تأثير خلط المضادين الارثرومايسين والكلندامايسين على بكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من مصادر سريرية مختلفة

هادي رحمن رشيد الطائي[1]،عباس عبود فرحان الدليمي [2] و أسماء أحمد جياد[3]

[1] قسم علوم الحياة - كلية العلوم – جامعة ديالى

[2,3] قسم علوم الحياة - كلية التربية للعلوم الصرفة - جامعة ديالى

الخلاصة

تم عزل وتشخيص 10 عزلات لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية من 211 عينة جمعت من مصادر سريرية مختلفة للفترة من 2015/9/10 ولغاية 2016/1/1 وكانت اعلى نسبة عزل من مسحات الجروح 9.5% ومن ثم المسحات المهبلية بنسبة 8% ،و مسحات الحروق 6.9% ، ومسحات البلعوم 4% ، ومسحات الاذن بنسبة 1.6 % . أظهرت نتائج التحري عن عوامل الضراوة ان جميع العزلات لها القابلية على انتاج الهيمولايسين بنسبة 100 % ، بينما كانت8 عزلات بنسبة 80% لها القابلية على انتاج الستافيلوكاينيز ، ،و كانت 9 عزلات بنسبة 90% تمتلك لمضخات الدفق اختبرت حساسية العزلات تجاه اثنى عشر مضاداًحياتياً ،اظهرت النتائج ان جميع العزلات تمتلك مقاومة لمضاد Penicillin G بنسبة 100 % ، و Erythromycin 60 %، وبلغت نسبة المقاومة لمضاد Clindamycin بنسبة 50 % ،اما المقاومة لمضاد Vancomycin فكانت بنسبة 40 % و ،وبلغت نسبة المقاومة لمضاد Gentamicin 40 % وحدد التركيز المثبط الادنى MIC لـ 2 من مضادات الحياة وهي Erythromycin و Clindamycin ، وقد تراوحت هذه القيم للمضادات مابين (256-1024) ،(64- 1024) مكغم /مل على التوالي أظهرت نتائج خلط مضاد Erythromycin مع Clindamycin حدوث انخفاض كبير في مديات MIC للمضادات بعد عملية الخلط مماهي عليه في حالة استعمال كل مضاد لوحده . كما واظهرت النتائج ان نسبة الخلط (1:3) تعد الافضل بين النسب الاخرى حيث بينت جميع العزلات قيد الدراسة تاثيراً تازرياًعلى 9 عزلات من مجموع 10 عزلات بنسبة 90 % . بينت نتائج خلط مضاد Clindamycin مع Erythromycin حدوث انخفاض كبير في مديات MIC للمضادات بعد عملية الخلط واظهرت النتائج ان نسبة الخلط (1:2) و(1:3) هي الافضل بين النسب الاخرى اذ بينت جميع العزلات قيد الدراسة تاثيراً تازرياً على 7 و9 عزلات بنسبة 70 % و 90 % على التوالي . بينت نتائج المحتوى البلازميدي لعزلات *S . aureus* ، بانها حاوية على حزمة بلازميدية واحدة .

كلمات مفتاحية : المكورات العنقودية الذهبية ، رقعة الشطرنج ، الارثرومايسين ، الكلندامايسين

تأثير خلط المضادين الارثرومايسين والكلندامايسين على بكتريا
Staphylococcus aureus المعزولة من مصادر سريرية مختلفة

هادي رحمن رشيد الطائي ، عباس عبود فرحان الدليمي و أسماء أحمد جياد

Combination effect of Erythromycin And Clindamycin On *Staphylococcus Aureus* , Isolated From Different Clinical Sources .

