اوضحت الدراسة ان نسبة عزل *Proteus mirabilis* من النساء كانت 8.41% وهي اعلى مما في الاطفال والرجال اذ بلغت 2.8% و 0.93% على التوالي. اختبرت حساسية العزلات لـ 24 مضادا حيويا , اذ ابدت مقاومة عالية. وجد ان الأمينيوم , الميروبينيوم , الاميكاسين والسايبروفلوكساسين هي المضادات الأكثر فعالية. كان لمزج المضادات الحيوية تأثير تآزري فعال تجاه عزلات المتقلبات ذات المقاومة المتعددة , وخصوصا بين مضادات الأمينوكلايكوسايد (الأميكاسين والجنتاميسين) والكونولونات (السايبروفلوكساسين والنورفلوكساسين) ومضادات السيفالوسبورينات (السيفوتاكسيم والسيفتريكسون) ومضادات الأمينوكلايكوسايد (الأميكاسين والجنتاميسين) من جهة والكونولونات (السايبروفلوكساسين والنورفلوكساسين) من جهة اخرى.

الكلمات المفتاحية : البكتريا , التهابات المجاري البولية , مزج المضادات الحيوية.

Microbiology classification : QR75995

المقدمة

الأصابة بها, من عوامل ضراوتها انتاجها للسموم والمركبات الساحبة للحديد (Siderophore) والانزيمات (البروتياز , اللايباز , اليوريز , اللاستيز, الهيمولايسين, البيتا لاكتاميز , الهابلورنيديز والنورامينيديز) المهمة في اجتياح البكتريا لانسجة المضيف , وقابليتها على تكوين الاغشية الحيوية الرقيقة, اذ تلعب حركتها النشطة المتمثلة بظاهرة العج Swarming دور في ذلك مما يساعدها في تجنب تأثير المضاد الحيوي مقارنة بالخلايا الحرة الغير مكونة له والتي تكون بتماس مع المضاد الحيوي (13). ان التوسع في الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية أدى الى ظهور بعض السلالات الطافرة التابعة لهذه البكتريا والمقاومة لاغلب المضادات الحيوية (3), لذا فان فعالية العديد من المضادات الحيوية المستخدمة لعلاج الأخمج البكتيرية اصبحت محددة تماما بسبب تطور

بكتريا المتقلبات (*Proteus*) من المسببات الرئيسية والشائعة لألتهابات المجاري البولية وخصوصا لدى الاشخاص المستخدمين القشاطر البولية , وتعتبر التهابات المجاري البولية من الامراض الشائعة والمكتسبة - Common acquired community وخصوصا عند الاناث وبصورة تكرارية وتأتي بالمرتبة الثالثة بعد التهابات المسالك التنفسية والاسهال. لهذه البكتريا قدرة عالية على تحليل اليوريا ولذا فهو مهم لتمييزها عن باقي افراد العائلة المعوية. يضم الجنس اعلاه خمسة انواع رئيسية بكتريا *P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. myxofaciens*, *P. penneri* (20), تمتلك هذه البكتريا آليات عديدة لمقاومة المضادات بميويمه لذلك فهي من اكثر الممرضات ضرراً للمضيف عند حصول

يؤدي الى زيادة فعاليتها وذلك من خلال تأزرها. ولهذه البكتريا القدرة على الغزو والاستيطان لما تمتلكه من عوامل ضراوة وقابلية على إصابة أنسجة الجسم بالضرر ومن ثم الانتشار في مجرى الدم مسببة تجرثم الدم (7) لذا ومن خلال ما ذكر سلفاً فقد هدفت الدراسة الحالية الى معرفة مدى تأثير مزجات المضادات الحيوية على حيوية عزلات المتقلبات ذات المقاومة المتعددة المعزولة من الادرار لمرضى التهابات المجاري البولية .

شركة Bioanalyse - Turkey اعتماداً على ما ذكر في (8) .

4. تأثير مزج بعض المضادات الحيوية على *P. mirabilis*

Effect of some antibiotics combinations on *P. mirabilis*

اعتمدت تقنية Half-chess board المشار اليها من قبل 18 واخرون, وقد استخدمت التراكيز الملائمة للمضادات الحيوية فكانت 10 مايكروغرام/ملى للامبيسلين, سيفالكسين, سيفترياكسون, سيفوتاكسيم, نتر اسايكلين والترايمثريم وكانت 5 مايكروغرام/ملى للسايبيروفلوكساسين, نورفلوكساسين, اميكاسين, جنتاميسين والريفامبيسين .

النتائج والمناقشة

Results & Discussion

تم عزل 39 عزلة بكتيرية للـ *P. mirabilis* من مرضى التهابات المجاري البولية (UTIs) توزعت اعدادها ونسبها كما موضح في جدول 1. شخصت العزلات من خلال صفاتها المظهرية (الزرعية والمجهرية) والاختبارات الكيموحيوية جدول 2.

المقاومة البكتيرية (4), اذ اشار (4) واخرون (18) الى أن تطور المقاومة البكتيرية من قبل المتقلبات للمضاد الحيوي المعطى بشكل منفرد (Monotherapy) أصبحت مشكلة شائعة وخاصة في الحالات المزمنة, لذا فلا بد من اعطاء العلاج بشكل مزيج (Combination), اذ اشارت دراسة (10) الى ان تقليل خطورة مقاومة المتقلبات يتم باستخدام مضادات فعالة كمجموعة الكاربينيم وبمزج بعض المضادات الحيوية مع بعضها مما

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

1. جمع العينات

Collection of samples

جمعت 321 عينة تضمنت عينات ادرار وسطي لمرضى التهابات المجاري البولية لكلا الجنسين ومن مختلف الأعمار, ثم نقلت العينات الى المختبر لأجراء التحليل اللاحقة .

