

## تأثير الجمع بين مضادات الحياة على بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة سريريا

اسراء علي زيدان\* عبد الكريم عبدالرزاق القزاز\* علي صادق محمد\*

تاريخ قبول النشر 15 / 4 / 2009

### الخلاصة:

تضمنت هذه الدراسة جمع 75 عينة من مصادر سريرية مختلفة توزعت ما بين 50 عينة من مسحات الجروح و 12 عينة من حالات التهاب نخاع العظم و 8 عينات من الادرار و 5 عينات من حالات تجرثم الدم ، جمعت من المستشفيات المختلفة في مدينة بغداد ، وهي كل من مستشفى الكاظمية ، الواسطي ، الكندي اضافة الى مختبر الصحة المركزي ، اظهرت الفحوصات المظهرية والكيموحيوية عائلية 40 عينة لبكتريا *Staphylococcus aureus* تمت دراسة حساسية هذه العزلات تجاه 10 انواع مختلفة من مضادات الحياة اذ وجد ان غالبية العزلات تمتلك نمط المقاومة المتعددة ، اذ كانت (97.5%) من العزلات مقاومة لمضادات البيتا لاكتام و (70%) مقاومة للنتراسايكلين و (62.5%) مقاومة للمثبريم و (60%) مقاومة للسبروفلوكساسين و (55%) مقاومة لكل من كلورامفينيكول والاريثرومايسين و (52.5%) مقاومة للجنتاماييسين و (35%) مقاومة للريفاميسين و (10%) مقاومة للفانكوماييسين وعلى ضوء النتائج اعلاه انتخبت العزلة *S.aureus* II والمعزولة من حالات التهاب نخاع العظم لمقاومتها لجميع المضادات قيد الدراسة لاجل اعتمادها في اجراء التجارب اللاحقة حددت قيم التركيز المثبط الادنى (MIC) للعزلة المنتخبة تجاه 8 مضادات حيث اظهرت قدرة عالية على مقاومة تراكيث مختلفة منها تراوحت بين (390-12500) مايكروغرام /مليتر . و اظهر العلاج الخطي باستخدام مضادات مختلفة ومضاد الفانكوماييسين كان ذو تأثير تآزري عند الرجوع الى القيم القياسية المحددة لذلك (FIC).

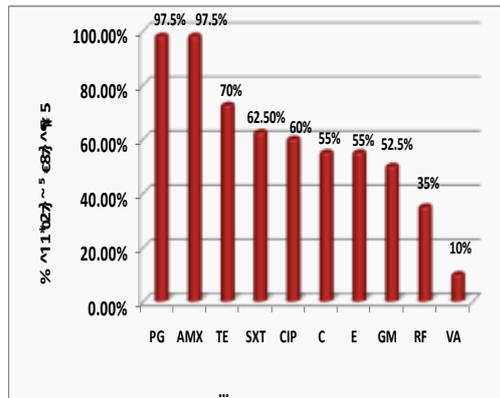
**الكلمات المفتاحية:** *Staphylococcus aureus*، الحساسية وMIC لمضادات الحياة، الجمع بين مضادات الحياة

### المقدمة

المضادات فعالية وتأثيراً على بكتريا الـ *S.aureus* ويعد هذا مؤشراً صحياً خطيراً ، دالاً بذلك على ان العلاج الحالي غير مناسب لهذه البكتريا نظراً لزيادة مقاومتها لمضادات الحياة بين الحين والآخر [5,6] فقد اشارت البحوث العلمية المستمرة الى ان ظهور الانواع المقاومة لمضاد الـ Vancomycin من بكتريا *Enterococcus faecalis* (المقاومة) الشائعة التواجد بالمستشفيات ادى الى نقل صفة المقاومة لهذا المضاد الى بكتريا *S.aureus* (الحساسية) [7] مما جعل من الضروري ايجاد وسائل جديدة لحل هذه المشكلة اذ اقترح [8] امكانية استعمال لقاح (Vaccine) ضد بكتريا *S.aureus* ، لكن مازال هذا الموضوع قيد الدراسة والبحث مع الاخذ بنظر الاعتبار جدوى استخدام مثل هكذا لقاح سريريا واقتصادياً . و نظراً لقلّة الدراسات التي تناولت طبيعة مقاومة هذه البكتريا لمضاد الـ Vancomycin ، و للاهمية السريرية التي تشكلها هذه البكتريا من حيث قدرتها على احداث المرض ومقاومتها

تُعد بكتريا *Staphylococcus aureus* من الممرضات المهمة التي تتميز بقدرتها على احداث انواع مختلفة من الاصابات في مواقع متعددة من الجسم وان امراضيتها مرتبطة بقدرتها على انتاج العديد من عوامل الضراوة التي تشمل انتاج الذيفانات والانزيمات الخارج خلوية وغيرها من العوامل الاخرى، مما يعطي البكتريا القدرة على التضاعف والانتشار داخل انسجة المضيف ، فضلاً عن مقاومتها العالية و المتعددة لمضادات الحياة ولا سيما التي تعود لمجموعة البيتا لاكتام والامينوكلايكوسايد مما جعلها من الممرضات الرئيسية المسببة للاخماج المكتسبة بالمستشفيات (Nosocomial infection) [1,2] ان قابلية انتقال صفة المقاومة لمضادات الحياة بين الانواع البكتيرية يشكل مشكلة صحية حقيقية ومن ضمنها المقاومة لمضاد الـ Vancomycin الذي يستخدم بديلاً لمضادات البيتا لاكتام لعلاج البكتريا الموجبة لصبغة غرام وبالاخص بكتريا *S.aureus* المقاومة للـ Methicillin [3,4] في الـ ونة الاخيرة ازدادت نسبة ظهور الاصابة ببكتريا *S.aureus* المقاومة لمضاد الـ Vancomycin الذي يعد اكثر