Hadi R. Rasheed Al Taai [1] , Abbas. A. Farhan Al-Dulaimi [2] and Asmaa Ahmed Chiad[3]

[1]Biology Department - College of Pure Sciences
[2],[3]Biology Department - College of Education for Pure Sciences
[1] hadialtaai@sciences.uodiyala.edu.iq
[2] Abass.abood@puresci.uodiyala.edu.iq
[3]haymon.mony@yahoo.com

Received 27 September 2016 Accepted 2 November 2016

Abstract

The study included isolation and diagnosis 10 isolates o from *Staphylococcus aureus* out of 211 samples collected from different infectious sources for the period from 10/09/2015 to 1/1/2016. The highest rate for the isolation these bacteria from wounds swabs was 9.5%, and vaginal swabs were 8%. Burns swabs 6.9%, pharynx was 4 %, and ear swabs was 1.6. The results of investigating the virulence factors for Staphylococcus bacteria isolates showed that all isolates have ability to produce Hemolysin by 100 % , it, but for the Staphylokinase by 80% have the ability to produce it, while for the production efflux pumps was 9 isolates by 90%. The investigation of the sensitivity of isolates against 12 antibiotic , showed that all isolates were resistant to the Penicillin G by 100% , while the isolates were resistante to Erythromycin by 60% , The resistant for Clindamycin was 50%, while the resistance of for Vancomycin was 40%, and the resistance for Gentamicin was 40%. The Minimum Inhibition Concentration MIC for 2 of antibiotics i .e. Erythromycin, Clindamycin antibiotic have ranged between (256-1024), (64-1024), µg / mL, respectively Results of mixing Erythromycin with Clindamycin showed a significant reduction in the ranges of MIC of antibiotics after the mixing process than it is in the case of the use of each antibiotic alone. The results also showed that the mixing ratio (1: 3) is the best among the other ratios where all the isolates under study showed synergistic effect on nine isolates out of 10 isolates by 90 %. The results of mixing Clindamycin

with Erythromycin showed a significant reduction in the ranges of MIC of antibiotics after the mixing process and the results showed that the mixing ratio (1: 2 and 1: 3) is the best among other proportions as it showed that all the isolates under study have synergistic effect on 7 and 9 isolates by 70% and 90% . Results of plasmid profile of *S. aureus* isolates showed one band

Keywords: *Staphylococcus aureus* , Checker board assay Erythromycin , lindamycin

المقدمة

تعد بكتيريا *Staphylococcus aureus* موجبة لصبغة كَرام غير متحركة وغير مكونة للسبورات تمثل جزءا من النبيت الطبيعي للانسان الا انها تعد من الجراثيم التي يمكن ان تسبب اخماجا خطيرة عند حدوث خلل او اصابات في جلد الانسان او اضطرابات في جهازه المناعي مثل التهاب السحايا meningitis وذات الرئة Pneumonia والتهاب شغاف القلب Endo carditis والتهاب المفاصل الرثياني Rheumatoid Arthritis (1) يقدر الحاملون Carriers للنوع *S. aureus* في مقدمة مناخرهم بـ 30% الا انها تعد من الجراثيم التي يمكن ان تسبب اخماج خطيرة عند حدوث خلل او اضطرابات في دفاعات جسم العائل المناعية وتزداد هذه النسبة لدى الاشخاص العاملين في المستشفيات (2) . سجلت العديد من الدراسات ازدياد معدل الوفيات بسبب بكتريا *S.aureus* وازدياد معدل الهلاكات Mortality وخصوصا في الولايات المتحدة الامريكية وبريطانيا واليابان بسبب امتلاكها للعديد من عوامل الضراوة فضلا عن ذلك مقاومتها للعديد من مضادات الحياة (3). تحدث الاصابات بهذا النوع من البكتريا عند دخولها الى الانسجة وذلك عن طريق الجروح Wounds او عن طريق الخدوش Abrasions او عن طريق ملامستها لسطح الانسجة الجلدية للعائل اذ تحدث اضطرابا وخللا في هذه الانسجة وذلك عن طريق افرازها لعدد من الانزيمات منها Lipase المحلل للدهون وانزيم Hyaluronidase الذي يساعد البكتريا على الانتشار وتحطيم المادة الاساس للنسيج الرابط (4) . من اهم الحالات المرضية التي تسببها هذه البكتريا للانسان هي اخماج القناة البولية Urinary Tract Infection (UTI) ومتلازمة العدسات السمية Toxic Lens Syndrom بعد وضع العدسات والتهاب بطانة القلب والتجرثم الدموي وخراجات الجلد والتهاب صمام القلب الولادي (5). كما ان ايدي الكادر الطبي الملوثة في المستشفيات تلعب دورا مهما في انتقال وانتشار عدوى الاصابة MRSA الى الاجهزه والوحدات الطبية وخصوصا اجهزة القسطرة والغسيل الكلوي (6) . تمتلك بكتريا *Stapylococcus aureus* العديدة من عوامل الضراوة التي تساعدها على احداث الامراضية ومنها انتاج الهيمولايسين والذي يعد احد انواع الذيفانات Toxins التي تفرزها البكتريا اذ يقوم بتحليل كريات الدم الحمراء Erythrocytes والصفيحات الدموية الدموية Platelets (7) وانتاج الستافيلوكاينيز الذي له القابلية على تحليل خثرة الليفين Fibrin clot وهذا بدوره يسمح للبكتريا بالانتشار خلال انسجة العائل من الجروح والحروق والخدوش مما يؤدي الى حدوث التهابات جلدية (8) وكذلك امتلاك البكتريا لمضخات الدفق التي تتخذها البكتريا في مقاومة اصناف مختلفة من مضادات الحياة (9) . تعد تقنية رقعة الشطرنج Chekerboard هي احدى

