Antimicrobial Sensitivity of Locally *Staphylococcus* Isolates against Four Quinolones

دراسة الحساسية المايكروبية لعزلات محلية من بكتريا *Staphylococcus* ضد اربعة انواع من مضادات الكوينولون

ا.م.د.محمد فرج المرجاني م.م. فراس نبيه جعفر م.م.محمد توفيق عبد الحسين أحمد عيسى جعفر
قسم علوم الحياة /كلية العلوم – الجامعة المستنصرية

الخلاصة

تم الحصول على 91 عزلة تعود لبكتريا *Staphylococcus* من عينات سريريه شملت الدم والإدرار والجروح والحروق.أظهرت نتائج اختبار إنزيم Coagulase أن هناك 59 عزلة موجبة لهذا الاختبار مقابل 32 عزلة غير منتجة للأنزيم أعلاه.

اختبرت حساسية العزلات لأربعة من مضادات الكوينولون وقد أظهرت 51.6% من العزلات مقاومتها لمضاد Norfloxacin وكانت 46.2% مقاومة لمضاد Ofloxacin و 42.9% مقاومة لمضاد Ciprofloxacin بينما اقل نسبة مقاومة كانت لمضاد Levofloxacin (29.7%), وقد أبدت العزلات الموجبة لانتاج Coagulase مقاومة عالية مقارنة بالعزلات غير منتجة للأنزيم . تراوحت قيم التركيز المثبط الأدنى (MIC_s) لمضاد Ciprofloxacin (8 - 512) مايكروغرام/مل .

ABSTRACT

Ninety one isolates were collected from clinical samples included blood, urine, wound and burn swabs from different Baghdad hospitals during the period from 1\9\2011 to 1\12\2011 . Result of coagulase test revealed that (59) of isolates were positive while others (32) isolates were negative.

The sensitivity of isolates to four quinolones groups was tested, and results showed that (51.6%) of isolates were resistant to Norfloxacine , (46.2%) were resistant to Ofloxacine and (42.9%) were resistant to ciprofloxacine. While the lowest resistance was (29.7%) to levofloxacine. On the other hand, the coagulase positive Staphylococcus showed a high resistance in compare to that coagulase negative isolates . The range of the minimum inhibitory concentrations of ciprofloxacine were (8-512 µg\ml).

المقدمة

تمتاز بكتريا *Staphylococcus* بكونها موجبة لصبغة كرام يتراوح قطرها بين (0.5-1.5) مايكروميتر، وتمتاز بشكلها الكروي إذ تظهر تحت المجهر بشكل تجمعات عنقودية غير منتظمة , وقد تظهر بشكل منفرد أو بشكل سلسلة متجمعة قصيرة غير متحركة، وغير مكونة للسبورات، لاهوائية اختيارية تنمو بالتنفس الهوائي أو بالتخمر (1). توجد بكتريا *Staphylococcus* على الجلد ، وفي الأنف والحنجرة والفم والقناة الهضمية بوصفها نبيتا طبيعيا (Normal flora) ، وتعد انتهازية (Opportunistic) ومسببة للعديد من الأمراض عند توفر الظروف الملائمة (2),(3) .

تمتلك هذه البكتريا العديد من عوامل الضراوة التي تمكنها من احداث الإصابات المرضية ومهاجمة الأنسجة في الجسم , إذ تعزى امراضيتها إلى قابليتها على إفراز العديد من المواد خارج خلاياها كالانزيمات مثل انزيم مختر البلازما (Coagulase) الذي يميز النوع *S.aureus* عن *S.epidermidis* وكذلك تفرز انزيم Hyaluronidase الذي يعد عامل انتشار، والانزيم الحال للدم (Haemolysin) والمحلل للحامض النووي الدنا (DNase) ومحطم الخلايا البيض (Leucocidin) والحال للبروتين (Protease)، هذا الى جانب العديد من الذيفانات منها الذيفانات المعوية (Enterotoxins) (4) .