عالية لكل من مضاد PenicillinG و Amoxicillin حيث بلغت نسبة المقاومة 97.5% لكلا المضادين على الرغم من اختلاف موقع العزل ومصدره ، اما المقاومة لمضاد Tetracycline فقد كانت 70% ، ولوحظ ايضاً أن العزلات المحلية قيد الدراسة كانت ذات مقاومة مختلفة تجاه مضادات Co - trimoxazole ، Chloramphenicol ، Ciprofloxacin ، Erythromycin ، Gentamicin ، Vancomycin ، Rifampicin ، 60% ، 55% ، 55% ، 52.5% ، 35% ، 10% ) على التوالي .



شكل (1) نسبة المقاومة للعزلات المحلية لبكتريا *S. aureus* تجاه مضادات الحياة المختلفة

PG: PenicillinG, AMX: Amoxicillin, TE: Tetracycline , SXT: CO- , trimoxazole CIP: Ciprofloxacin, C: Chloramphenicol , E: Erythromycin Gentamicin. GM : . VA :Vancomycin  
RF : Rifampicin

يتضح من النتائج اعلاه امتلاك عزلات بكتريا *S. aureus* لمستويات عالية من المقاومة لمضادات البيتا لاكتام التي تشمل على PenicillinG و Amoxicillin . وتتفق هذه النتيجة مع نتائج العديد من الدراسات على هذه البكتريا التي اكدت مقاومتها للعديد من مضادات الحياة منها دراسة اجريت من قبل [12] على عزلات بكتريا *S. aureus* المعزولة من مصادر سريرية مختلفة اذ اظهرت مقاومة عالية بلغت اكثر من 90% . وقد اشارت العديد من الدراسات الى امتلاك هذه البكتريا جينات المقاومة لمضادات السيفالوسبورينات والبنسلينات كونها تنتج انزيمات  $\beta$ -lactamase التي قد تكون كروموسومية او بلازميدية المنشأ ، او نتيجة لحدوث طفرات في البروتينات المرتبطة بالبنسلينات (PBPS) (Penicillin Binding Proteins) الاكثر شيوعاً في البكتريا الموجبة لصبغة غرام [14,13] اما المقاومة لمضادات الامينوكلايكوسايد المتمثلة بمضاد Gentamicin فقد بلغت 52.5% التي قد

المتعددة والعالية لمضادات الحياة ، ارتأينا اجراء هذه الدراسة لاهميتها على الصعيدين الطبي والعلاجي، و تهدف هذه الدراسة الى ايجاد وسائل علاجية بديلة ومختلفة للتأثير في بكتريا *S. aureus* المقاومة لمضادات الحياة .

### المواد وطرائق العمل :

1- العزلات البكتيرية : جمعت 75 عينة من مصادر سريرية مختلفة (50 عينة من مسحات الجروح و 8 عينة من الاذرار و12 عينة من حالات التهاب نخاع العظم و 5 عينة من حالات جترتم الدم كما موضحة بالجدول رقم (1)

2- حساسية العزلات تجاه مضادات الحياة : اعتمدت الطريقة الواردة في [9] باستخدام وسط مولر هنتون اكاراذ تم نشرها ووضع اقراص مضادات الحياة عليها ومن ثم ترميتها لمدة 18 ساعة.

3- تحديد التراكيز المثبطة الدنيا لمضادات الحياة (MIC): اجري الاختبار للعزلة المنتخبة حسب الطريقة الموصوفة من قبل [9] باستخدام وسط مولر هنتون اكاراذ تم نشرالنمو البكتيري ووضعت اقراص مضادات الحياة عليها ومن ثم ترميتها لمدة 18 ساعة .

4- اختبار فعالية الجمع بين مضادات الحياة : اتبعت الطريقة الموصوفة من قبل [10, 11] اذ تم الجمع بين كل من مضاد الفانكوميسين ومضادات الالبنسلين ج ، الاموكسلين ، السبروفلوكساسين ، الكوترايموكسازول ، جنتاميسين ، الريفاميسين .

### النتائج والمناقشة :

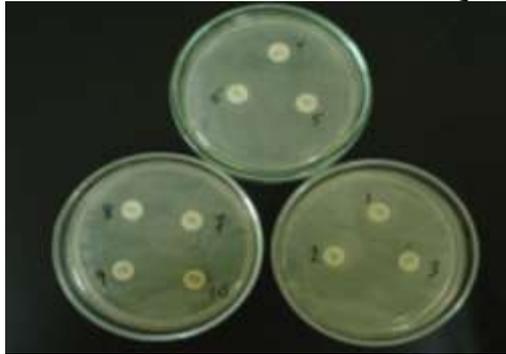
\* تشخيص العزلات : شخصت 40 عزلة بنسبة عزل بلغت 53.3% اعتمادا على الصفات المجهرية للمستعمرات والصفات المزرعية للخلايا البكتيرية وتم بعد ذلك تشخيصها حتى الجنس والنوع باتباع الفحوصات الكيويوية الخاصة بها والمبينة بالجدول رقم(2) اذ ظهرت العزلات تحت الفحص المجهرى بصورة ثنائية او رباعية او على هيئة عناقيد وموجبة لصبغة غرام وظهرت بشكل دائري املس الحواف مرتفعة قليلا على سطح الوسط .