اليات او ميكانيكيات دمج مضادات Mechanism of antimicrobial Combination ويمكن تطبيق هذه الميكانيكية باستخدام وسط مولر – هينتون الصلب Muller – Hinton agar وتدعى بطريقة حساب قيم المعامل الجزئي لتثبيط التراكيز(FIC) Fractional Inhibitory Concentration تعتمد هذه الطريقة على قياس التركيز المثبط الادنى (MIC) للمضادات (10 و11) وجاءت هذه الدراسة لتسلط الضوء على تأثير خلط المضادين الارثرومايسين والكلندامايسين على نمو *S.aureus* المعزولة من مصادر سريرية مختلفة .

المواد وطرائق العمل

العزل والتشخيص

جُمعت (211) عينة للتحري عن بكتريا *Staphylococcus aureus* من مصادر سريرية مختلفة تضمنت (29) عينة من الحروق ، (21) عينة من الجروح ، (60) عينة من الاذن ، (76) عينة من البلعوم ، (25) عينة من المسحات المهبلية وان هذه العينات قد جمعت في الفترة من 2015/9/10 ولغاية 2016/1/1 . وزرعت العينات على وسط الدم الصلب ، وشخصت العزلات البكتيرية بالاعتماد على الصفات المظهرية و الصفات المجهرية بالاضافة الى التشخيص بجهاز Vitik 2 .

التحري عن بعض عوامل الضراوة في البكتريا

اختبار قابلية البكتريا على انتاج الهيمولايسين : خطط المزروع البكتيري المراد فحص قابليته على انتاج الهيمولايسين على وسط الدم الصلب وحضن بدرجة حرارة 37م° لمدة 24 ساعة ، (12) .

الكشف عن قابلية البكتريا على انتاج الستافيلوكاينيز

أُلقحت العزلات البكتيرية على وسط Staphylokinase وحُضنت الاطباق في 37م° لمدة 24ساعة وقرأت النتيجة الموجبة بوجود تحلل حول المستعمرات البكتيرية النامية (13) .

