

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة

عدنان نعمة العزاوي هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة

عدنان نعمة العزاوي هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي

جامعة ديالى /كلية التربية جامعة ديالى /كلية العلوم

للعلوم الصرفة /قسم علوم الحياة قسم علوم الحياة

الخلاصة

تضمنت الدراسة عزل بعض اجناس بكتريا العائلة المعوية المتواجدة في صالات الولادة ومصادر سريرية وبيئية مختلفة في بعض مستشفيات مدينة بعقوبة للفترة من 2012/8/27 الى 2012/12/1 ، وأظهرت النتائج أن 40 عزلة تعود لبكتريا العائلة المعوية *Enterobacteriaceae* وبواقع 15 عزلة (*E.coli* 37.5%)، 9 عزلة (*P.mirabilis* 22.5%)، 6 عزلات (*K.pneumoniae* 15%)، أذ شخصت مظهرها وباستخدام الفحوصات الكيموحيوية وتأكيد التشخيص باستخدام نظام Api 20E.

اختبرت حساسية العزلات لـ (14) مضادا حيوييا، وقد أظهرت العزلات البكتيرية تفاوتاً في نسب مقاومتها لهذه المضادات، أذ أظهرت عزلات *E.coli* اعلى مقاومة وبنسبة 93.3% لمضاد Piperacilline وعزلات *P.mirabilis* اعلى مقاومة وبنسبة 100% لمضاد Ampicillin ، بينما أظهرت عزلات *K.pneumoniae* اعلى مقاومة لمضاد Ampicillin و Cefixime وبنسبة 83.33%، وأظهرت النتائج ان المضاد الحيوي Imipenem هو الاكثر تأثيراً على العزلات البكتيرية قيد الدراسة وبنسبة (100%)، فيما اظهرت العزلات البكتيرية مقاومة متباينة لباقي المضادات الحيوية.

حُدد التركيز المثبط الادنى (MIC) لـ 5 من مضادات الحياة وهي Amoxicillin و Cefotaxime و Ciprofloxacin و Streptomycin و Nalidixic acid وقد تراوحت هذه القيم للمضادات ما بين (64 - 1024) ، (32 - 1024) ، (2 - 1024) ، (8 - 1024) ، (128 - 1024) ، (مكغم/ مل على التوالي).

دُرست تجربة خلط المضادات الحيوية بين مضاد Ciprofloxacin و Streptomycin مع Cefotaxime بنسبة خلط (1:0.5, 1:1, 1:2, 1:3) وأظهرت النتائج حدوث انخفاض كبير في مديات MIC للمضادات بعد عملية الخلط مما هي عليه في حالة استعمال كل مضاد على حده ، كما واطهرت النتائج ان نسبة الخلط (1:3) تعتبر الافضل بين النسب الاخرى حيث بينت جميع العزلات المدروسة تأثيراً تأزريراً لـ (26) عزلة من مجموع (27) عزلة تمت دراستها وبنسبة (96.29%) عند خلط مضاد Streptomycin مع Cefotaxime بينما أظهرت (22) عزلة تأثيراً تأزريراً من مجموع (27) عزلة وبنسبة (81.48%) عند خلط مضاد Ciprofloxacin مع Cefotaxime.

الكلمات المفتاحية: - بكتريا العائلة المعوية ، مضادات الحياة ، التركيز المثبط الادنى ، خلط المضادات.

Bacteriological comparative of some genus of *Enterobacteriaceae* isolated from Hospital birth rooms in Baquba city.

AdnanNamma Al Azawy Hadi Rahman Rasheed Al-Taai
DuaaAdnanKadhum Alutbi

Diyala University
College of Education Pure Science
Biology Dept.

Diyala University
College of Science
Biology Dept.

Received 27 May 2014 ; Accepted 13 July 2014

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة
دعاء عدنان كاظم العتبي هادي رحمن رشيد الطائي عدنان نعمة العزاوي

Abstract

The study included isolation some genus belong to Enterobacteriaceae from Eat birth, clinical and environmental sources in some hospitals in Baquba city. The results showed that 40 isolates belong to Enterobacteriaceae .15 isolates (37.5%) *E.coli*, 9 isolates (22.5%) *P.mirabilis*, 6 isolates (15%) *K.pneumoniae* by using biochemical diagnosed tests and confirm the diagnosis by using Api 20E system.

The sensitivity of the isolates toward 14 antibiotics were tested . The results showed a variance as far as their resistance to these antibiotics. Isolates of *E.coli* showed highest resistance rate % 93.3 for Piperacilline, while isolates of *Enterobacter* spp resistan with 90% for Cefixime and Tobramycin. *P.mirabilis* higher resistance to Ampicillin by100% , while *K.pneumoniae* showed resistance to Ampicillin and Cefiximewithpercentage83.33%. Imipenem is the most effective antibiotic by(100%).