### \* حساسية عزلات بكتريا *S. aureus*

اجري فحص الحساسية للعزلات المحلية لبكتريا *S. aureus* تجاه (10) انواع من مضادات الحياة اظهرت النتائج في الشكل (1) (الملحق 1) ان هناك تبايناً في مقاومة العزلات قيد الدراسة تجاه المضادات المستخدمة اذ اظهرت البكتريا مقاومة

على التعرف عليها . وكذلك فان وجود المواد البديلة باجسام المرضى (مثل الحوض البلاتيني وغيرها) يؤثر في انتاج الخلايا متعددة الانوية (Polymorphonuclear Cells) بموقع الاصابة [21] وهذا ما يفسره اختلاف حساسية البكتريا لمضادات الحياة حسب موقع العزل .

ان نسبة المقاومة لمضاد الفانكوميسين (10%) تزيد كثيرا عن النسبة التي وجدها [22] والتي بلغت 0.3% حيث وجد عزلتين مقاومتين من مجموع (630 عزلة) من بكتريا *S. aureus* . وقد يعزى سبب المقاومة الى حدوث تغيرات في مسار تصنيع الجدار الخلوي الحساس للمضاد مؤدية الى زيادة سمكه او قلة الارتباطات العرضية او زيادة النهاية D-Ala.D-Ala محدثة تغير في موقع الهدف لمضاد الـ [19] Vancomycin ، او قد تكون المقاومة ناتجة عن انتقال جينات مشفرة لصفة المقاومة لهذا المضاد والمحمولة على بلازميدات اقترانية او جينات قافزة من سلالات وانواع بكتيرية اخرى الى بكتريا *S. aureus* مكسبة اياها صفة المقاومة لهذا المضاد خلال فترة قصيرة [23,21] الشكل رقم (2) يبين مقاومة العزلة II *S. aureus* لجميع مضادات الحياة قيد الدراسة .



الشكل (2) يبين مقاومة العزلة II *S. aureus* لجميع مضادات الحياة النامية على الوسط الزرعي مولر هنتون اكار بدرجة حضانة 37م لمدة 18 ساعة.

1 : Vancomycin , 2 : Rifampicin , 3 : Gentamicin , 4 : PenicillinG  
5: CO-trimoxazole 6: Chloramphenicol  
7: Amoxicillin, 8: Ciprofloxacin ,9: Erythromycin,  
10: Tetracycline

ان نتائج هذه الدراسة اوضحت ان عزلات بكتريا *S. aureus* قيد الدراسة تمتلك مقاومة متعددة لمضادات الحياة ، هذا ما جعلها احدي مسببات الاخماج الحاصلة في المستشفيات وكذلك امتلاكها العديد من عوامل الضراوة و المتمثلة بانتاج الـ ذيفانات والانزيمات وغيرها من عوامل الضراوة الاخرى [15,4] ، مما تقدم ينصح لنا بان هناك اختلافاً في نسبة تأثير مضادات الحياة على بكتريا *S. aureus* حيث تراوحت بين 2.5% حساسة لمضادات البيتا لكتام (97.5% مقاومة) اما

يعود سببها الى وجود الجين المسؤول عن المقاومة لهذا المضاد الذي يشفر الى احداث تحوير بموقع الهدف 30S الذي يرتبط به المضاد مسبباً حدوث مقاومة لهذا المضاد [15].

ويمكن ان يعود سبب المقاومة لمضاد Tetracycline بنسبة 70% نتيجة لكثرة استعماله موضعياً لعلاج اخماج الجروح ، او الى حدوث طفرة تؤثر في نضوحية الغشاء الخارجي لهذا المضاد [16] (كما اظهرت العزلات مقاومة لمضاد Co-trimoxazole و Ciprofloxacin بنسبة 60% و 62.5% على التوالي . حيث اشار [17] الى ان مقاومة عزلات *S. aureus* لمضاد Ciprofloxacin تصل الى 90%. ولقد فسّر [18] ذلك بأن مضاد Ciprofloxacin هو من المضادات الشائعة الاستخدام لعلاج الكثير من الاصابات الجهازية لذا فمن الطبيعي ظهور مقاومة له لكثرة استعماله.