2. عزلات البكتريا

Bacterial isolates

تم عزل بكتريا *P. mirabilis* المسببة لالتهابات المجاري البولية بعد زرع العينات على وسط اساس اكار الدم (Oxoid) Blood agar base و اكار الماكونكي (MacConkey agar (Himedia) بتقنية التخطيط. شخصت اعتماداً على الصفات المظهرية (الزرعية والمجهرية) والاختبارات الكيموحيوية (22).

3. اختبار الحساسية الدوائية

Antibiotic susceptibility test

اختبرت حساسية العزلات تجاه 24 من المضادات الحيوية والمجهزة بشكل اقراص جاهزة من انتاج

الجدول 1. اعداد والنسب المئوية لبكتريا *P.mirabilis* المعزولة من عينات الدراسة وللجنس العمرية قيد الدراسة.

| الفئة العمرية (سنة) | عدد العينات | نسبة العزل الكلية (%) | نسبة العزل المئوية للعزلات (%) |
|-----------------------------|-------------|-----------------------|--------------------------------|
| الأطفال (شهر - 13) سنة | 76 | 9 | 2.8 |
| النساء البالغات (15-55) سنة | 211 | 27 | 8.41 |
| الرجال البالغين (20-60) سنة | 34 | 3 | 0.93 |
| المجموع الكلي | 321 | 39 | 12.14 |

وبدأ المراقبة عند الاناث مقارنة بالذكور، قصر الاحليل عند النساء فضلا عن الدفيء والرطوبة المتوفرة والتي تعد من العوامل المهمة في تكاثر الجراثيم، كما ان نسبة التهابات المجاري البولية تزداد لدى النساء الحوامل بسبب التغيرات الهرمونية التي تحدث في تلك الفترة، حيث يقل افراز هرمون الايستروجين ويزداد افراز هرمون البروجيسترون المثبت للحمل، بالإضافة الى كون المتقلبات تعد من البكتريا المتواجدة بشكل طبيعي في القناة المعوية والتي عند انتقالها الى منطقة الاحليل والمهبل تؤدي الى حدوث التهابات المجاري البولية، حيث تعد من الممرضات الانتهازية Opportunistic pathogens للجهاز البولي.

بينت النتائج ان نسبة العزل الكلية لبكتريا *P.mirabilis* كانت (12.14%)، بينما تمكن 21 واخرون من عزل *Proteus spp.* من الاضى التهابات المجاري البولية وبنسبة (38%)، اذ حصلوا على انواع مختلفة من هذه البكتريا، الالتهابات وهذا مازاد النسبة المئوية كانت نسبة العزل في الدراسة الحالية من النساء وباعمار تتراوح ما بين (15-55) سنة كانت (8.41%) وهي اعلى مما في الاطفال والرجال اذ بلغت (2.8%) و(0.93%) على التوالي جدول 1، وهذه النتيجة تتفق مع كثير من الدراسات ومنها (9,25 and 11) اذ ان حدوث التهابات المجاري البولية لدى النساء اكثر من نسبة حدوثها في الرجال والاطفال، ويعزى السبب في ذلك الى الوقت المبكر لمرحلة النضج الجنسي

جدول 2. الاختبارات المظهرية (المجهريّة والزرعية) والكيموحيوية لعزلات *P.mirabilis* قيد الدراسة.

| العزلة | نوع الفحص |
|---------------------|-------------------------------|
| <i>P. mirabilis</i> | صبغة كرام |
| G-ve | انتاج اليوريز |
| + | انتاج غاز كبريتيد الهيدروجين |
| + | انتاج إنزيم الكتاليز |
| + | انتاج إنزيم الأوكسيدز |
| - | انتاج إنزيم اللايبيز |
| + | انتاج Orinithin decarboxelase |
| + | تحلل الجيلاتين |
| + | اختبار النشا |
| - | اختبار الحركة |
| + | اختبار الاندول |
| - | اختبار احمر المثل |
| + | اختبار فوكس بروسكار |
| -/+ | اختبار استهلاك السترات |
| -/+ | اختبار اختزال النترات |
| -/+ | استهلاك سكر المالتوز |
| - | استهلاك سكر المانيتول |
| + | استهلاك الكالكتوز |
| + | استهلاك اللاكتوز |
| - | |

الرموز : + : وجود الصفة (موجبة) , - : عدم وجود الصفة (سالبة)

كما تبين ان (45%) من الاناث الصغيرات المصابات بالتهابات المجاري البولية لديهن تشوهات تركيبية في الجهاز البولي، ان ختان الاطفال الذكور مبكرا يقبهم من الالتهاب، حيث ان نسبة الاصابة تتخفض بمعدل (3%)، ان نسبة عزل هذه البكتريا من حالات التهاب المجاري البولية في الرجال كانت (0.93%) وهي اقل نسبة عزل سجلت في الدراسة الحالية وهذا يعود الى فسلجة وتشريح الجهاز البولي للرجال ، فضلا عن وجود متعدد الامينات القاعدية مثل السبرمدين والسبرمين كوسيلة دفاعية والتي يكون لها فعالية وكفاءة عالية قاتلة للجراثيم (12). من هذا نستنتج ان نسبة عزل جرثومة *P.mirabilis* من حالات التهاب المجاري البولية تختلف باختلاف الفئات