تمتلك مضادات Quinolnes طيفاً واسعاً من الفعالية ضد الكثير من البكتريا ، وتعمل على تثبيط تخليق DNA البكتيري عن طريق تثبيط عمل انزيم Topoisomerase 11 أو ما يعرف DNA gyrase المسؤول عن جعل الكروموسوم البكتيري فائق اللف ،لذلك يحدث الموت السريع للبكتريا(5) ، فضلاً عن تثبيط عمل انزيم Topoisomerase IV مما يسبب ذلك أعاقة انفصال الدنا المتضاعف (Replicated DNA) أثناء عملية الانقسام الخلوي (6) .

تقاوم البكتريا مضادات الكوينولينات من خلال حدوث تغيير في موقع الهدف لأرتباط المضاد الى الأنزيم، إذ يحدث التغير في GyrA الذي يعد من الوحدات البنائية لأنزيم DNA gyrase (7). من المضادات المهمة التابعة لهذه المجموعة مضادات Ofloxacin و Norfloxacin وLevofloxacin و Ciprofloxacin (8) , نظرا لخطورة الاصابات التي تسببها بكتريا

Staphylococcus المقاومة لمضادات الكوينولينات جاءت هذه الدراسة لتهدف الى عزل بكتريا *Staphylococcus* المقاومة للكوينولون والتحري عن المحتوى البلازميدي فيها.

المواد وطرائق العمل

❖ **العزلات البكترية** جمعت عينات سريرية مختلفة شملت الدم والادرار والجروح والحروق من مستشفيات مختلفة في مدينة بغداد للفترة من 2011/9/1 لغاية 2011/12/1 للتحري عن بكتريا *Staphylococcus* ، وتم تشخيص العزلات اعتمادا على الصفات المظهرية والزرعية واجراء الاختبارات الكيموحيوية واستعمال عدة التشخيص Api Staph وحسب ماجاء في (9).

❖ **اختبار أنتاج أنزيم التجلط Coagulase**

يستعمل هذا الاختبار لتمييز العزلات المنتجة لانزيم **Coagulase** والتي يشار لها *Staphylococcus* Coagulase +ve عن غير المنتجة لهذا الانزيم والتي يشار لها *Staphylococcus* Coagulase –ve واجري الاختبار بطريقة الشريحة الزجاجية وطريقة الانبوب وحسب ماجاء في (9).

❖ **فحص حساسية البكتيريا لمضادات الكوينولينات:**

اختبرت حساسية عزلات بكتريا *Staphylococcus* (91) عزلة لمضادات Ofloxacin و Norfloxacin وCiprofloxacin المجهزة من شركة Bioanulys (Turkey) ومضادLevofloxacin المجهز من شركة Mast (England) باستعمال وسط مولر هنتون الصلب (Mueller-Hinton agar) وتم اعتماد الاقطار القياسية حسب ماجاء في CLSI (10).

❖ **تحديد التركيز المثبط الأدنى لمضاد Ciprofloxacin**

أستخدمت طريقة التخافيف المضاعفة المتسلسلة (Two fold dilution method) على وسط مولر هنتون الصلب لتحديد MIC_s لمضاد Ciprofloxacin حسب ما جاء في (11).