The minimum inhibitory concentrations (MIC) for 5 antibiotics, that Amoxicillin,Cefotaxime,Ciprofloxacin, Streptomycin,Nalidixic acid were determined.

The resutes indicated that MIC values of these antibiotics ranged between (64-1024>) , (32-1024>), (2-1024) ,(128-1024) ,(8-1924>) µg/ml, respectively.

The combination of antibiotics among Ciprofloxacin ,Streptomycin and Cefotaxime by combination (1:0.5,1:1,1:2,1:3).

The results showed that the combination ratio (1:3) is considered the best was among other ratios. The combination of Cefotaxime and Ciprofloxacin showed synergistic effects by (96.29%), when combination , Streptomycin with Cefotaxime showed Synergy rate of (81.48%) .

KeyWords :-Enterobacteriaceae Antibiotics M.I.C Antibiotics - combination

المقدمة

يعتبر تلوث صالات العمليات الجراحية احد اهم المصادر المهددة لحياة المرضى الراقدين في المستشفيات. حيث أن الالتهابات بعد العملية الجراحية تعني حدوث مضاعفات مكتسبة بعد الجراحة وهذه الالتهابات أو الإصابات تتغير، أو تتنوع فعلياً، بسبب المستشفى أو العاملين بها كالمضمد والممارس أو الجراح، وهؤلاء جميعاً يمكن أن يؤثروا بشكل كبير في حدوث أو بروز هذه الالتهابات إذ انهم على احتكاك مباشر مع المصاب الراقد في المستشفى (1) .

تضم العائلة المعوية أعداداً كبيرة من اجناس بكتيرية ذات صفات مشتركة منها سالبة لصبغة غرام، عصوية الشكل، هوائية او لاهوائية اختيارية، وتعد أمعاء الإنسان والحيوان الموطن الطبيعي لها(2).

أشارت العديد من الدراسات الى ظهور سلالات مقاومة من البكتريا المعوية لأكثر من مضاد حيائي ، والتي تعد مشكلة من الناحية الطبية لصعوبة السيطرة على الامراض نتيجة عدم اختيار العلاج المناسب والاستخدام المتزايد والعشوائي لمضادات الحياة (3) .

يشار الى عملية خلط المضادات بأنها اخذ مضادين أو أكثر من المضادات الحيوية لغرض المعالجة وملاحظة مدى تأثيرها على الكائنات الممرضة (4) .

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة

عدنان نعمة العزاوي هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي

تعد طريقة رقعة الشطرنج (Checkerboard) من اهم الطرق الحديثة المستخدمة في وصف نتائج خلط المضادات مع بعضها ومنها التآزر (Synergism)، في هذه الحالة تكون حسيلا التأثير على الميكروب أكثر من فعالية المضادين الحيائيين كلا على انفراد أي يعزز من قدرة المضاد ضد المايكروبات (5)، تأثير الجمع للمضادين على الميكروب يساوي مجموع فعالية المضادين الحيويين ويدعى بالاضافة (Addition)، ويشار الى ان فعالية أحد المضادين تقل بوجود المضاد الاخر وتدعى التضاد (Antagonism)، أما التأثير الناتج من جمع المضادين يفوق تأثير المضاد الاكثر فعالية لو استعمل لوحده يدعى بغير مؤثر (Indifference) (6). أشار العديد من الباحثين من خلال الدراسات التي أجريت في علاج الالتهابات البكتيرية بان استخدام عملية خلط المضادات تعتبر مهمة في الحصول على التأثير التآزري حيث تعمل على زيادة فعالية المضاد وتقليل سميته وسرعة العلاج ومنع ظهور المقاومة وتوفر طيف فعالية افضل للمضاد مما لو استخدم لوحده (7). ولأهمية هذا الموضوع جاءت الدراسة بهدف دراسة تأثير التوليفات الدوائية المختلفة على استجابة البكتريا للمضادات الحيوية.

المواد وطرائق العمل

عزل البكتريا والتشخيص

اشتملت الدراسة جمع 300 مسحة من صالات الولادة ومن مصادر سريرية وبيئية متنوعة شملت مسحات المهبل والجروح وايدي العمال وأسرة المرضى والادوات الجراحية والارضية والجران في مستشفيات مدينة بعقوبة للفترة من 2012/8/27 الى 2012/12/1.