اما نسبة عزلها في الاطفال وابعار ما بين (شهر – 13) سنة من حالات التهاب المجاري البولية كانت (2.8%) وهذا يعود الى كون الاطفال في الـ الاولى الى حد ثلاث سنوات تكون مناعتهم ضعيفة ويكونون عرمة للاصابة بامراض والتهابات مخلفة ومنها التهابات المجاري التنفسية والبولية والاسهال فضلا عن كون بعضا من الاطفال لديهم تشوهات خلقية ترتطيفية في اجهزتهم البولية وخاصة منطقة اتصالثة بالحالب وهذا يؤدي الى زيادة نسب حدوث الالتهاب وهذما اشار اليه الباحثان (16) (25) و (15)، حيث تبين ان بعض الاطفال الذكور المصابين بالتهابات المجاري البولية لهم تشوهات تركيبية في الجهاز البولي وخاصة منطقة اتصال المثانة بالحالب ،

الذكور الطفرات التي تحصل في المادة الوراثية وهذا موافق لما أكد عليه (19). أظهرت النتائج أن أعلى نسبة مقاومة ابتدئتها المتقلبات كانت لبعض مضادات البيتا لاكتام , إذ بلغت 100% لمضادات الكاربينيسيلين والأمبيسيلين 87.2% و 82.0% و 35.9% لمضادات الاموكسيسيلين , التايكارسيلين والبايراسيلين على التوالي وقد يعود السبب الرئيسي لمقاومة مضادات البيتا لاكتام الى انتاج انزيمات البيتا لاكتاميز , فضلا عن الليات مقاومتها الأخرى مثل ضيق القنوات المار عبرها المضاد الحيوي , إذ تمتلك بعض البكتريا العديد من القنوات الضيقة جدا و مغلقة احيانا مما يجعلها أكثر مقاومة من غيرها من البكتريا , بالإضافة الى خاصية النفاذية المهمة المتميز بها الغشاء البلازمي للبكتريا وكمية اللبد الموجود , إذ يكون أكثر مما موجود في البكتريا الحساسة , فضلا عن المواد المخاطية المفرزة من قبل البكتريا مثل الالجنين التي لها دور في حماية البكتريا من المؤثرات الخارجية وهذا ما أشار اليه (27) في دراسته لليات مقاومة المضادات الحيوية من قبل البكتريا. أظهرت النتائج أن العزلتين 15 و 26 كانت حساسة للعديد من المضادات الحيوية وقد يرجع ذلك الى كونها حديثة بالنسبة لبيئة المستشفى او لم تتعرض للمضادات الحيوية بشكل مستمر. من نتائج الدراسة الحالية ان استخدام مضادات الميروبينيم, الامينيم والاميكاسين والسايبروفلوكساسين كانت فعالة ضد عزلات المتقلبات المتصفة بمقاومتها المتعددة للمضادات الحيوية وهذا ما أكده (26) وآخرون . وقد أشار (26) وآخرون الى قابلية البكتريا السالبة لصبغة كرام لمقاومة هذه المضادات نتيجة امتلاكها للعديد من الليات المقاومة ومنها انتاجها لانزيمات

العمرية وتكون أكثر شيوعا في الإناث منه في أظهرت أغلب العزلات تعدد المقاومة للمضادات الحيوية Multidrug resistance وكانت وى عالى من المقاومة لمعظم مضادات البنسلينات, ان وجود المضادات الحيوية في بيئة البكتريا بعد ضغطا انتخايبا بالبكتريا فقد تزيد من مقاومتها لهذه المضادات بسبب التعرض المستمر لها فضلا عن حدوث بعض الطفرات الوراثية كما ان مقاومة مضادات البيتا لاكتام وينسب , يعود الى قابلية العزلات على انتاج البيتا المهم في تحطيم حلقة β -Lactam لجزيئة البنسلين ومشتقاته مما ي الى تثبيت فعلى المضاد الحيوي وهذا ما جاءت به واكدته. من الدراسات كون الامن الانواع البكتيرية ممتلكة لهذه الانزيمات (4), كما ان تعاطي المضادات الحيوية بصورة عشوائية نوعا وكما من قبل الممرضى المرضى مضادات غير مناسبة وبدون الرجوع الى التشخيص المختبري , او حصه الأخطاء في التشخيص المختبري واختبار الحساسية يودي الى بقاء البكتريا حية باستمرار وظهور سلالات مقاومة جديدة (23).

بينت نتائج اختبار الحساسية والمبيئة في جدول 3 تطابق نمط مقاومة العزلات 2 و 3 لـ *P. mirabilis*. للمضادات الحيوية المختبرة مما يدل على انها قد تكون عائدة لنفس العزلة البكتيرية واستوطنت في بيئة المستشفى , كانت هناك عزلات مقاومة لأغلب المضادات الحيوية ويعزى انتشارها في بيئة المستشفى الى التعرض المستمر للمضادات الحيوية فضلا عن تكيف البكتريا للبيئة المتميزة بالتواجد المستمر للمضادات الحيوية, وقد يكون الأستخدام العشوائي لتلك المضادات وبدون الرجوع للمختصين في هذا المجال , مشجعا على حدوث