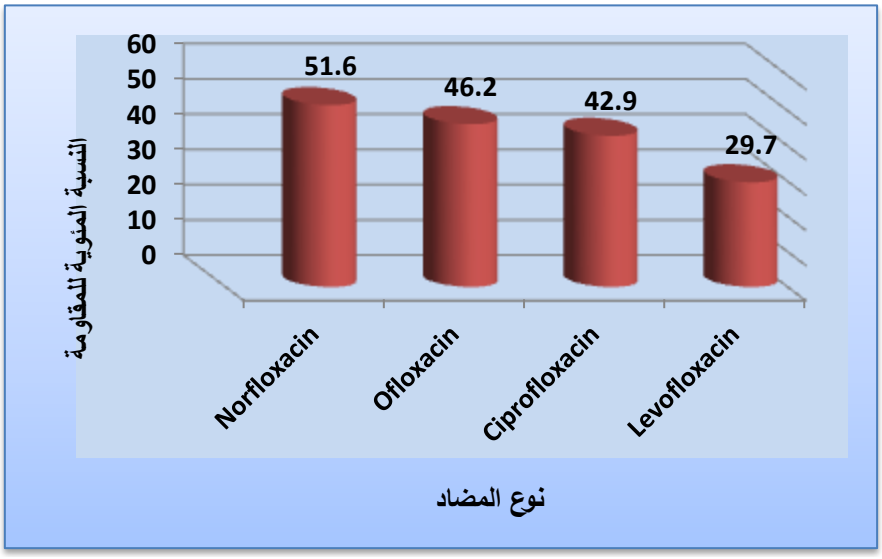
النتائج والمناقشة

تم الحصول على (91) عزلة تعود لبكتريا *Staphylococcus* من مصادر سريرية مختلفة شملت التهابات المجاري البولية والجروح والحروق وتسمم الدم , من مستشفيات مختلفة في مدينة بغداد.

تم أجراء اختبار أنتاج انزيم Coagulase لجميع العزلات وأظهرت النتائج أن هناك (59) عزلة منتجة لهذا الانزيم وقد اشير لها *Staphylococcus* Coagulase +ve بينما كانت (32) عزلة غير قادرة على انتاج الانزيم بطريقتي الشريحة والانبوبة وقد اشير لها *Staphylococcus* Coagulase –ve .

أشار(1) بأن معظم العزلات السريرية لبكتريا *Staphylococcus* هي منتجة لانزيم Coagulase وانه يعد من عوامل الضراوة المهمة لهذة البكتريا.

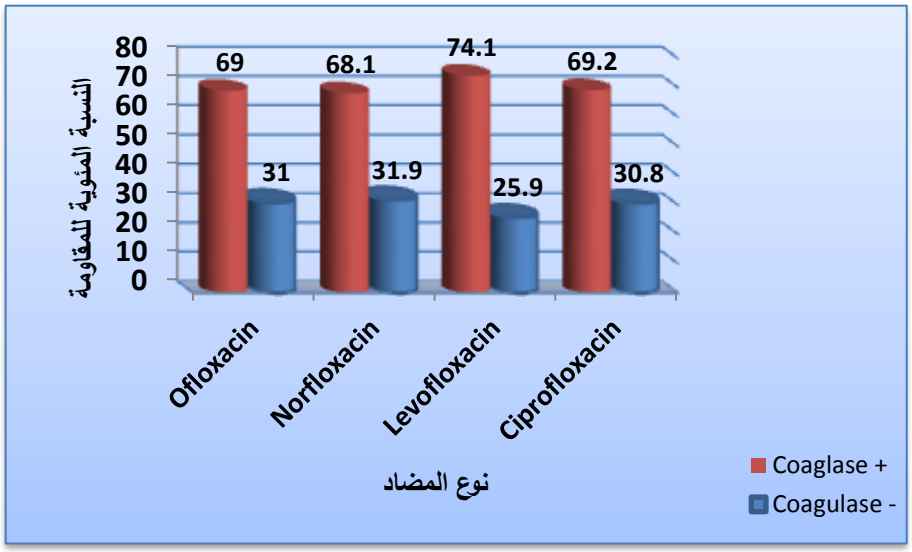
أختبرت حساسية العزلات جميعها (91) عزلة لاربعة من مضادات الكوينولونات وقد اظهرت 51.6% من العزلات مقاومتها لمضاد Norfloxacin وكانت 46.2% من العزلات مقاومة لمضاد Ofloxacin و 42.9% مقاومة لمضاد Ciprofloxacin بينما سجلت اقل نسبة مقاومة لمضاد Levofloxacin (29.7%) (شكل 1).