شخصت العزلات البكتيرية اعتماداً على ما ورد في (8) إذ شخصت المستعمرات مبدئياً اعتماداً على الصفات المظهرية وتضمنت شكل المستعمرات ولونها وقوامها ورائحتها وحجمها على وسط أكار الماكونكي وأكار الدم ووسط Eosin methylene blue الصلب لتفرقة *Klebsiella* عن بكتريا *E. coli* ذات البريق المعدني. وأخضعت العزلات الى الفحص المجهرى باستخدام صبغة غرام للتعرف على شكل البكتريا وترتيبها وتفاعلها مع صبغة غرام واستخدمت لتشخيص العزلات ايضاً الفحوصات الكيموحيوية المختلفة كأختبار أنزيم الكاتاليز، وأنزيم الاوكسيديز، والاندول، وأحمر المثيل، و الفوكس بروسكاور، وأستهلاك السترات، والحركة، واليوربا، وتم تأكيد التشخيص باستخدام عدة التشخيص Api 20E Kit.

فحص الحساسية للمضادات الحيوية

أستخدمت طريقة Bauer & Kerby القياسية لاختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية (9)، حيث اختبرت حساسية العزلات قيد الدراسة لـ 14 مضاداً توزعت ما بين مضادات مجموعة البييتالاكتام التي شملت Cefixime و Cephradine و Cefotaxime و Piperacillin و Imipenem و Aztreonam ومن مجموعة الامينوكلايكوسيدية Gentamycin و Amikacin و Tobramycin و Ampicillin والكوينولونات Ciprofloxacin ومضادات جرثومية Nitrofurantoin و Co-Trimoxazol، ومضاد Augmentin وهو خليط من مثبط الانزيم (Amoxicillin و Clavulanic acid)، واعتمد على قياس قطر منطقة التثبيط ومقارنة ذلك مع ماورد في (10) وحضنت الاطباق بدرجة 37 م° لمدة 18-24 ساعة قيست بعدها اقطار مناطق التثبيط حول كل قرص، عدت البكتيريا حساسة (S) او مقاومة (R) او متوسطة (I) حسب المواصفات القياسية الواردة في (10).

قياس التركيز المثبط الادنى

استخدمت طريقة التخفيف المضاعفة المتسلسلة Serial Two Fold Dilution Method لحساب التركيز المثبط الادنى لعدد من المضادات الحيوية اعتماداً على ما ورد في (11).

- حضرت تراكيز متسلسلة متضاعفة تراوحت بين 0.5-1024 مايكروغرام/ مل لكل من المضادات الحيوية:

Amoxicillin, Cefotaxime, Nalidixic acid, Streptomycin, Ciprofloxacin

وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة واحتسب التركيز المثبط الادنى بأنه اقل تركيز يمنع ظهور النمو البكتيري بعد حضانة 18-24 ساعة بدرجة حرارة 37 م°. وتم مقارنة النتائج مع نقطة التوقف Break point ويمثل اقل تركيز يمكن ان يصله المضاد في المصل ليعطي اعلى فعالية وبعده يصبح مقاوماً.

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
 مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة
 هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي

خط المضافات

يعتمد هذا الاختبار اساسا على الجمع بين مضاد السيفوتاكسيم (Cefotaxime) مع كل من الستربتومايسين (Streptomycin) والسيروفلاكسين (Ciprofloxacin) وتجربة الخلط بعدة نسب من خلال تحضير تراكيز متسلسلة من المضافات الحيوية من (0.5 الى 1024) مايكروغرام/مل ، ويتم التحري عن خلط كل مضادين بأستخدام البكتيريا التي أظهرت مقاومة للمضافات في الدراسة الحالية وقد أجري الاختبار باتباع الطريقة الاتية :

• طريقة رقعة الشطرنج Checker Board Assay

استخدم في هذا الاختبار وسط زرع صلب وحضرت تراكيز من مضاد السيفوتاكسيم مماثلة للتراكيز التي حضرت للمضافات الحيوية. بعدها تم حساب قيم المعامل الجزئي لتثبيط التركيز (Fractional inhibitory concentration) (FIC) لاختبار جيكربورد من خلال المعادلة :

$$\text{FIC} = \frac{\text{للمضاد في الخليط MIC}}{\text{MIC للمضاد لوحدة MIC}}$$

للمضاد لوحدة MIC

ومعامل FIC يمثل المجموع الجبري لقيم FIC لكلا المادتين أو اكثر والنتائج تعدّ تأزرا ، اضافة، غير مؤثرة، متضادة اذا كانت قيم معامل FIC تساوي $0.5 < 1 < 0.5$ ، $1 < 2 < 1$ ، $2 > 1$ وعلى التوالي (12) .

النتائج والمناقشة

تم الحصول على (40) عزلة من بكتريا العائلة المعوية من مجموع (185) عينة سريرية وبيئية اي بنسبة (21.6%) أظهرت نمواً موجباً للزرع البكتريولوجي من مصادر عزل متنوعة هي (مسحات المهبل و الجروح و ايدي العمال وسرير المريض والادوات الجراحية والارضية والجدران) ، وبواقع 15 عزلة (37.5%) *E. coli* ، 10 عزلة (25%) *Enterobacter spp* ، 9 عزلة (22.5%) *P. mirabilis* ، 6 عزلات (15%) *K. pneumoniae* .