البيتا لاكتاميز . بينت النتائج الحالية ان مقاومة

| مير وبنيم | امينيم | كثاميسين | ريفاميسين | نور فلو كساسين | ترايمثريم | سيفيديم | لمفلو كساسين | تاكار سيلين | اموكسيسيلين | ازترو نام | كلورامفينيكول | ارثرو ميسين | جنتاميسين | بايير اسيلين | نالديكسيك اسد | سفتاز ديم | سيفتر يكسون | سايبير وفلو كساسين | تترا سايكلين | امبيسيلين | اميكاسين | السيفو تاكسيم | الكار نيسيلين | العزلة |
|-----------|--------|----------|-----------|----------------|-----------|---------|--------------|-------------|-------------|-----------|---------------|-------------|-----------|--------------|---------------|-----------|-------------|--------------------|--------------|-----------|----------|---------------|---------------|--------|
| S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | S | S | R | 1 |
| S | S | R | R | R | R | I | R | R | S | R | R | R | R | R | R | S | I | R | R | R | S | R | R | 2 |
| S | S | R | R | R | R | I | R | R | S | R | R | R | R | R | R | S | I | R | R | S | R | R | 3 | |
| S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | S | R | R | R | R | S | R | S | R | R | 4 |
| S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | I | S | R | R | R | R | R | R | 5 |
| S | S | S | S | R | S | S | S | S | R | S | R | R | R | S | R | R | R | S | S | R | S | S | R | 6 |
| I | S | R | S | R | R | R | R | R | I | R | R | R | S | S | R | R | R | S | R | R | R | R | R | 7 |
| S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | I | S | R | 8 |
| S | S | R | S | S | R | I | R | R | R | R | R | R | S | I | R | R | S | R | R | S | I | R | R | 9 |
| S | S | R | S | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | R | R | I | S | R | R | S | R | R | R | 10 |
| S | S | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | R | R | S | R | R | S | S | R | R | I | S | R | 11 |
| S | S | R | R | S | S | R | R | R | I | R | R | R | S | S | R | R | R | S | R | R | S | R | R | 12 |
| S | S | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | I | S | R | S | I | R | 13 | |
| S | S | S | R | R | S | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | S | R | R | S | R | R | 14 |
| S | S | S | S | S | S | S | S | S | R | R | R | R | S | S | R | R | S | R | R | S | S | R | 15 | |
| S | S | S | R | R | R | R | R | R | S | R | S | R | R | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | 16 |
| S | S | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | S | R | R | S | R | R | 17 |
| S | S | S | R | R | R | S | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | 18 |
| S | S | R | S | R | R | S | S | S | R | R | R | R | S | R | I | R | R | R | R | R | S | S | R | 19 |
| S | S | R | R | S | S | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | S | S | R | R | S | R | R | 20 |
| S | S | R | S | S | R | S | R | R | R | R | R | R | I | S | R | R | R | R | R | S | R | R | R | 21 |
| S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | S | R | R | S | R | R | 22 |
| S | S | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | R | S | S | I | R | R | R | R | R | R | I | R | 23 |
| S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | R | S | R | R | S | R | R | 24 |
| S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | I | R | I | S | R | R | S | R | R | 25 |
| S | S | S | S | R | S | S | S | S | R | S | R | R | S | R | R | I | S | R | R | S | S | R | 26 | |
| S | S | R | S | S | R | R | S | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | R | S | R | R | 27 |
| S | S | R | R | R | R | S | R | S | R | R | R | R | R | S | I | R | R | R | R | R | S | R | R | 28 |
| S | S | R | S | S | S | R | R | R | R | S | R | R | S | R | R | I | S | S | R | R | R | S | R | 29 |
| S | R | R | R | R | R | R | R | R | I | S | R | R | S | R | I | I | I | R | R | R | R | R | R | 30 |
| S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | R | R | R | S | R | R | S | R | R | 31 |
| S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | I | R | S | R | S | R | R | R | R | S | R | 32 |
| S | S | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | R | S | R | R | S | R | R | S | R | R | 33 |
| S | S | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | S | S | R | R | R | R | R | R | S | S | R | 34 |
| S | S | R | R | R | R | I | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | S | R | R | R | S | R | 35 |
| S | S | R | R | S | R | R | R | R | R | S | I | R | S | S | R | S | R | S | R | R | S | S | R | 36 |
| S | S | R | S | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | R | S | R | R | 37 |
| S | S | R | S | S | S | R | R | R | R | R | R | R | S | R | R | R | R | S | R | R | S | S | R | 38 |
| S | S | S | R | S | R | R | S | R | R | R | R | R | S | S | R | R | R | S | R | R | S | R | R | 39 |

جدول 3. مقاومة بكتريا *P.mirabilis* المعزولة من العزلات للسايبيروفلو كساسين كانت 25.6% اذ

التهابات المجاري البولية للمضادات الحيوية. يعتبر من المضادات الحيوية الشائعة والمفضلة في

معالجة التهابات اعصاب ابي اسرغيلة تسببها

البكتريا ومنها المتقلبات وهذا ما اشار اليه (6).

الرموز: + مقاومة، - حساسة، I متوسطة

المقاومة

| رمز الحيوي | رمزه | ي | رمزه | الغزلان الحساسة | حساسية | الغزلان متوسطة | متوسطة | الغزلان المقاومة R |
|----------------|------|---|------|-----------------|----------------------|----------------|-----------|--------------------|
| | | | | العدد S (%) | الساسية MS العدد (%) | العدد (%) | العدد (%) | العدد (%) |
| كاربنسيلين | PY | | | (0.0)0 | (0.0)0 | | | (100)39 |
| اميكاسين | AN | | | (74.4)29 | (5.1)2 | | | (20.5)8 |
| اميسيلين | AM | | | (0.0)0 | (0.0)0 | | | (100)39 |
| سيفتيم | CFE | | | (20.6)8 | (12.8)5 | | | (66.7)26 |
| تراميثريم | TP | | | (17.9)7 | (0.0)0 | | | (82.1)32 |
| سيفوتاكسيم | CTX | | | (30.8)12 | (7.7)3 | | | (61.5)24 |
| جنتاميسين | GM | | | (56.5)22 | (5.1)2 | | | (38.4)15 |
| ارثرومايسين | E | | | (0.0)0 | (0.0)0 | | | (100)39 |
| سايروفلوكساسين | CIP | | | (71.9)28 | (2.5)1 | | | (25.6)10 |
| سيفتريكون | SXT | | | (20.6)8 | (15.3)6 | | | (64.1)25 |
| نورفلوكساسين | NOR | | | (23.0)9 | (0.0)0 | | | (77.0)30 |
| ريفاميسين | RIF | | | (30.8)12 | (0.0)0 | | | (69.2)27 |
| كناميسين | K | | | (17.9)7 | (0.0)0 | | | (82.1)32 |
| امينيم | IPM | | | (94.9)37 | (0.0)0 | | | (5.1) 2 |
| ميرولينيم | MEM | | | (97.5)38 | (2.5)I | | | (0.0) 0 |
| تتراسايكلين | TE | | | (0.0)0 | (0.0)0 | | | (100)39 |
| كلورامفينيكول | CM | | | (5.1)2 | (5.1)2 | | | (89.8)35 |
| ازترونام | ATM | | | (17.9)7 | (0.0)0 | | | (82.1)32 |
| نالديكسيد اسد | NA | | | (12.8)5 | (15.3)6 | | | (71.9)28 |
| بايراسيلين | PRL | | | (64.1)25 | (0.0)0 | | | (35.9)14 |
| اموكسيسيلين | AMX | | | (5.1)2 | (7.7)3 | | | (87.2)34 |
| تاكارسيلين | TIC | | | (20.6)8 | (0.0)0 | | | (79.4)31 |
| لومفلوكساسين | LOM | | | (17.9)7 | (0.0)0 | | | (82.1)32 |
| سفتازديم | CAZ | | | (5.1)2 | (7.7)3 | | | (87.2)34 |