اما مقاومة Co-trimoxazole فقد يكون سببه حدوث طفرات وراثية تؤثر في المسار الايضى الذي يعمل عليه هذا المضاد [19] . كما اظهرت العزلات قيد الدراسة نسبة مقاومة متطابقة لمضاد Chloramphenicol ، Erythromycin حيث بلغت 55% لكل منهما . وقد ترجع المقاومة لمضاد Chloramphenicol نتيجة تحطيم الدواء بوساطة انزيم Chloramphenicol acetyl transferase اما بالنسبة لمقاومة البكتريا لمضاد Erythromycin فقد تعود لامتلاكها جينات مقاومة محمولة على بلازميدات تشفر لتحويل الموقع الهدف 50S (موقع ارتباط المضاد) مما يؤدي الى عدم قدرته على الارتباط به مسبباً مقاومة البكتريا له [16] ، بينما كانت العزلات اقل مقاومة لمضاد

Rifampicin والـ Vancomycin عندما بلغت 35% و 10% على التوالي . حيث يمكن ان تعود مقاومة العزلات لمضاد الـ Rifampicin الى حدوث طفرات وراثية تعمل على تغيير تركيب انزيم RNA Polymerase وبذلك يفقد المضاد القدرة على الارتباط به [20] لقد بدأت العزلات المقاومة من بكتريا *S. aureus* لمضاد الـ Vancomycin بالازدياد اذ بلغت نسبة العزلات قيد الدراسة المقاومة لهذا المضاد 10% ، ( اربع عزلات من اصل 40 عزلة) مقاومة لهذا المضاد

(*S. aureus* II, I2, I3, I4) المعزولة من التهاب نخاع العظم بينما العزلات الاخرى من مصادر مختلفة لم تبيد اي مقاومة لهذا المضاد ويمكن ان يعود سبب مقاومة هذه العزلات الى احاطة البكتريا نفسها بالطبقة اللزجة (Slime Layer) التي تنتجها بكميات كبيرة في مثل هذا النوع من الاصابات ، او انها تقلل نشاطها الى درجة كبيرة ، مما يجعل دفاعات الجسم غير قادرة

(3) له تأثير في البكتريا اكثر من بقية المضادات الاخرى ، فضلا عن ان البكتريا قيد الدراسة كانت حساسة بنسبة 90% (10% مقاومة) لهذا المضاد وبما ان مضاد الـ Vancomycin يعد من المضادات الرئيسية والمهمة في التأثير في بكتريا *S.aureus* التي بدأت تظهر مقاومة له في السنوات الاخيرة لذا ارتأينا اجراء التجارب اللاحقة، وذلك لتفعيل دور هذا المضاد عن طريق مزجه مع مضادات اخرى و مع مستخلص نباتي، حيث يكمن الخطر في العزلات التي اكتسبت مقاومة متعددة لمضادات الحياة في تحديد الدواء الامثل للعلاج وخاصة العلاج الخلطي الذي يتضمن اكثر من نوع من مضادات الحياة مثل مضاد الـ  $\beta$ -Vancomycin مضافاً له مضادات الـ  $\beta$ -lactam [11].

### \* تأثير الجمع بين مضادات الحياة في بكتريا *S.aureus* I1

اختبرت فعالية الجمع بين مضاد الـ Vancomycin ومضادات اخرى من مجاميع مختلفة والمتمثلة بمضاد Penicillin G و Amoxicillin و Cefotaxim من مجموعة مضادات  $\beta$ -lactam و Gentamicin من مجموعة Amioglycosides و Rifampicin و Rifampicins من مجموعة Ciprofloxacin و Rifampicins من مجموعة Quinolines و Co-trimoxazole من مجموعة Sulfonamides . ان سبب اختيار هذه المجاميع المتمثلة بالمضادات المذكورة اعلاه كان وفقاً لآليات تأثيرها المختلفة على العزلة المنتخبة *S.aureus* I1 (المعزولة من حالات التهاب نخاع العظم) التي اظهرت مقاومة متعددة لجميع مضادات الحياة قيد الدراسة .. يبين الجدول (3) قيم الـ MIC للمضادات قبل وبعد المزج حيث كانت 625 مايكروغرام /مليتر بينما تراوحت بين ( 2.4 -78.5) مايكروغرام /مليتر بالنسبة لمضاد الـ Vancomycin، وكانت بين (390-12500) مايكروغرام /مليتر (6.1-195.3) مايكروغرام /مليتر قبل وبعد الجمع للمضادات الاخرى على التوالي وتراوح عدد مرات زيادة فعالية مضاد الـ Vancomycin بعد مزجه مع المضادات الاخرى بين (8-260) مرة . كما يظهر الجدول (4) ايضاً قيم FIC $\Sigma$ ، FIC حيث كانت بين (0.00376-0.124)، (0.0116-0.139) على التوالي.

حيث اظهرت النتائج زيادة فعالية مضاد الـ Vancomycin باستخدام مضادات  $\beta$ -lactam حيث انخفضت قيمة MIC لمضاد الـ Vancomycin بمقدار 8 مرات في حالة المزج مع مضاد Cefotaxim و 16 مرة بالمزج مع Penicillin G و 32 مرة مع

تأثير مضاد الـ Vancomycin فقد تحسنت له بمقدار 90% من العزلات المدروسة (10% مقاومة) هذا يدل على مضادات الحياة لها تأثيرات مختلفة في البكتريا معتمدة على قدرة البكتريا على مقاومتها كما مبين بالشكل (3).



الشكل (3) حساسية العزلتين I38 و *S.aureus* I 35 لمضادات الحياة الناميتين على الوسط الزراعي مولر هنتون اكار بدرجة حضانة 37 $\pm$  لمدة 18 ساعة.