اختبار البكتريا على امتلاكها لمضخات الدفق

اجري هذا الاختبار للكشف المظهري عن مضخات الدفق بأستخدام طريقة العجلة الخشبية EtBr-agar Cart Wheel Method بحسب ماجاء في (14)

اختبار حساسية البكتيريا لمضادات الحياة

الذهبية تجاه اثنى عشر مضاد حياتي من مجاميع مختلفة بأستخدام طريقة اختبرت حساسية عزلات المكورات العنقودية ومن خلالها تم تحديد حساسية العزلات او مقاومتها للمضادات المايكروبية وبالاعتماد على قياس Kirby-Bauerالاقراص) على CLSI, 2012قطر منطقة التثبيط بالملمتر حول اقراص المضادات المستخدمة ، كما وقورنت النتائج بما ورد في (و **Erythromycin** و **Penicillin G** وسط اكار مولر-هنتون بحسب ماورد في (15) . وشملت المضادات

و Vancomycin و Gentamicin و Chloramphenicol و Azithromycin و Clindamycin و Gatifloxacin و Tobramycin و Ciprofloxacin و Tetracyclin و Amikacin

تحديد التركيز المثبط الادنى

اتبعت طريقة التخافيف المتسلسلة المتضاعفة (Double dilution method) في وسط مولر-هنتون الصلب وحسب ماجاء في (16) لكل من مضادات الحياة Erythromycin و Clindamycin .

خلط المضادات

تم حساب قيم المعامل الجزئي لتثبيط التركيز (FIC) Fractional Inhibitory Concentration FlC index بالاعتماد على (17 و 18) .

استخلاص الدنا البلازميدي والترحيل الكهربائي في هلام الاكاروز

تم استخلاص الدنا البلازميدي وترحيله كهربائيا بالاعتماداً على تعليمات الشركة المجهزة من قبل (Promega U.S.A).

النتائج والمناقشة

العزل والتشخيص

العزل Isolation : تم الحصول على 10 عزلات من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية من مجموع 211 عينة من مصادر سريرية مختلفة هي الجروح والحروق والتهابات الاذن الوسطى والبلعوم والمسحات المهبلية وبنسبة 4.7% من المجموع الكلي ويوضح الجدول (1) عدد العزلات ونسبها حسب مصدر الاصابة.

جدول (1) عدد العزلات ونسبها حسب مصدر الاصابة

نوع العينة	عدد العينات	عدد العزلات (%)
الجروح	21	2 (9.5)
الحروق	29	2 (6.9)
بلعوم	76	3 (4)
اذن	60	1 (1.6)
مسحات مهبلية	25	2 (8)
المجموع	211	10 (4.7)

تم تشخيص العزلات البكترية للنوع *Staphylococcus aureus* اعتمادا على صفاتها المجهرية من خلال ملاحظة شكل خلاياها وانتظامها وطريقة ترتيبها وتلوينها بصبغة كرام فقد وجدت خلايا كروية الشكل عنقودية الترتيب تشبه عناقيد العنب

Grape Like Shape موجبة لصبغة كرام (15) كما واخضعت العزلات البكتيرية للفحوصات الزرعية بحيث نميت على وسط الدم الصلب في ظروف هوائية وبدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة ، فظهرت مستعمرات متوسطة الى كبيرة الحجم تراوحت اقطارها ما بين 3 – 1 ملم ذات حافات منتظمة وملساء ومحدبة ولماعة تحاط هذه المستعمرات بمنطقة تحلل hemolysis (15).

كما واظهرت الفحوصات الكيموحيوية Biochemical test نتائج تفريقيه وتشخيصيه للعزلات قيد الدراسة و للتاكد من تشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بدقة فقد استعمل جهاز Vitek 2 الذي يعطي نتائج تشخيصية للبكتريا بدقة تصل الى 99% .

التحري عن بعض عوامل الضراوة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية

انتاج الهيمولايسين

اظهرت النتائج ان جميع عزلات جنس المكورات العنقودية الذهبية لها القدرة على انتاج الهيمولايسين وبنسبة 100% ، اذ تطابقت تلك النتائج مع ما توصلت له (19)اذ وجدت ان جميع العزلات منتجة للهيولايسين وبنسبة 100% .

انتاج الستافيلوكاينيز : بينت النتائج ان 8 عزلات بنسبة 80% لها القابلية على انتاجه اذ تقاربت تلك النتائج من ما توصل اليه (20)الذي بين ان 7عزلات من اصل 12 عزلة و بنسبة 60% من المكورات العنقودية لها القابلية على انتاج هذا الانزيم .