جدول 4. النسب المئوية للعزلات المقاومة ومتوسطة

الحساسية والحساسية للعزلات قيد الدراسة والتابعة

للتنوع *P.mirabilis*.

تركيز من المضاد الحيوي المثبط للنمو البكتيري (جدول5).وقد لوحظ ارتفاع في التراكيز المثبطة الدنيا لاغلب عزلات *P. mirabilis* المعزولة من التهابات المجاري البولية , قد يعود السبب في ذلك الى الاستخدام المتزايد لهذه المضادات بوصفها علاج للمرضى الذين يعانون من التهابات المجاري البولية. اذ كانت التراكيز التي عرضت لها البكتريا غير مؤثرة فهي اناحة للعزلات المقاومة الفرصة في النمو في حين كانت بعض عزلات المتقلبات حساسة لنفس التراكيز, كونها حديثة في امراضيتها وعدم تعرضها مسبقا للمضادات الحيوية او بسبب الطفرات المؤثرة سلبا على البكتريا مما يعطي المضاد الحيوي كفاءة في ابادته البكتريا .

وقد ميزت هذه الدراسة ان مضادات الميروبيينيم والامبينم التابعة لمجموعة الكاربينيم هي الأكثر فعالية ضد المتقلبات , اذ جاءت مؤكدة لما اشار اليه 28 واخرون في اهميتها العلاجية للأصابات البكتيرية وخصوصا المقاومة منها للمضادات الحيوية.في حين كانت اغلب العزلات مقاومة للسفتازديم , الترامثريم , السيفوتاكسيم والجنتاميسين وبنسبة 87.2% , 82% , 61.5% على التوالي, اتبعت طريقة تقدير عكورة النمو البكتيري في الوسط السائل من خلال العين المجردة في تحديد وجود او عدم وجود النمو البكتيري , فضلا من اعادة الزرع (Sub culture) للتخفيف المشكوك فيها وبالأخص ما قبل وبعد التخفيف الخالي من النمو البكتيري, اذ عين اقل

جدول 5 . مديات التراكيز المثبطة الدنيا للمضادات الحيوية لبكتريا *P.mirabilis* .

| المضاد الحيوي | (%) لمقاومة <i>P.mirabilis</i> | <i>P.mirabilis</i> (µg/ml) MICs |
|------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| ترايمثريم | 89.8 | 16 ->128 |
| سايبيروفلوكساسين | 25.6 | 0.5 -64 |
| ريفاميسين | 69.2 | 2 -128 |
| تتراسايكلين | 100 | 32->128 |
| سيفتريكسون | 64.1 | 0.5 -64 |
| السيفيبيم | 66.7 | 4 ->128 |
| ميروبيينيم | 0.0 | 0.5 -16 |
| اميكاسين | 20.5 | 1-64 |
| أمبسيلين | 100 | 16 ->128 |

مزيجات المضادات
الحيوية

Antibiotic Combinations

أكثر فعالية مقارنة بالمضاد الحيوي مفردا. وينتج عن عملية المزج إحدى الحالات الأتية (تآزر Addition) والمزج غير المؤثر (Indifference) والتضاد Antagonism, والتجمعي Synergism, ويعتد المزج الذي يعطي حالة التآزر والأضافة هو الأكفأ عادة من الناحية العلاجية لبعض الاصابات البكتيرية. من خلال مزج المضادات الحيوية في الدراسة الحالية ضد عزلتين للبكتريا قيد الدراسة المعزولة من الادرار لمرضى يعانون من التهابات المجاري البولية كما مبين في (الجدول 6 و7) تم ملاحظة التأثير التآزري بين مضادات الأمينوكلايكوسايد (الأميكاسين والجنتاميسين) ومجموعة مضادات البيتا لكتام (الأميسلين, السيفوتاكسيم والسيفترياكسون) من جهة ومضادات السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين من جهة أخرى. يعزى التأثير التآزري لمزيج المضادات الحيوية الى تقوية كل من المضادين لفعل المضاد الأخر ضمن المزيج, كما في مضادات البيتا لكتام التي تساعد على امتصاص مضادات الأمينوكلايكوسايد نتيجة زيادة النفاذية, وتفاعلا بعض المضادات الحيوية مثل الأمينوكلايكوسايد مع منطقة Lipopolysaccharide من جهة تواجد الايونات حيث يتم ابدالها بجزيئات المضادات الحيوية اذ يؤدي ذلك ايضا الى زيادة النفاذية, كون الأولى ترتبط بمستقبلات خاصة ضمن الجدار الخلوي Pencillin binding proteins مما يؤدي الى تثبيط تصنيع طبقة البيبتيدوكلايكان السكري الوقائية والمهمة في الجدار الخلوي البكتيري.