تم التشخيص بالاعتماد على الفحوصات المظهرية والمجهريّة كتشخيص أولي إذ اعتمد شكل وقوام وهيئه المستعمرات فضلاً عن قابليتها على تخمير سكر اللاكتوز على وسط الماكونكي. أظهرت مستعمرات *E. coli* بلون وردي نتيجة تخميرها لسكر اللاكتوز ، جافة ، متوسطة الحجم ، محدبة و منتظمة و سالبة لاختبار الاوكسديز وتنمو بشكل مستعمرات ذات بريق اخضر معدني على الوسط الزرع EMB . في حين ظهرت مستعمرات *klebsiella* وردية نتيجة تخميرها لسكر اللاكتوز وبهيئة مخاطية غير منتظمة ويرجع ذلك بسبب تكوينها الكبسولة . أما فيما يخص بكتريا *P. mirabilis* فكانت مستعمرات شاحبة اللون على وسط اكار الماكونكي لكونها غير قادرة على تخمر سكر اللاكتوز أعطت نتيجة سالبة لاختبار الاوكسديز وموجبة لاختبار اليوريز (Urease) وتميزت هذه البكتريا بظاهرة الحركة الزاحفة (الانثيال) Swarming، اما عن الفحص المجهرى فقد ظهرت جميع العزلات السابقة الذكر سالبة لملون غرام عسوية جدول (1).

جدول (1) الاختبارات الكيموحيوية والمجهريّة والزرعية للانواع البكتيرية.

العزلات	صبغة كرام	الكاتليز	الاوكسديز	الاندول	احمر المثل	فوكس بروسكاور	الستريت	تخمير اللاكتوز	الحركة	اليوريز
<i>E. coli</i>	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-
<i>K.pneumoniae</i>	-	+	-	-	-	+	+	+	-	+
<i>P.mirabilis</i>	-	+	-	-	+	-	+/-	-	+	+

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة
عدنان نعمة العزاوي هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي

لقد أظهرت النتائج تباين واضح في مدى استجابة العزلات قيد الدراسة. إن جميع عزلات بكتريا *E. coli* مقاومة لمضاد Piperacillin و Cefixime و Cefotaxime و Ceftazidime و Aztreonam و Ampicillin بنسبة (93.3%) ، النفاذية مما يؤدي الى صعوبة مرور المضاد و وصوله الى موقع عمله وهو خاص بالبكتيريا السالبة لملون غرام إذ يحتوي الغشاء الخارجي على قنوات بروتينية تدعى البورين التي تعمل على منع دخول المضادات الى داخل الخلية البكتيرية (13). اما بالنسبة لمضادات المجموعة الامينوكلايكوسيدية Gentamycin و Amikacin و Tobramycin (40%)، (13.33%)، (13.33%) على التوالي ، اما بالنسبة لمضادات مجموعة الكوينولونات Ciprofloxacin (33.3%)، اما بالنسبة للمضادين Augmentin و Co-Trimoxazol فقد بلغت نسبة المقاومة (73.33%)، (80%) على التوالي. من جهة أخرى كان المضادان Nitrofurantoin و Imipenem الأكثر فعالية ضد بكتريا *E. coli*، فقد كانت نسبة المقاومة للمضاد Nitrofurantoin بنسبة (6.66%)، اما بخصوص مضاد Imipenem فلم تظهر أية عزلة مقاومة له فقد كانت (100%) حساسة. أما فيما يخص حساسية بكتريا *P. mirabilis* فقد كانت المقاومة لمضادات Cefixime و Ceftazidime و Cefotaxime و Aztreonam و Piperacillin و Ampicillin بنسبة (88.88%)، (66.66%)، (77.77%)، (77.77%)، (100%) على التوالي. اما بالنسبة لمضادات المجموعة الامينوكلايكوسيدية Gentamycin و Amikacin و Tobramycin وقد كانت نسبة المقاومة للجراثيم من خلال تداخلها مع عملية تصنيع طبقة الببتيدوكلايكان، وربما تعود أسباب هذه المقاومة إلى إفراز الجراثيم لأنزيم البيبتالاكتيميز الذي يعمل على إبطال فعالية مضادات البيبتالاكتام عن طريق كسر حلقة البيبتالاكتام في مجموعة البنسلينات و السيفالوسبورينات (14). اما بالنسبة لمضادات مجموعة الكوينولونات Ciprofloxacin بلغت نسبة المقاومة (13.33%) ، ان سبب المقاومة للعزلات قيد الدراسة قد يعود الى حدوث تغيير في موقع الهدف لارتباط المضاد على الانزيم ، اذ يحدث التغيير في (GyrA) الذي يعد من الوحدات البنائية لانزيم (DNA gyrase) (15) ، اما بالنسبة للمضادين Augmentin و Co-Trimoxazol فقد بلغت نسبة المقاومة (77.77%)، (55.55%) على التوالي. اما بالنسبة لمضاد Nitrofurantoin فقد بلغت نسبة المقاومة 11.11%. من جهة أخرى اظهر المضاد Imipenem فعالية عالية ضد البكتريا فقد كانت حساسة بنسبة 100%.