انتاج مضخات الدفق

اظهرت النتائج ان 9 عزلات بنسبة 90% تمتلك مضخات دفق توافقت نتائج دراستنا الحالية مع ما توصل اليه (21) اذ بين ان 23 عزلة من اصل 49 عزلة تعود لـ *S. aureus* والمعزولة من مصادر سريرية مختلفة من مستشفيات البرتغال كانت تمتلك لمضخات الدفق ووجد (22) ان 52% من عزلات بكتريا *S.auruse* المعزولة من مصادر سريرية في بغداد تمتلك لمضخات الدفق .

جدول (3) يبين نتائج التحري عن بعض عوامل الضراوة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية

عوامل الضراوة	عدد العزلات	عدد العزلات المنتجة لعوامل الضراوة والنسبة المئوية
انتاج الهيمولايسين	10	10 (100%)
انتاج الستافيلوكاينيز	10	8(80%)
انتاج مضخات الدفق	10	9(90%)

اختبار حساسية بكتريا المكورات العنقودية الذهبية لمضادات الحياة

يبين جدول (4) نتائج اختبار حساسية عزلات المكورات العنقودية الذهبية تجاه اثنى عشر مضاد حياتياً حيث أوضحت النتائج أن جميع العزلات تمتلك مقاومة ضد مضاد Penicillin G وبنسبة 100% ولمضاد Erythromycin60% ولمضاد Clindamycin50% بينما كانت حساسة لمضاد Tobramycin بنسبة100%

جدول (4)عدد عزلات المكورات العنقودية ونسبها المقاومة والحساسة لمضادات الحياة

S	I	R	مضادات الحياة	S	I	R	مضادات الحياة
8(80)	1(10)	1(10)	Chloramphenicol	0(0)	0(0)	10(100)	Penicillin G
6(60)	3(30)	1(10)	Amikacin	3(30)	1(10)	6(60)	Erythromycin
5(50)	4(40)	1(10)	Tetracycline	3(30)	1(10)	6(60)	Azithromycin
5(50)	3(30)	2(20)	Ciprofloxacin	6(60)	0(0)	4(40)	Vancomycin
10(100)	0(0)	0(0)	Tobramycin	6(60)	0(0)	4(40)	Gentamicin
7(70)	1(10)	2(20)	Gatifloxacin	2(20)	3(30)	5(50)	Clindamycin

تحديد التركيز المثبط الادنى (MIC)

حدد التركيز المثبط الادنى لعزلات البكتريا بالاعتماد على نقطة التوقف (Bp) المثبتة في 2012CLS كما في جدول (5) وتشير النتائج الى ان قيم التراكيز المثبطة الدنيا لمضاد Erythromycin تتراوح بين (256-1024) و لمضاد Clindamycin تراوحت بين (64-1024) توافق نتائج دراستنا مع (23) الذي اشار الى ان قيم MIC لمضاد Erythromycin بلغت 240 مكغم / مل وللـ Clindamycin 64 مكغم / مل.

جدول (4) قيم التركيز المثبط الادنى لمضادات الحياة لعزلات المكورات العنقودية الذهبية

Clindamycin	Erythromycin	رقم العزلة	Clindamycin	Erythromycin	رقم العزلة
64 µglml	64 µglml	نقطة التوقف	64 µglml	64 µglml	نقطة التوقف
128	1024	**6**	256	256	**1**
1024	1024	**7**	64	256	**2**
128	512	**8**	1024	512	**3**
64	512	**9**	128	256	**4**
64	512	**10**	128	512	**5**

التأثير الخلطي لمضادات الحياة

تمت دراسة الخلط بين مضادات الحياة باستعمال طريقة رقعة الشطرنج Checker board assay والموصوفة من قبل (17 و 18) بحساب معامل التركيز المثبط الادنى FlC . فقد وجد ان نسبة الخلط Erythromycin مع Clindamycin بنسبة (1:3) هي الافضل من خلال ملاحظة نوع التأثير الناتج من نسب الخلط على عزلات *S . aureus* . وتبين الجداول (5) ، (6) ، (7) ، (8) حدوث انخفاض كبير في قيم التركيز المثبط الادنى MlC للمضادات بعد عملية خلط مضاد Erythromycin مع مضاد Clindamycin وبنسب (1:0.5 ، 1:1 ، 1:2 ، 1:3) على عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* مما هي عليه في حالة استعمال كل مضاد لوحده .