1: Ciprofloxacin , 2: Chloramphenicol, 3: Vancomycin, 4: PenicillinG, 5: Amoxicillin, 7: Gentamicin Tetracycline, 6:

### \* التركيز المثبط الادنى (MIC) لمضادات الحياة المختلفة على بكتريا I1

#### *S.aureus*

على ضوء نتائج التجربة السابقة تم انتخاب العزلة *S.aureus* I1 (المعزولة من حالات التهاب نخاع العظم) المقاومة لجميع مضادات الحياة قيد الدراسة ، لتحديد مدى قدرة هذه العزلة على مقاومة مضادات الحياة المختلفة من خلال عمل سلسلة من التراكيز المختلفة . بعد الحصول على البيانات الموضحة بالجدول (3) الذي يبين قيم MIC لهذه البكتريا التي كانت ( 625 ، 12500، 12500، 12500 ، 2500 ، 1562.5 ، 390 ، 781.25) مايكروغرام /مليتر لمضادات الحياة Amoxicillin, PenicillinG , Cefotaxim , CO-trimoxazole , Ciprofloxacin , Gentamicin , Rifampicin على التوالي . من خلال ملاحظة النتائج لقيم MIC المبينة اعلاه نجد ان البكتريا تمتلك مستويات عالية من المقاومة لهذه المضادات ، ومن جهة اخرى توضح لنا بأن تأثير هذه التراكيز يختلف حسب نوع مضاد الحياة فنلاحظ ان مضاد Gentamicin و Vancomycin أعطت اقل قيم (625-

390) مايكروغرام /مليتر على التوالي بينما البنسيلين والاموكسيسيلين أعطت اعلى قيم 12500 مايكروغرام /مليتر وبالاتماد على نتائج تجربة الحساسية واختبار الـ MIC تم اختيار مضاد الـ Vancomycin لانه وكما لاحظنا في الجدول رقم

الحالة غير معروف بالتحديد حيث يحتاج الى دراسة واسعة تشمل عزلات متعددة [11]. اما عن تأثير المزج بين مضاد الـ Vancomycin والـ Rifampicin فيتضح من النتائج انخفاض عالٍ بقيمة MIC للاول بمقدار 260 مرة حيث ان قيمة MIC له اصبحت 2.4 مايكروغرام /مليتر وبذلك اصبحت البكتريا حساسة لهذا المضاد. هذه النتيجة تدعم ما توصل اليه [25] والذي اشار الى ان المزج بين هذين المضادين يؤدي الى القضاء على الـ *S.aureus* وبتراكيز منخفضة عن التراكيز المطلوبة فيما لو استخدم كل مضاد على حدة وبذلك نتلافى التأثيرات الجانبية المرافقة لاستخدام هذين المضادين فيما لو استعملوا بجرعتهما المعهودة. ومما تجدر الاشارة اليه ان نتائج الجمع بين المضادات في هذه الدراسة كانت جميعها ذات تأثير تآزري حسب قيم  $\Sigma$ FIC Fraction Inhibitory Concentration التي يحصل عليها من جمع FIC(A) للمضاد الاول مع FIC(B) للمضاد الثاني حيث انها تعد مقياساً لتحديد نتيجة الجمع بين المضادات فاذا كانت قيمة  $\Sigma$ FIC اقل من 0.5 فان ذلك يدل على ان تأثير الجمع تآزري واذا كانت (0.5 - 2) فيدل على عدم اختلاف التأثير اما اذا كانت اكثر او تساوي 2 يكون ذلك دالاً على ان ناتج الجمع هو تضاد [29,30]؛ ولكن يبقى الاختلاف بقيم التراكيز المثبطة الدنيا (MIC) بعد المزج (والتي تعد مقياساً لمدى حساسية البكتريا لمضاد معين) من حيث دخولها المدى المسجل لقيم MIC القياسية.

ان الغرض من اجراء هذه التجربة هو لتفعيل دور مضاد الـ Vancomycin للتأثير في البكتريا ، حيث اظهرت النتائج ان المزج بين مضاد الـ Vancomycin ومضاد الـ Rifampicin اعطى اكثر تأثير من بقية انواع الجمع بين المضادات على البكتريا المدروسة.

#### الجدول (1) عدد العينات ومصدرها ومكان الحصول عليها

مكان جمعها	مصدر الاصابة	عدد العينات
مختبر الصحة المركزي، مستشفى الكاظمية التعليمي	تجرثم الدم	5
مستشفى الكاظمية التعليمي	ادرار	8
مستشفى الكندي، مستشفى الكاظمية التعليمي	جروح	50
مستشفى الواسطي	التهاب نخاع العظم	12
	المجموع	75

مضاد Amoxicillin ولكن عند مقارنتها بالجدول القياسية المبينة لذلك والتي تبين قيم التراكيز المثبطة الدنيا القياسية فنجد ان قيم MIC لمضاد الـ Vancomycin بعد مزجه مع Cefotaxim ومع Penicillin G كان اعلى من قيم MIC القياسية ، فبذلك تبقى هذه العزلة مقاومة لهذا المضاد. اما فيما يتعلق بمضاد Amoxicillin فان قيمة MIC للـ Vancomycin اصبحت اقل من قيمة الـ MIC القياسية فبذلك اصبحت العزلة حساسة لهذا المضاد.