أما فيما يخص حساسية بكتريا *K. pneumoniae* كانت المقاومة لمضادات Cefixime و Ceftazidime و Aztreonam و Ampicillin و Piperacillin بنسبة (83.33%)، (50%)، (66.66%)، (66.66%)، (50%)، (83.33%) على التوالي . اما بالنسبة لمضادات المجموعة الامينوكلايكوسيدية Gentamycin و Tobramycin فقد كانت نسبة المقاومة (16.66%)، (11.11%) على التوالي ، اما بالنسبة لمضادات مجموعة الكوينولونات Ciprofloxacin لم تظهر مقاومة فقد كانت حساسة بنسبة 66.66% ومتوسطة 33.33% . اما بالنسبة للمضادين Augmentin و Co-Trimoxazol فقد بلغت نسبة المقاومة (33.33%) ، (66.66%) على التوالي، ويعود سبب المقاومة الى انتاج البكتريا انزيمات البيبتالاكتاميز المحفزة كروموسومياً التي لا تثبط بـ Clavulanic acid (16)، من جهة أخرى اظهرت المضادات Nitrofurantoin و Imipenem و Amikacin فعالية عالية ضد البكتريا فقد كانت حساسة بنسبة 100% لكافة المضادات كما موضح في جدول (2).

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة
عدنان نعمة العزاوي هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي
جدول (2) النسب المنوية لحساسية العزلات قيد الدراسة للمضادات الحيوية.

<i>K.pnumniae</i>			<i>P.mirabilis</i>			<i>Ecoli</i>			المضادات الحيوية
R	I	S	R	I	S	R	I	S	
%83. 33	0	%16. 66	%100	0	0	%73.3 3	0	%26.6	Ampicillin
0	0	%100	0	0	%100	0	0	%100	Imipenem
%66. 66	0	%33. 33	77.77 %	%11. 11	%11. 11	%60	0	%40	Aztreonam
%83. 33	0	%16. 66	88.88 %	0	%11. 11	%66.6 6	%13.3 3	%20	Cefixime
%66. 66	%16.6 6	%16. 66	77.77 %	0	22.22 %	%53.3	%13.3 3	33.3 %	Cefotaxime
%33. 33	%16.6 6	%50	77.77 %	0	22.22 %	%73.3	%20	%6.66	Augmentin
0	0	%100	77.77 %	%11. 11	%11. 11	%86.6 6	%6.66	%6.66	Nitrofourantoin
0	0	%100	22.22 %	%11. 11	%66. 66	%13.3 3	%6.66	80%	Amikacin
%50	16.66 %	%33. 33	%66.6 6	%11. 11	22.22 %	%46.6	%6.66	%46.6	Ceftazidime
0	0	%100	%11.1 1	0	%88. 88	%13.3 3	0	86.66 %	Tobramycin
%16. 66	0	%83. 33	%33.3 3	0	%66. 66	%40	%13.3 3	%46.6	Gentamicin
%66. 66	%33.3 3	0	%11.1 1	22.22 %	%66. 66	%33.3 3	%6.66	60%	Ciprofloxacin
%50	0	%50	77.77 %	0	%22. 22	%93.3	0	%6.6	Piperacillin
%66. 66	0	%33. 33	55.55 %	0	%44. 44	%80	0	%20	Co-trimoxazole

تمت دراسة التراكيز المثبطة الدنيا للبكتيريا ل5 مضادات حيوية هي Amoxicillin و Cefotaxime و Streptomycin و Ciprofloxacin و Nalidixic acid . تشير النتائج الى أن قيم التراكيز المثبطة الدنيا لمضاد Amoxicillin تراوحت ما بين (1024-1024) مايكروغرام/مل لكل من *K. pneumoniae* ، *P.mirabilis* وتراوحت ما بين (64-1024) مايكروغرام/مل لعزلات *E. coli* . كانت قيم MICS لمضاد Cefotaxime ما بين (32-1024) مايكروغرام/مل للعزلات *K. pneumoniae* ، *P.mirabilis* ، *E. coli* يعزى سبب ارتفاع قيم التركيز