شكل-1: النسب المئوية لعزلات بكتريا *Staphylococcus* المقاومة لمضادات الكوينولونات

تتفق نتائج دراستنا الحالية مع ما توصل له (11) الذي وجد أن نسبة المقاومة لمضادCiprofloxacin (35%) بين 168 عزلة درسها الباحث وكان بعض هذه العزلات تحمل مقاومة لمضادات من مجاميع اخرى مثل مضادات البيتالاكتام والماكروليد. من

جانب أخر يبين الشكل (2) ان العزلات الموجبة لأنزيم Coagulase أبدت نسبة مقاومة عالية مقارنة بالسالبة لأنزيم Coagulase ربما يعود ذلك الى شيوع استعمال هذه المضادات في معالجة اصابات المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمضادات الاخرى, وكذلك استعمال الكوينولون ضد أجناسا أخرى من البكتيريا مثل المسبحيات ,والبكتريا المعوية . **في دراستنا الحالية** سجلت العزلات الموجبة لأنزيم Coagulase مقاومة بلغت **(**74.1%) لمضاد Levofloxacin من مجموع عزلات *Staphylococcus* الكلية المقاومة للمضاد، و**(**69.2**%)** لمضاد Ciprofloxacin و**(**69**%)** لمضاد Ofloxacin و(68.1%) لمضاد Norfloxacin بينما سجلت العزلات السالبة للـ Coagulase مقاومة بلغت (31.9%) لمضاد Norfloxacin و(31%) لمضاد Ofloxacin و(30.8%) لمضاد Ciprofloxacin و (25.9%) لمضاد Levofloxacin (شكل 2).



شكل-2: نسبة المقاومة لمضادات الكوينولينات التي أبدتها العزلات الموجبة والسالبة لأنزيم Coagulase.

تتفق هذه النتيجة مع ما وجده (12) أن العزلات الموجبة لأنزيم Coagulase تكون ذات مقاومة عالية للمضادات مقارنة بالعزلات السالبة للـ Coagulase .

أن تسجيل نسبة مقاومه تصل (30%) لمضادات الكوينولونات بين العزلات السالبة للـ Coagulase يشير الى خطورة هذه العزلات كونها تعد نبيت طبيعي(Normal flora) ولا تسلط عليها الاهمية الطبية مقارنة بتلك الموجبة لانزيم Coagulase.

من جانب اخر اظهرت 51.6% من العزلات مقاومتها لمضاد Norfloxacin وقد انسجمت نتائجنا مع عدد من الدراسات التي أشارت إلى ارتفاع نسب المقاومة من قبل المكورات العنقودية لهذا المضاد الجرثومي ، ففي دراسة أجريت في الهند أشارت إلى أن العزلات السريرية للمكورات العنقودية كانت مقاومة لهذا المركب من ضمن عدد من المضادات الجرثومية الأخرى تضمنت مضاد الفانكومايسين Vancomycin (13). استعمل هذا المضاد بشكل واسع ومنذ إنتاجه عام 1986 لمعالجة الإصابات الجهازية ، كما إن له فعالية ممتازة ضد البكتريا السالبة لملون كرام الهوائية , إذ يستخدم بشكل مستحضرات صيدلانية تؤخذ عن طريق الفم(14).

تم تحديد التركيز المثبط الادنى لمضاد Ciprofloxacin للعزلات التي أبدت مقاومة لهذا المضاد, وقد أظهرت النتائج (جدول 1) أن قيم MIC تراوحت بين(8 – 512) مايكروغرام/مل وقد أبدت أربع عزلات مقاومة أعلى أو مساوية (256) مايكروغرام/مل تتفق هذه النتيجة مع ما ذكره (15) بأن عزلات *Staphylococcus* قد أبدت قيم عالية من المقاومة لمضاد Ciprofloxacin .قد يعود الأختلاف في مديات قيم MIC بين (8 – 512) مايكروغرام/مل الى تنوع مصادر جمع العينات فقد جمعت عينات من مصادر سريرية مختلفة ومن مواقع جغرافية مختلفة وبالتالي تختلف العزلات في مدى تعرضها للمضادات وبتراكيز مختلفة.