ان هذه النتائج تتلائم الى حد ما مع كل من [25,26] حيث اوضح هؤلاء الباحثين ان المزج بين مضادات  $\beta$ -lactam ذات المدى الواسع التأثير في انواع البكتريا المختلفة مع مضاد Vancomycin يؤثر في نمو بكتريا *S.aureus* ذات المقاومة المتعددة لمضادات الحياة . اذ يؤدي الى زيادة تحفيز فعل مضاد الـ Vancomycin وبتراكيز اقل مما لو استخدم لوحده ولكن بالية غير معروفة بالتحديد.

اما عن المزج بين الـ Vancomycin و الـ Co-trimoxazole وبين Ciprofloxacin و الـ Vancomycin فزادت فعالية الـ

Vancomycin بانخفاض قيمة الـ MIC له بمقدار 64 مرة . حيث اصبحت قيمة الـ MIC له 9.7 مايكروغرام /مليتر بعد ان كانت 625 مايكروغرام/مليتر وهذه القيمة اقل من قيمة الـ MIC القياسية فبذلك اصبحت العزلة حساسة لهذا المضاد قد يعود السبب في هذه النتيجة الايجابية الى التأثير في هدفين حيويين بنفس الوقت حيث يؤثر Ciprofloxacin في تصنيع المادة النووية (DNA, RNA) بينما يؤثر الـ Vancomycin في بناء الجدار الخلوي للبكتريا . حيث ان تأثير مضاد الـ Vancomycin في الجدار الخلوي يسهل نفاذ مضاد Ciprofloxacin الى الهدف الذي يرتبط به، مما يؤدي الى زيادة تأثير المضادين . وكذا الحالة بالنسبة الـ Co-trimoxazole الذي يؤثر في العمليات الابضية و بالوقت نفسه يؤثر الـ Vancomycin على بناء الجدار الخلوي للبكتريا [11,27] وبالنسبة للمزج بين Gentamicin و الـ Vancomycin فنلاحظ انخفاض قيمة الـ MIC للاخير بمقدار 130 مرة وبذلك تصيح البكتريا حساسة للمضاد وبتراكيز 4.8 مايكروغرام /مليتر بعد ان كانت مقاومة له بتركيز 625 مايكروغرام /مليتر . هذه النتيجة جاءت مؤيدة لـ [28] الذي بين ان المزج بين مضاد الـ Vancomycin والـ Gentamicin يحفز فعل الاول ضد *S.aureus* خارج جسم الكائن الحي (*in vitro*) وان السبب الذي يقف وراء هذا التأثير غير معروف ، و ان تغيير نمط الحساسية بالنسبة لهذه

الجدول (2) الاختبارات الكيموحيوية لل عزلات المحلية المدروسة لبكتريا *S.aureus*

الاختبارات العزلات	الكتاليز	الايوكسيديز	انتاج الاستون	انتاج انزيم مخثر البلازما	تحلل الدنا	انتاج الهيمولايسين	تخمير المانيتول والنمو بتركيز ملحي
40Isolates	موجبة	سالبة	موجبة	موجبة	موجبة	تحلل من نوع $\alpha, \beta$	موجبة

الجدول (3) التراكيز المثبطة الدنيا (MIC) لمضادات الحياة المختلفة على بكتريا *S.aureus* I1 المقاومة لمضاد الـ Vancomycin .

قيم التراكيز المثبطة الدنيا (MIC) مايكروغرام/مليتر	المضاد
625	Vancomycin
12500	Cefotaxim
12500	Penicillin G
12500	Amoxicillin
2500	Ciprofloxacin
1562.5	Co-trimoxazole
390	Gentamicin
781.25	Rifampicin

الجدول (4) انواع المضادات المختلفة وقيم التراكيز المثبطة الدنيا (MIC) للمضادات قبل و بعد الجمع مع مضاد الـ Vancomycin وعدد مرات زيادة فعالية مضاد الـ Vancomycin و قيم FIC و  $\Sigma$  FIC لكل مضاد.

قيم $\Sigma$ FIC***	قيم FIC** لكل مضاد	عدد مرات زيادة فعالية مضاد الـ Vancomycin*	قيم (MIC) بعد الجمع $\mu\text{g/ml}$	قيم (MIC) قبل الجمع $\mu\text{g/ml}$	المضادات
0.139	0.124 0.015	8 .	78 195.3	625 12500	Vancomycin Cefotaxim
0.0702	0.0624 0.0078	16 .	39.0 97.6	625 12500	Vancomycin PenicillinG
0.0351	0.0312 0.0039	32 .	19.53 48.82	625 12500	Vancomycin Amoxicillin
0.0253	0.0156 0.0097	64 .	9.7 24.4	625 2500	Vancomycin Ciprofloxacin
0.0311	0.0156 0.0155	64 .	9.7 24.4	625 1562.5	Vancomycin Co-trimethazol
0.0376	0.0076 0.03	130 .	4.8 12.2	625 390	Vancomycin Gentamicin
0.0116	0.0038 0.0078	260 .	2.4 6.1	625 781.25	Vancomycin Rifampicin

\* عدد مرات زيادة فعالية مضاد الـ Vancomycin = قيمة MIC قبل الجمع (جدول 3-3) / قيمة MIC بعد الجمع

\*\* FIC = (قيمة MIC بعد الجمع مع المضاد الاخر / قيمة MIC قبل الجمع مع المضاد الاخر)