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة

عدنان نعمة العزاوي هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي

المثبط الأدنى لل عزلات قيد الدراسة لمضادات البيبتالاكتام (السيفوتاكسيم) الى وجود عدة ميكانيكيات للمقاومة في مقدمتها انتاج انزيمات البيبتالاكتاميز الكروموسومية مثل (10-OXA-7, OXA-6, OXA-5, OXA-4) (17). سجلت قيم MICS لمضاد Streptomycin ما بين (1024-128) مايكروغرام/مل لعزلات *E.coli* و *P.mirabilis* ، *K.pneumoniae* ، أخذت المقاومة لمضادات الامينوكلوليوسايدية (الستربتومييسين) بالتزايد بشكل ملحوظ في الآونة الأخيرة وهذه المقاومة قد تكون ناتجة عن إنتاج أنزيم من قبل البكتيريا المقاومة للمضاد والذي يقوم بتحويل المضاد وبالتالي يفقد فعاليته أو تأتي نتيجة لفقدان بعض بروتينات الغشاء الخارجي البكتيري مما يقلل في نفاذية المضاد إلى داخل البكتيريا (18)، سجلت قيم MIC_S لمضاد Ciprofloxacin لعزلات *E.coli* ، *P.mirabilis* ، *K.pneumoniae* ما بين (2-512)، (2-128)، (2-64) مايكروغرام/مل على التوالي، سجلت قيم MIC_S لمضاد Nalidixic acid ما بين (8-1024) لعزلات *E.coli* وما بين (1024-128) مكغم/ملييلتر لعزلات *P.mirabilis* و *K.pneumoniae* مايكروغرام/مل على التوالي ، تفسر مقاومة العزلات المحلية في هذه الدراسة للكويبولينات الى تعرض هذه العزلات الى حصول طفرات في الجينات المسؤولة عن تصنيع انزيمات (DNA gyrase)، او عن طريق الية الدفع المعتمد على الطاقة (19).

تمت دراسة الخلط بين المضادات الحيوية باستعمال طريقة رقعة الشطرنج والموصوفة من قبل (20) بحساب معامل التركيز المثبط (FIC) لـ 27 عزلة بكتيرية من كل نوع قيد الدراسة وتم انتقائها وفقاً لمقاومتها للمضادات الحيوية المستخدمة في الاختبار. في هذه الدراسة تم خلط مضاد Streptomycin و Ciprofloxacin مع Cefotaxime . وقد تمت تجربة خلط المضادات الحيوية بنسبة (1:0.5, 1:1, 1:2, 1:3) ومضاد ال Cefotaxime يمثل المادة الفعالة الثابتة التركيز في جميع نسب الخلط وتم تحديد نسبة الخلط الأفضل، فقد وجد ان نسبة خلط مضاد Streptomycin/ Cefotaxime ، Ciprofloxacin/ Cefotaxime بنسبة 1:3 هي الأفضل. اذ كان تأثير خلط مضاد Ciprofloxacin مع Cefotaxime بنسبة (1:0.5) تأثيراً تازرياً (Synergy) على (5) عزلات وبنسبة (18.5%)، (9) عزلات كانت غير متأثرة (Indifference) بهذا الخليط ، و(4) عزلات أظهرت تأثير الاضافة (Addition) للخليط ، (9) عزلات متضادة (Antagonism)، وسجلت (10) عزلات تأثيراً تازرياً (Synergy) وبنسبة (37.03%)، (8) عزلات كانت غير مؤثرة ، (4) عزلات اضافة، (5) عزلات متضادة عند الخلط بنسبة (1:1)، بينما اظهرت (14) عزلة تأثيراً تازرياً وبنسبة (51.85%) و(12) عزلة اضافة وعزلة واحدة تأثير متضادة عند الخلط بنسبة (1:2)، اما عند خلط المضادين بنسبة (1:3) اظهرت (22) عزلة من مجموع (27) عزلة قيد الدراسة تأثيراً تازرياً وبنسبة (81.48%) وعزلتان كانت اضافة و اخرى متضادة بينما اظهرت عزلة واحدة فقط تأثيراً غير مؤثر جدول (3).

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة

عدنان نعمة العزاوي هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي

جدول (3) النسبة المنوية لتأثير خلط مضاد Ciprofloxacin مع Cefotaxime وبتراكيز مختلفة.

النسبة المنوية	نوع التأثير	عدد العزلات	نسبة الخلط
18.52%	تأزري	5	1:0.5
33.33%	غير مؤثر	9	
14.82%	الإضافة	4	
33.33%	متضادة	9	
37.03%	تأزري	10	1:1
29.63%	غير مؤثر	8	
14.81%	إضافة	4	
18.52%	متضادة	5	
51.85%	تأزري	14	1:2
44.45%	إضافة	12	
3.70%	متضادة	1	
81.48%	تأزري	22	1:3
3.70%	غير مؤثر	1	
7.41%	إضافة	2	
7.41%	متضادة	2	