جدول (5) تأثير خلط مضاد (E) Erythromycin مع Clindamyicin (CD) بنسبة (0.5 : 1) في قيم التراكيز المثبطة الدنيا لبكتريا *S. aureus*

رقم العزلة	قيم MIC بتركيز 0.5 : 1				
	E لوحدة مايكروغرام/مل	CD لوحدة مايكروغرام/مل	الخليط مايكروغرام/مل	FlC Index	نوع التأثير
1	256	256	256	2	تضاد
2	256	64	16	0.312	تأزري
3	512	1024	256	0.75	إضافة
4	256	128	64	0.75	إضافة
5	512	128	32	0.312	تأزري
6	1024	128	256	2.25	تضاد
7	1024	1024	1024	2	تضاد
8	512	128	128	1.25	غير مؤثر
9	512	64	64	1.25	غير مؤثر
10	512	64	64	1.25	غير مؤثر

جدول (6) تأثير خلط مضاد (E) Erythromycin مع Clindamyicin (CD) بنسبة (1: 1) في قيم التراكيز المثبطة الدنيا لبكتريا *S. aureus*

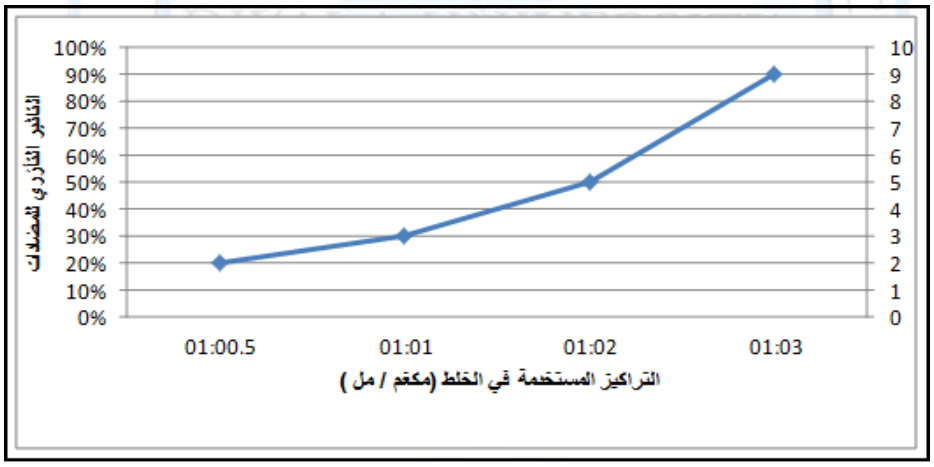
رقم العزلة	قيم MIC بتركيز 1 : 1				
	E لوحدة مايكروغرام/مل	CD لوحدة مايكروغرام/مل	الخليط مايكروغرام/مل	FIC Index	نوع التأثير
1	256	256	128	1	إضافة
2	256	64	16	0.312	تآزري
3	512	1024	256	0.75	إضافة
4	256	128	32	0.375	تآزري
5	512	128	32	0.312	تآزري
6	1024	128	128	1.125	غير موثر
7	1024	4102	512	1	إضافة
8	512	128	64	0.625	إضافة
9	512	64	32	0.56	إضافة
10	512	64	32	0.56	إضافة

جدول (7) تأثير خلط مضاد Erythromycin مع Clindamyicin (CD) بنسبة (2 : 1) في قيم التراكيز المثبطة الدنيا لبكتريا *S. aureus*