\*\*\*  $\Sigma$  FIC = FIC لمضاد الـ Vancomycin + FIC للمضاد الاخر

ملحق (1) حساسية العزلات المختلفة لبكتريا الـ *S.aureus* تجاه مضادات الحياة

العزلات	PenicillinG	Amoxicillin	Tetracycline	Co trimoxazol	Ciprofloxacin	Chloramphenicol	Erythromycin	Gentamicin	Rifampicin	Vancomycin	مصدر العزل
I33	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	ادرار
I34	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	
I35	R	R	R	S	R	S	S	R	R	S	
I36	R	R	R	S	R	R	S	R	R	S	
I37	R	R	S	R	S	R	R	S	S	S	
I38	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	
I39	R	R	R	S	S	R	S	R	S	S	تجرثم الدم
I40	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	

R: Resistant

S: Sensitive

## المصادر:

1. **Abbott , J .C.** 2003. Antimicrobial resistance trends : treatment: implications: implications for. J.Clin.Pharmacy, 126 : 118-129.
2. **Marcus,K.**2005.New bacteria on the block .J.Infect.Dis., 192 : 811- 818.
3. **Fluit,A.C.; Visser,M.R.; and Schmitz ,F-J** .2001. Molecular detection of antimicrobial resistance. Clin.Microbiol. Rev., 14(4) : 836-871.
4. **Liu,G.Y.;Essex,A.; Buchanan, J.T .;Datta,V.; Hoffman,H. M .;Bastian, J.F.;and Nizet,V.** 2005. *Staphylococcus aureus* golden pigment impairs neutrophil killing and promotes virulence through it's antioxidant activity.J.Exp. Med. 202 (2): 209 - 215.

العزلات	PenicillinG	Amoxicillin	Tetracycline	Co trimoxazol	Ciprofloxacin	Chloramphenicol	Erythromycin	Gentamicin	Rifampicin	Vancomycin	مصدر العزل
I15	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	جروح
I16	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	
I17	R	R	S	S	R	R	S	R	S	S	
I18	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	
I19	R	R	S	R	R	S	S	S	S	S	
I20	R	R	S	R	S	R	R	R	S	S	
I21	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	
I22	R	R	S	R	S	S	R	S	S	S	
I23	R	R	R	R	R	S	R	R	S	S	
I24	R	R	S	R	R	S	S	S	R	S	
I25	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	
I26	R	R	S	R	R	S	R	S	R	S	
I27	R	R	R	S	R	R	R	R	R	S	
I28	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	
I29	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	
I30	R	R	R	S	S	S	R	S	S	S	
I31	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	
I32	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	

- center.American Society for Microbiology.,48 (12): 4762-4765.
12. **Bozodogan, B. ; Ednie ,L.; Credito,K. ;Kosowska, K.;and Appelbaum, P.C.** 2004. Derivatives of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated at hershey medical center.American Society for Microbiology.,48 (12): 4762-4765.
  13. **Assadullah,S. ; Kakru,D.K. ; Thoker,M.A. ; Bath,F.A. ; Hussain,N.; and Shah,A.**2003. Emergence of low level vancomycin resistance in MRSA. Clin.Microbiol., 21 (3) : 196- 198.
  14. **Chambers, H. F** .2001. The changing epidemiology of *Staphylococcus aureus*?J.Infect. Dis.,7 (2) : 178 – 182.
  15. **Hanaki,H.**2004.Epidemiology and clinical effect against “beta-lactam antibiotic induce” .J. Antibiot.,78 (8) : 204-216
  16. **Booth,M.C.;Pence,L.M.;Mahasre shti,P.; and Gilmore,M. S.**2001. Clonal associations among *Staphylococcus aureus* isolates from various sites ofinfection . Infect.Immun.,69 : 345 - 352.
  17. **Blondeam,J.M.; Yaschuk,Y.; Suter,M.; and Vaughan,D.** 1999.*In vitro* susceptibility of respiratory tract pathogens and urinary tract pathogens against 11 antimicrobiol .J.Antimicrob. Chemother.,43 : 3 - 23.
  18. **James,M.**2007. The emergence of antibiotic resistant bacteria. Health.Red.Orbit ., 6(2) : 23-36.
  19. **Reipert,A.; Ehlert,K.; Kast,T.; and Bierbaum,G.** 2003. Morphological and genetic differences in two isogenic *Staphylococcus aureus* strains with decreased susceptibilities to vancomycin .J.Antimicrob.Agents Chemother., 47(2) : 568-576
  5. **Manfredi,R.** 2007. Therapeutic perspectives of linezolid in the management of infections due to multiresistant gram positive pathogens .J.Med., 98 (3) :143-154
  6. **Shelburne,S.A.; Musher,D.M.; Hulten,K.; and Lu,M.Y.** 2004. *In vitro* killing of community associated methicillin resistant *Staphylococcus aureus* with drug Combinations. J. Antimicrob. Agents Chemother., 48(10):1585-1592.
  7. **Senn,M.M.; Giachino,P.; Homerova,D.; Cteinhuber, A.; Strassner, J.;Kormanec,J.;Flückiger,U.;Berger- Bächli, B.;and Bischoff,M.** 2005. Molecular analysis and organization of the  $\delta^B$  operon in *Staphylococcus aureus* .,187 (23) : 8006 - 8019.
  8. **Stranger-Jones,Y.K.; Bae,T.; and Schneewind,O.**2006. Vaccine assembly from surface proteins of *Staphylococcus aureus* .National Academy of Sciences., 103(45) : 16942 - 16947.
  9. **Baron, E.J.; Pelerson, L. R.; and Finegold, S.M.** 1994. *Enterobacteriaceae*.In: Baiely and Scott's Diagnostic Microbiology, (9<sup>th</sup>ed.), Mosby –year book Inc,USA.
  10. **Miranda-Navales,G.M.; Miranda,B.E.; Perez,M.V. ; and Santos, F.S.** 2006 . *In vitro* activity effects of combinations of cephalothin, dicloxacillin ,imipenem vancomycin and amikacin against methicillin resistant *Staphylococcus spp.* strains.J.Clin.Microbiol and Antimicrob., 5 (25) :1-9.
  11. **Bozodogan, B. ; Ednie ,L.; Credito,K. ;Kosowska, K.;and Appelbaum, P.C.** 2004. Derivatives of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* strain isolated at hershey medical