الهدف من هذه الدراسة هو ايجاد العلاج الأكفأ لبكتريا *P. mirabilis* المقاومة والمسببة لالتهابات المجاري البولية, تقليل فرصة مقاومة البكتريا نتيجة الطفرة الحاصلة بسبب علاج المفرد (Monotherapy) بمضاد حيوي واحد واعطاء فكرة او صورة واضحة عن المضاد الحيوي المفرد المستخدم كعلاج ضد صابات البكتريا مقارنة بمزجه بمضادات اخرى بالأضافة الى كون المزيج قد يؤدي الى تقليل الأضرار الجانبية (Side effects) للمضادات الحيوية, وخصوصا مجموعة الأمينوكلايكوسايد التي لها تأثيرات جانبية واضحة على انسجة الجسم, فضلا عن تقليل الكلفة الاقتصادية للعلاج باستخدام خلانط تحتوي مضادات حيوية رخيصة الثمن مقارنة بالعلاج باهض الثمن (1). اشار (10) وآخرون الى التأثير العلاجي الإيجابي والواضح لأصابات البكتريا المتعددة المقاومة للمضادات الحيوية كالـ *P. aeruginosa*, *Acintobacter spp.* و *Proteus* الطافرة من خلال مزج *Levofloxacin* و *Ciprofloxacin* مع مضادات *Cefepime*, *Ceftazidim*, *Pipracillin*, *Imipeneme* و *Amikacin*. ان مزج المضادات الحيوية له فعالية اقوى وهذا ماتم ملاحظته من خلال مزج الأميكاسين, السفتازديم والأزترونام المستخدمة في علاج الاخماج البكتيرية المزمنة (24). كما اكد (5) وآخرون بأن مزج المضادات الحيوية ربما يكون في اغلب الأحيان

جدول 6. تأثير مزج المضادات الحيوية على العزلة البكتيرية *P.mirabilis* 1.

| المضاد الحيوي | أميسيلين | نتراسايكلين | سايبروفلوكساسين | نورفلوكساسين | سيفالكسين | سيفوتاكسيم | سيفتريكسون | ترايميثريم | جنتاميسين | أميكاسين | ريفاميسين |
|-----------------|----------|-------------|-----------------|--------------|-----------|------------|------------|------------|-----------|----------|-----------|
| أميسيلين | -+ | -+ | - | + | -+ | + | - | (+) | - | - | (+) |
| نتراسايكلين | -+ | - | - | + | (+) | - | - | -+ | + | + | - |
| سايبروفلوكساسين | - | -+ | -+ | - | + | - | + | (+) | + | - | + |
| نورفلوكساسين | - | - | - | -+ | - | - | + | (+) | - | - | + |
| سيفالكسين | - | - | - | - | -+ | - | + | (+) | + | - | - |
| سيفوتاكسيم | - | - | - | - | - | - | + | (+) | - | (+) | + |
| سيفتريكسون | - | - | - | - | - | - | + | -+ | + | - | + |
| ترايميثريم | - | - | - | - | - | - | + | -+ | + | (+) | (+) |
| جنتاميسين | - | - | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| أميكاسين | - | - | - | - | - | - | + | - | + | + | + |
| ريفاميسين | - | - | - | - | - | - | + | - | + | - | -+ |

جدول 7. تأثير مزج المضادات الحيوية على العزلة البكتيرية *P.mirabilis* 10.

| المضاد الحيوي | أميسيلين | نتراسايكلين | سايبروفلوكساسين | نورفلوكساسين | سيفالكسين | سيفوتاكسيم | سيفتريكسون | ترايميثريم | جنتاميسين | أميكاسين | ريفاميسين |
|-----------------|----------|-------------|-----------------|--------------|-----------|------------|------------|------------|-----------|----------|-----------|
| أميسيلين | -+ | -+ | - | - | (+) | + | + | + | - | - | + |
| نتراسايكلين | -+ | - | - | - | + | - | - | -+ | + | + | - |
| سايبروفلوكساسين | - | - | - | + | + | (+) | - | -+ | + | -+ | (+) |
| نورفلوكساسين | - | - | - | - | - | - | + | + | + | - | - |
| سيفالكسين | - | - | - | - | - | + | + | (+) | - | - | (+) |
| سيفوتاكسيم | - | - | - | - | - | - | + | -+ | + | - | + |
| سيفتريكسون | - | - | - | - | - | - | + | -+ | - | - | + |
| ترايميثريم | - | - | - | - | - | - | + | -+ | - | - | + |
| جنتاميسين | - | - | - | - | - | - | + | - | + | - | - |
| أميكاسين | - | - | - | - | - | - | + | - | + | + | + |
| ريفاميسين | - | - | - | - | - | - | + | - | + | - | + |

الرموز: -+: نمو مثبط , + : نمو مقتول جزئيا , - : لا وجود للنمو , (+): نمو مقتول بشكل غير كامل.

كون مزيج المضادات الحيوية يحميها من خطورة المقاومة المفاجئة التي تبديها البكتيريا.