رقم العزلة	قيم MIC بتركيز 2 : 1				
	E لوحدة مايكروغرام/مل	CD لوحدة مايكروغرام/مل	الخليط مايكروغرام/مل	FIC Index	نوع التأثير
1	256	256	64	0.5	إضافة
2	256	64	16	0.312	تآزري
3	512	1024	256	0.75	إضافة
4	256	128	16	0.187	تآزري
5	512	128	16	0.156	تآزري
6	1024	128	128	1.125	غير مؤثر
7	1024	1024	512	1	إضافة
8	512	128	32	0.5	إضافة
9	512	64	16	0.28	تآزري
10	512	64	16	0.28	تآزري

جدول (8) تأثير خلط مضاد (E) Erythromycin مع Clindamyicin (CD) بنسبة (3 : 1) في قيم التراكيز المثبطة الدنيا لبكتريا *S. aureus*

رقم العزلة	قيم MIC بتركيز 3 : 1				
	E لوحدة مايكروغرام/مل	CD لوحدة مايكروغرام/مل	الخليط مايكروغرام/مل	FIC Index	نوع التأثير
1	256	256	16	0.125	تأزري
2	256	64	4	0.078	تأزري
3	512	1024	64	0.187	تأزري
4	256	128	4	0.046	تأزري
5	512	128	4	0.039	تأزري
6	1024	128	16	0.140	تأزري
7	1024	1024	256	0.5	إضافة
8	512	128	16	0.156	تأزري
9	512	64	4	0.07	تأزري
10	512	64	4	0.07	تأزري



يوضح الشكل (1) النسب المئوية للتاثير التأزري المتزايد عند خلط مضاد Erythromycin مع Clindamycin مع اختلاف النسب المستخدمة في عملية الخلط على عزلات *S.aureus*

كما كررت عملية خلط المضادات المثبطة السابقة ولكن بطريقة معكوسة ثُبت مضاد Clindamycin واعتبر مادة فعالة ثابتة التركيز في جميع نسب الخلط وغُيرت نسب خلط مضاد Erythromycin لمعرفة اعلى نسبة تأثير تأزري يمتلكه هذا الخليط فقد لوحظ ان نسبة خلط مضاد Clindamycin مع مضاد Erythromycin بنسبة (1:2) و (1:3) هي الافضل وذلك من خلال زيادة التأثير التأزري الناتج من نسب الخلط على عزلات *S. aureus* تبين الجداول(9) ، (10) ،

(11) ، (12) مدى الانخفاض الكبير في قيم MIC للخليط للمضادات بعد عملية خلط مضاد Clindamycin مع مضاد Erythromycin وبنسب (1:0.5 ، 1:1 ، 1:2 ، 1:3) على عزلات بكتريا *S. aureus* مما هي عليه في حالة استعمال كل مضاد لوحده .

جدول (9) تأثير خلط مضاد Clindamyicin (CD) مع (E) Erythromycin مع بنسبة (0.5 : 1) في قيم التراكيز المثبطة الدنيا لبكتريا *S. aureus*

رقم العزلة	قيم MIC بتركيز 0.5 : 1				
	E لوحدة مايكروغرام / مل	CD لوحدة مايكروغرام / مل	الخليط مايكروغرام / مل	FIC Index	نوع التأثير
1	256	256	256	2	تضاد
2	256	64	16	0.312	تأزري
3	512	1024	256	0.75	إضافة
4	256	128	32	0.375	تأزري
5	512	128	64	0.625	إضافة
6	1024	128	128	1.125	غير مؤثر
7	1024	1024	1024	2	تضاد
8	512	128	512	5	تضاد
9	512	64	64	1.125	غير مؤثر
10	512	64	64	1.125	غير مؤثر

جدول (10) تأثير خلط مضاد Clindamyicin (CD) مع (E) Erythromycin بنسبة (1 : 1) في قيم التراكيز المثبطة الدنيا لبكتريا *S. aureus*