- amikacin against methicillin resistant *Staphylococcus spp* strains. *J.Clin.Microbiol and Antimicrob.*, 5 (25) :1-9.
26. **Green,M.;Barbadora,K.; and Wadowsky,R.M** . 1994. Simple test of synergy between ampicillin and vancomycin for resistant strains of *Enterococcus faecium* .*J.Clin.Microb.*,32(11) : 2837-2839
27. **Auerbach,T.; Bachan,A.; and Yonath,A.** 2004.Ribosomal selectivity Antibiotic : structural basis for resistance , synergism and .*J. Biotech.*, 22 (11) : 67- 72
28. **Gleckman,R.A.; and Czachor, J.S.** 2000 .Antibiotic side effects. *Med .J.*, 21 (1): 53 - 60.
29. **Raymond,J.; Vedel,G.; and Bergeret,M.** 1996. *In vitro* activity of cefepirome in bactericidal combination with vancomycin against *Staphylococcus aureus* and coagulase negative *Staphylococci* . *J.Antimicrob.Agents Chemother.*, 38 : 1067 - 1071..
30. **Orhan, G.;Bayram,A.; and Balci,I.** 2005.Synergy tests by E test and chequerboard methods of antimicrobial combinations against *Brucella melitensis* .*J.Clin. Microbiol.*, 43(1) : 140 - 143.
20. **Brooks, G .F. ;Butel , J.J. ;and Morse , S.A.** 2004. Medical 8. Microbiology .Jawetz, Melnick and Adelbergs.(23<sup>rd</sup> ed.). Mc Grow-Hill Companies.NewYork. 198 - 200.
21. **Ciampolini,J. ; and Harding ,K.** 2000 . Pathophysiology of chronic bacterial osteomyelitis. Why do antibiotics fail so often ? .*Postgrad .Med .*,76 : 479 – 483.
22. **Srinivasan,A.; Dick,J.D.; andperl,T.M.**2002. Vancomycin resistance in *Staphylococci* .*Clin. Microbiol.*, 15(3) : 430- 438.
23. **Reipert,A.; Ehlert,K.; Kast,T.; and Bierbaum,G.** 2003. Morphological and genetic differences in two isogenic *Staphylococcus aureus* strains with decreased susceptibilities to vancomycin .*J.Antimicrob.Agents Chemother.*,47(2) : 568-576.
24. **Jacobs,M.**2005. Epidemiology and clinical implications of glycopeptides resistant *Staphylococcus aureus* .*Infect .Dis.* 7 : 1023-1028 .
25. **Miranda- Novales, G.M.; Miranda, B.E.; Perez,M.V. ; and Santos, F.S.** 2006 . *In vitro* activity effects of combinations of cephalothin, dicloxacillin ,imipenem vancomycin and

## Effect the combination of antibiotics on clinical isolates of *Staphylococcus aureus*

*Issra Ali Zaidan\**

*Abdul Kareem A.AL-Kazaz\**

*Ali Sadique Mohammed\**

\*Biotechnenology Dept. , College of science, University of Baghdad, Baghdad, Iraq

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, Antibiotic susceptibility and MIC tests, combination of antibiotics

### **Abstract:**

A total of 75 different clinical samples were collected from different hospitals in Baghdad. Biochemical and morphological characterization tests showed that forty isolates were identified as *Staphylococcus aureus*. Antibiotic susceptibility tests of all isolates towards ten antibiotics were carried out and results showed that many isolates (97.5 %) were resistant to  $\beta$ -lactam antibiotic, 70 % were resistant to Tetracycline, 62.5% were resistant to co-trimoxazole, 60 % were resistant to ciprofloxacin, 55% were resistant both of chloramphenicol and erythromycin, 52.5% were resistant to gentamicin, 35% were resistant to rifampicin, 10% were resistant to vancomycin. According to the above results the *S.aureus* II which is isolated from patients with osteomyelitis showed resistant to all ten antibiotics therefore was used in the followed experiments. The minimum inhibitory concentration (MIC) of *S.aureus* II vancomycin, cefotaxim, penicillin G, amoxicillin, ciprofloxacin, co-trimoxazole, gentamicin, rifampicin was checked. The results showed that isolates had MIC between (390-12500)  $\mu\text{g/ml}$ . The combination of different antibiotics with vancomycin showed synergistic effect based on the Fractional inhibitory concentration index (FIC).