جدول (1) قيم MIC التي أبدتها العزلات لمضاد Ciprofloxacin

رقم العزلة	MIC مايكروغرام/مل	رقم العزلة	MIC مايكروغرام/مل
9	128	14	512
10	32	16	512
46	32	18	512
67	32	19	32
90	32	32	256
87	8	43	32
5	64	24	16
15	32	54	64
1	128	33	32
6	128	34	64
39	64	59	32
41	32	36	64

المصادر

1. Brooks,G.F. ; Butel, J.S. and Morse, S.A.(2004). Jawtz, Melnic and Adelberg,s , Medical Microbiology. 23rd ed. McGraw Hill Companies, United States.
2. Ryan ,K.J. and Ray , C.G.(2004). Sherni,s Medical Microbiology (4th ed) .McGraw Hill.P.396-401.
3. Alcamo, I.E. (2001). Fundamental of Microbiology . 6th ed . Jones and Bartelett. London. UK .
4. Nester, E.W.; Anderson, D.G.; Roberts, C.E., Jr.; Pearsall, N.N. and Nester, M.T. (2001). Microbiology A Human Perspective (3rd ed.). McGraw- Hill Higher Education ,New York.
5. Madigan, M.T.; Martinko, J.M. and Parker, J. (2003). Prock Biology of Microorganisms. Tenth edition. Prentice- Hall, Inc. London, Sydney, pte. Ltd. Hong, Kong, Toronto, S.A. dec.v. Tokyo, pte, Ltd, Uper Saddle River, New jersey.
6. Fluit, A.C.; Visser, M.R.; and Schmitz, F.J.(2001).Molecular detection of antimicrobial resistance. Clinical Microbiology Reviews. Oct. 836-71.
7. Brisse,S;Milatovic,D.;Fluit,A.C.andVerhoef,J(1999).Comparative in *vitro* activitie ciprofloxacin, clinafloxacin, gatifloxacin, levofloxacin, moxifloxacin&trofloxacina, a gainst *K.pneumoniae,K.oxytoca, Enterobacter aerogenes* clinical isolates with alteration in Gyr A& Par Cproteins.J.A. Antimicrobial gents Chemother.,43:2051-2055.
8. Katzung, B.G. (2001). Basic & Clinical Pharmacology.8th ed. Lange Medical Books. McGraw-Hill.
9. Forbes,B.; Sahm, D. &Weissfeld, A.(2002). Bailey and Scott,s Dignostic Microbiology . 11th ed Mosby .PP: 138-40.
10. CLSI (Clinical & Laboratory Standards institute) (2009). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 19th supplement, CLSI document M100-S19. 29 (3). CLSI, Wayne, Pennsylvania, USA.
11. Alalem ,A.M. (2008). Antibiotic resistant *S.aureus* infection studies in hospitals .Ph.D, Middle East Technical University.Turkey.
12. Paul, R.; Das, N.K.; Dutta, R. and Banerjee, A.K. (2011). Bacterial contamination of the hands of doctors: Astudy in the medicin and dermatology wards. Original Article, 77(3):307-313.
13. Tiwari,H.K. and Sen,M.R.(2006). Emergence of vancomysin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) from a tertiary care hospital from northern part of India. BMC Infectious Diseases .6:156-161.
14. Bearden,D.T. and Danziger,L.H. (2001). Mechanism of action and resistant to quinolones. Pharmacotherapy .21(10): 224-232 .
15. Swedres (2010). A Report on Swedish Antibiotic utilization and Resistance in human Medicine.SMI.