ومن نتائج هذه الدراسة انها فندت الاراء السابقة التي اشارت اليها دراسات بعض الباحثين وماهو متعارف وساند انه يوجد تضاد بين المضادات الحيوية المثبطة والقاتلة , اذ ان مزج التتراسيكلين او السيفالكسين مع السيفوتاكسيم او السيفترياكسون او الأميكاسين او الجنتاميسين كان تأثيره تآزرياً قاتلاً للمتقلبات , وكذلك الترايمثريم مع الريفامبيسين اذ ابدى التأثير نفسه. وقد تكون الطفرات الوراثية غير المؤثرة على نفاذية التتراسايكلين الى داخل الخلية البكتيرية لسبب ما قد يكون متعلقاً بتركيبه مما ادى الى تآزر عمله كونه مثبطاً لبناء البروتين مع عمل السيفوتاكسيم وهذا وقد ابدى مضاد الترايمثريم تأثيراً تآزرياً مع الأميكاسين وهذا ايضا يتفق مع في كون مزج المضادات الحيوية المثبطة والقاتلة يؤدي الى تأثير تآزري قاتل للخلية البكتيرية. ولوحظ ايضا فعالية تآزرية بين الريفامبيسين والمضادات الحيوية اميكاسين , جنتاميسين , سبروفلوكساسين ونورفلوكساسين, ان الريفامبيسين غير شائع الإستخدام كبقية المضادات الحيوية لأضراره الجانبية اذ يعطي اللون الأحمر او الدموي للادرار , فضلا عن الظهور الفجائي للمقاومة البكتيرية في حالة استخدامه مفردا. من فوائد مزجه مع بعض المضادات الحيوية يقلل فرص مقاومة البكتريا له الناتجة عن الطفرات النقطية (Point mutations) الحاصلة في الكروموسوم البكتيري وهذا ما يحصل تماما في البكتريا قيد الدراسة بالإضافة الى آلياتها الأخرى المقاومة للمضادات الحيوية, كذلك للريفامبيسين فعلاً تآزرياً مع مضادات البيتا لكتام والأمينوكلايكوسايد ضد بعض انواع المتقلبات (17).

وقد تنتقل مضادات الأمينوكلايكوسايد عبر القنوات المليئة بالماء التي تكونها البروتينات المسامية والمخصصة لنقل مضادات البيتا لكتام بألية تعرف بالأمتمصاص المحب للماء (Hydrophilic uptake pathway) اذ تخترق المضادات الحيوية الغشاء الخارجي متجهة الى مواقع عملها داخل الخلية البكتيرية وهذا يتفق مع ماذكره (2) اذ اشار الى كون مزيج مضادات الأمينوكلايكوسايد والبيتا لكتام تعد العلاج التقليدي للاصابات او الاخماج الشديدة المتسببة بواسطة البكتريا العنوية السالبة لصبغة كرام والمقاومة للعديد من المضادات الحيوية.

اشار (24) واخرون الى الدور العلاجي الفعال التي تتميز به مجموعة الأمينوكلايكوسايد سواء كانت مفردة او بمزيج مع بعض المضادات الحيوية كالسفتازديم والأزثرونام ضد اصابات بعض انواع البكتريا المقاومة للعديد من المضادات الحيوية وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية بشأن مزيج مضادات الأمينوكلايكوسايد بض مضادات السيفالوسبورينات (السيفوتاكسيم , السيفترياكسون), اذ كان هناك تأثيري بينهما تجاه عزلات المتقلبات والمقاومة للعديد من المضادات الحيوية. فضلا عن الفعالية العالية لخليط السفتازديم والتوبراميسين. لوحظ ان ك تآزرآ بين مضادات السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين التابعين لمجموعة الكونولون مع المضادات الحيوية التابعة لمجموعة البيتا لكتام , اذ ان مضادات البيتا لكتام تسهل من عملية نفاذ الكونولونات عن طريق تثبطها لتصنيع الجدار الخلوي مما يؤدي الى دخول مضادات السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين بسهولة والوصول الى موقع تأثيرها او موقع هدفها لأنزيم DNA gyrase واخيرا قتل البكتريا. بالإضافة الى

- المصادر
5. Collee, J. G. ; Fraser, A. G. ; Marmion, B. P. and Simmons, A. (1996). Mackie and McCartney. Practical microbiology. 14th ed. Churchill Livingstone. USA:413-424.
 6. Cortter, G. & Adley, C.C. (2001). Ciprofloxacin susceptibility testing of enterococcal urinary isolates in accordance with BSAC guideline. J. Antimicrob. Chemo. Therap. 48: 324-325.
 7. Costerton, J. W. ; Stewart, P. S. and Greenberg, E. P. (2000). Bacterial biofilm :a common cause of persistent infection. Sci. J. 284 (4518):1318-1322.
 8. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2010). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20 ed. approved standards, M 100-S20 and M100-S19, U.S.A.
 9. Delzell, J.E. and Lefevre, M.L. (2000). Urinary tract infection During pregnancy. The American Academy of family physicians, Feb. 1.
 10. Drago, L. ; Elena, D. V. ; Lucia, N. ; Loredana, T. and Maria, R. G. (2005). *In vitro* selection of resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acintobacter* spp. by levofloxacin and ciprofloxacin alone and in combination with β -
 1. Anca, G.H.; Rapuntean, N.A. and Oros, M. (2007). Aminoglycosides, Polymyxins and Fluroquinolones combinations against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Dog. J. Antimicrob. Chemo. Therap. 56.(5).99-104.
 2. Bloom, S.R. (2012). Combined carbenicillin and gentamicin for prophylaxis of post-operative infection following major abdominal surgery. J. Med. Microbiol. 45. 761-766.
 3. Burall, L.S. Harrol, J. M.; Lockett, C.V. and Mobley, H. L. (2012). *Proteus mirabilis* Genes That Contribute to Pathogenesis of Urinary Tract Infection: Identification of 25 Signature - Tagged Mutants Attenuated at Least 100-Fold. J. Infect. Immune. 80.(6). 2922-2938.
 4. Canton, R. and Conque, I.M. (2006). The CTX-M beta-lactamase pandemic. Curr. Opin. Microbiol. 9:466-475. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2010). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 20 ed. approved standards, M 100-S20 and M100-S19, U.S.A.