اما بالنسبة لمضادات المجموعة الامينوكلايكوسيدية التي شملت مضاد Streptomycin فقد أظهرت تأثير الخلط مع Cefotaxime بنسبة (1:0.5) تأثيراً تأزرياً ل (14) عزلة بكتيرية وبنسبة (51.85%)، (6) غير مؤثرة، (5) عزلات إضافة، وعزلتان متضادة. وأظهرت نسبة الخلط (1:1) تأثيراً تأزرياً ل (14) عزلة بكتيرية ايضاً وبنسبة (51.85%)، (11) عزلة إضافة، وعزلة واحدة متضادة وواحدة غير مؤثرة، أما عند خلط المضادين بنسبة (1:2) فقد أظهرت (19) عزلة تأثيراً تأزرياً (70.37%)، (6) عزلات إضافة وعزلتان فقط كانت غير مؤثرة. اما عند الخلط بنسبة (1:3) وكانت النسبة الافضل فقد اظهرت جميع العزلات قيد الدراسة تأثيراً تأزرياً ل (26) عزلة من مجموع (27) عزلة قيد الدراسة وبنسبة (96.29%) ما عدا عزلة واحدة فقط اظهرت تأثير إضافة جدول (4).

بينت الدراسات ان خلط مضاد من المجموعة الامينوكلايكوسيدية مع آخر من مجموعة البيتا لكتام يكون ذا فعالية عالية ضد البكتيريا وخاصة تلك التي تظهر مقاومة عالية للمضادات الحيوية (21) لكون مجموعة مضادات البيتا لكتام تؤثر في الجدار الخلوي للخلية البكتيرية في حين مضادات المجموعة الامينوكلايكوسيدية يكون تأثيرها على مواقع تصنيع البروتينات في الخلية (22).

ان التأثير التآزري لخلط المضادات يمكن ان يحدث في العديد من الحالات وربما حدث ضمن دراستنا عندما احد المضادات يعزز من دخول او نفاذية المضاد الثاني ويزيد من الفعل القاتل للجراثيم (23).

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة
عدنان نعمة العزاوي هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي
جدول (4) النسبة المئوية لتأثير خلط مضاد Streptomycin مع Cefotaxime وبتركيز مختلفة.

نسبة الخلط	عدد العزلات	نوع التأثير	النسبة المئوية
1:0.5	14	تأزري	%51.85
	6	غير مؤثر	%22.22
	5	الأضافة	%18.51
	2	متضادة	%7.41
1:1	14	تأزري	% 51.85
	1	غير مؤثر	% 3.70
	11	اضافة	% 40.74
	1	متضادة	% 3.70
1:2	19	تأزري	%70.37
	2	غير مؤثر	%7.41
	6	اضافة	%22.22
1:3	26	تأزري	%96.29
	1	اضافة	%3.70

استخلصت دراستنا هذه بان المضاد الحيوي Imipenem هو الأكثر فعالية على نمو العزلات البكتيرية المحلية قيد الدراسة وبنسبة 100% و خلط مضاد Streptomycin مع Cefotaxime و Ciprofloxacin مع Cefotaxime بنسبة (1:3) تعتبر الافضل بين نسب الخلط الاخرى حيث أظهرت العزلات قيد الدراسة تأثيراً تأزري كبير.

المصادر

1. Zangana, P.M. M. (2004). Isolation And Identification Of Aerobic Bacteria Before And After Sterilization In The Theatres And Wards Of Tikrit Teaching Hospital. THE Degree of Master ,College of Education ,Women University of Tikrit.
2. Brooks , G. F.; Butel , J. S.; Carroll, K. C. and Morse, S. A. (2007) . Jawetz , Melnick , J.L. and Adlebergs Medical Microbiology , 24th ed. A lange medical book.
3. العبيدي، رغد عبد اللطيف عبد الرزاق. (٢٠٠٦). دراسة بعض عوامل الضراوة للبكتريا المعزولة من ردهات الأطفال الخدج ومقاومتها لمضادات الحياة والمطهرات. رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

4. **Levin, S. and Karakusis, P. H.(1986).** Future trends in aminoglycoside therap. Am. J. Med. 80 (S6B): pp.190-194 .
5. **Eliopoulos, G., and R. C. Moellering, Jr.(1996).** Antimicrobial combinations, pp. 330–396. *In V. Lorian* (ed.), *Antibiotics in laboratory medicine*. The Williams & Wilkins Co., Baltimore, MD.
6. **Meletiadis, J.; Pournaras, S. ;Roilides,E. and Walsh ,T . J.(2010).** Defining Fractional Inhibitory Concentration Index Cutoffs for Additive Interactions Based on Self-Drug Additive Combinations, Monte Carlo Simulation Analysis, and *In Vitro-In Vivo* Correlation Data for Antifungal Drug Combinations against *Aspergillus fumigates*. *Antimicrob. Agents. Chemother* ,Vol. 54, No. 2.pp. 602–609.
7. **Olajuyigbe, O. O and Afolayan, A. J.(2012).** Synergistic Interactions of Methanolic Extract of *Acacia mearnsii* De Wild. with Antibiotics against Bacteria of Clinical Relevance. *Int. J. Mol. Sci* .13, pp.8915-8932; doi:10.3390/ijms13078915. ISSN: 1422-0067.
8. **Holt,J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H.A.; Staley, J.A.; and Williams, S.T.(1994).** Bergy, s Manual Of Derminative Bacteriology. (9th) ed. Williams & Wilkins.
9. **Vandepitte, J.; Engback, K.; Piot, P. and Heuck, G. (1991).** Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. WHO Switzerland.
10. **National Committee for Clinical Laboratory Standards(NCCLS) (2007) .** Performance standards for antimicrobial susceptibility testing ; seventeenth informational supplement . M100 - S17. USA .
11. **Stocks, E.J.; and Ridway, G.L.(1987).** Handling clinical specimens for microbiological studies 5th ed. Churchil living stone. (Cited). Pp.173–201.
12. **Koneman, E.W; Allen, S.D; Janda, W.M; Schreckenberger, P.C and Winn, W.C.J.(1992).** Color Atlas and Textbook Of Diagnostic Microbiology. (4th) ed. **J.B.Lippincott Company**. Philadelphia.
13. **Spanu, T.; Luzzaro, F.; Perilli, M.; Amicosanti, G.; Toniolo, A.; Fadda, G. and the Italian ESBL study group .(2002).** Occurance of extended-spectrum-B. lactamas and other antimicrobial drug. *Antimicrobial Agent and Chemotherapy*. Jun. Vol .46 ,No. 1 :pp. 196-202.
14. **Andrews, S. J. ; Brooks, P. T. and Hanbury, D. (2002).** Ultrasonography and abdominal radiography versus intravenous urography in investigation of urinary tract infection in men : Prospective incident cohort study. *BMJ* 324 – 454.
15. **Fluit, A.C.; Visser, M.R.; Schmitz, F.J. (2001).** Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clinical microbiology reviews*. Oct. 836-71.
16. **Karlowsky, J.A.; Kelly, L.J.; Thornsberry, C.; Jones, M.E. and Sahn, D.F.(2002).** Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from

مقارنة بكتريولوجية لبعض أجناس العائلة المعوية المعزولة من صالات
مستشفى الولادة في مدينة بعقوبة

عدنان نعمة العزاوي هادي رحمن رشيد الطائي دعاء عدنان كاظم العتبي

female outpatients in the United States. *Antimicrob Agents Chemother* Vol.46, No. 8
:pp.2540-2545.

17. **Danel, F.**; Hall, L.; Duke, B.; Gur, D. and Livremore, D. (1999) . OXA-17, a further Extended Spectrum Variant of OXA-10 B-Lactamase isolated from *Ps.aeruginosa* . *J. Anti.microbial. Agents Chemother.* 43:pp.1362-1366 .

18. الموسوي، بتول كاظم سلمان (٢٠٠٠). عزل وتشخيص بعض البكتريا السالبة لصبغة كرام من خمجات جروح العمليات الجراحية ودراسة التأثير الخلطي للمضادات الحيوية (دراسة وراثية). رسالة ماجستير، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

19. **Nakano, M.**; Degnchi, T.; Kawamura, T.; Yasuda, M.; Kimura, M.; Okano, Y. and Kawada, Y. (1997) . Mutation the *gyrA* and *parC* gene in fluroquinolone resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Antimicrob. Agent chemother* . 41 :pp. 2289 – 2291 .

20. **Mandal S,** Mandal MD, and Pal, N.K. (2004). Evaluation of combination effect of ciprofloxacin and cefazolin against *Salmonella enterica* serovar typhi isolates by in vitro methods. *Calicut Med J.* Vol.2, No. 2 .

21. **Ribera, E.**; Gomez-Jimenez, J.; Cortes, E.; Valle, O. D.; Planes, A.; Gonzalez-Alujas, T.; Almirante, B. and Ocana, I. (1996). Effectiveness of cloxacillin with gentamicin in short-term therapy for right sides *Staphylococcus aureus* endocarditis. *Annals of Internal Medicine.* Vol .125, No. 12 : pp.969-974 .

22. **Mcgrath, B. J.**; Bailey, E.M.; Lamp, K. C. and Rybak, M. (1992). Pharmacocodynamics of once –daily amikacin in various combination with cefepime, aztreonam and ceftazidime against *PS.aeruginosa* in vitro infection model. *Antimicrob. Agents. Chemother.* Vol.36, No. 12 : pp.2741-2746.

23. **Jawetz, E.** ; Brook, G.F. ; Butel, J.S. and Mores, S.A. (2001). *Jawets, Melnik and Adelberg's Medical Microbiology.* 22th.ed. Appelton and Land, New York.