- therapy for *Pseudomonas aeruginosa* bacteremia: prospective trial using the Zelen protocol. J. Antimicrob. Agents Chemother. 36(3):620-625.
- 18.Kumar , A. and Schweizer, H.(2005). Bacterial resistance to antibiotics : Active efflux and reduced uptake .Adv. dru. Del. Rev. . 57(10): 1486-1513.
- 19.Levy , S. B. (2002). Active efflux , a common mechanism for biocide and antibiotic resistance. J. Appl. Microbiol. 22: 655 -715.
- 20.Ling, T. and Xiong, J. (2006). Multicenter antimicrobial susceptibility survey of Gram-negative bacteria isolate from patients with community-acquired infections in the peoples Republic of china . Antimicrob. Agent. chemother. 50:374 -378.
- 21.Lukomski, S.; L. Serwecin ´ska, A. ; Ro´ z'alski, J. ; Dziadek, P. and Jaworski, A. (1991). Cell-free and cell-bound hemolytic activities of *Proteus penneri* determination by different Hly determinants. Can. J. Microbiol. 37: 419-424.
- 22.Macfaddin ,J. F. (2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3rd ed . The Williams and Wilkins co. Baltimore. USA.
- 23.Maltezou,H.C.(2009).Metallo-β-Lactamases in Gram negative bacteria: introducing the era of pan-resistance .J.Antimicrob . Chemo . Therap . 33.403-407.
- lactam and amikacin. J.Antimicrob . Chemo . Therap . 56(2):353-359.
- 11.El-Baghdady , K.Z., Abooulwafa, M. , Ghobashy , M. O., Gebreel , H. M. (2009). Plasmid mediated virulence factors of some proteus isolates. Egypt. Acad.J.biology. Sci. 1(1):7-22.
- 12.Fraczek, M.; Szumala, A. K.; Jedrzejczak, P.; Kamieniczna, M. and Kurpisz, M. (2007). Bacteria trigger oxygen radical release and sperm lipid peroxidation in vitro model of semen inflammation. Fertil. Steril. 88(40):1076-1085.
- 13.Fraser,G.M.;Clarel,L.;Furness,R.and dHughes,C.(2002) Swarming coupled expression of the *Proteus mirabilis* *hpmRA* hamolysin operon. Microbial 148:2191-2201.
- 14.Garrod ,L. P. ; Reeves, D. S. ; Phillips, I. ; Williams, J. D. and Wise , R. (1978). Laboratory method in antimicrobial chemotherapy. Livingstone, New York.:31-49.
- 15.Imad,M.A.;Hayder,Y.A.;Mohammad,O .S.and Hameed,M.G.(2011).Histological findings of ascending urinary tract infections in experimental rats caused by *Proteus mirabilis*.J. Biome. Resear.22 (4). 425-430.
- 16.Jone , A. K. (2005). Etiology of complicated urinary tract infection and laboratory diagnosis. J. Min- Urol- Nephrol.44(4):239-244.
- 17.Korvick, J. A. ;Peacock,J. E. ;Muder,R . R. and Wheeler, R. R. (1992). Addition of combination antibiotic

25. Shobha, K.L.; Ramachandra, L.; Rao, G.; Majumder, S. and Rao, S. P. (2009). Extended Spectrum Beta- Lactamases (ESBL) in Gram Negative Bacilli At A tertiary Care Hospital. J. Clin. Dig. Res. 2.(3).1307-1312.
26. Zhang, Y. (2007). Mechanisms of Antibiotic Resistance in the Microbial World. Clin Pharmacol. Ther. 82.(1).595-600.
27. Zolotukhin, K. Abubakirova, A. ; and Popov, M. (2006). Susceptibility to carbapenems of *Pseudomonas* spp. Isolated from patients with ventilator associated pneumonia. J. Microbiol. 10(1):103-117.
24. Oie, S.; Yumi, F.; Masaya, Y.; Yuki, M. and Akira, K. (2009). In vitro effects of aztreonam, ceftazidime, colistin and the drug 3- combination of Amikacin and on metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. J. Antimicrob. Agents Chemother. 9(123):1471-2334.
24. Pearson, M.M. and Mobley H,L,T. (2007). The type III secretion system of *Proteus mirabilis* HI4320 does not contribute to virulence in the mouse model of ascending urinary tract infection. J. Med. Microbiol. 56.(3).1277-1283.

Effect of Antibiotics Combination on Multidrug Resistant *Proteus mirabilis*

Received :21/10/2012

Accepted : 16/12/2012

Mohammed Oudah Hamad
Mohammedhamad23@gmail.com

Department of Ecology , Faculty of Science , University of Kufa

Abstract

A total of three hundred and twenty one samples were collected from midstream urine taken from patients suffering from urinary tract infections. 39 isolates of *Proteus mirabilis* were isolated and identified depending on their morphological properties (cultural and microscopical) and biochemical tests. The study has declared that the ratio of separation this bacterium from women was (8.41%) and it is higher than the ratio of separation in both children and men which ranged (2.8%) and (0.93%) respectively. The antibiotics sensitivity of the isolates were tested against twenty-four antibiotics, the isolates showed high resistance. The imipenem, meropenem, amikacin and ciprofloxacin were found more effective. The combination of antibiotics showed active synergism effect against multidrug resistance of the isolates, especially between aminoglycoside (Amikacin and gentamycin) and quinolones (Ciprofloxacin and norfloxacin) and cephalosporins antibiotics (Cefotaxim and sefotrixon) and aminoglycoside antibiotics from one side and quinolones from other side.

Keyword: Bacteria, Urinary Tract Infection, Antibiotics Combination

Microbiology classification : QR75995