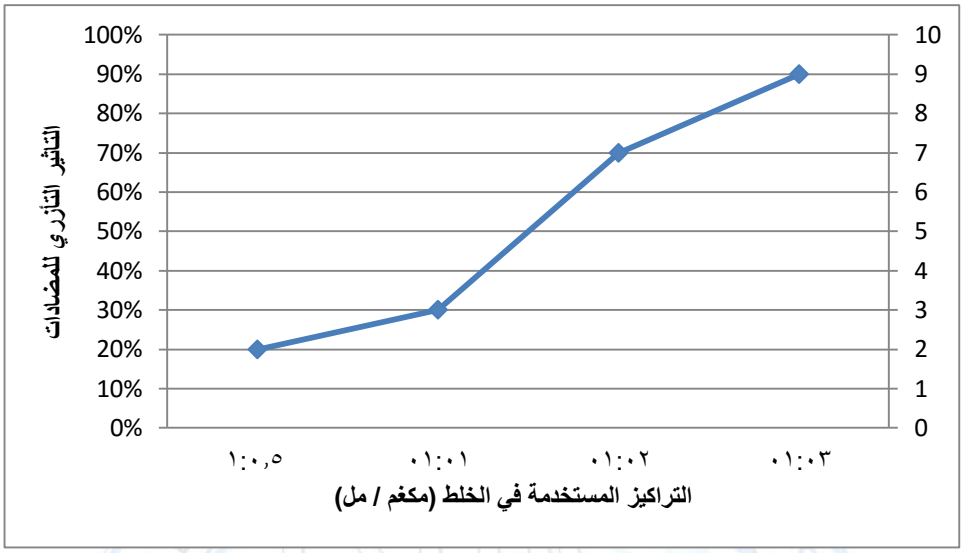
رقم العزلة	قيم MIC بتركيز 1 : 1				
	E لوحدة مايكروغرام/مل	CD لوحدة مايكروغرام/مل	الخليط مايكروغرام/مل	FIC Index	نوع التأثير
1	256	256	128	1	إضافة
2	256	64	16	0.312	تأزري
3	512	1024	256	0.75	إضافة
4	256	128	32	0.375	تأزري
5	512	128	32	0.312	تأزري
6	1024	128	128	1.125	غير مؤثر
7	1024	1024	512	1	إضافة
8	512	128	64	0.625	إضافة
9	512	64	32	0.56	إضافة
10	512	64	32	0.56	إضافة

جدول (11) تأثير خلط مضاد Clindamyicin (CD) مع (E) Erythromycin بنسبة (2 : 1) في قيم التراكيز المثبطة الدنيا لبكتريا *S. aureus*

رقم العزلة	قيم MIC بتركيز 2 : 1				
	E لوحدة مايكروغرام/مل	CD لوحدة مايكروغرام/مل	الخليط مايكروغرام/مل	Flc Index	نوع التأثير
1	256	256	64	0.5	إضافة
2	256	64	16	0.312	تأزري
3	512	1024	128	0.375	تأزري
4	256	128	16	0.187	تأزري
5	512	128	16	0.156	تأزري
6	1024	128	64	0.56	إضافة
7	1024	1024	256	0.5	إضافة
8	512	128	32	0.312	تأزري
9	512	64	16	0.28	تأزري
10	512	64	16	0.28	تأزري

جدول (12) تأثير خلط مضاد Clindamyicin (CD) مع (E) Erythromycin بنسبة (3 : 1) في قيم التراكيز المثبطة الدنيا لبكتريا *S. aureus*

رقم العزلة	قيم MIC بتركيز 3 : 1				
	E لوحدة مايكروغرام/مل	CD لوحدة مايكروغرام/مل	الخليط لوحدة مايكروغرام/مل	FIC Index	نوع التأثير
1	256	256	16	0.125	تأزري
2	256	64	4	0.07	تأزري
3	512	1024	32	0.09	تأزري
4	256	128	4	0.04	تأزري
5	512	128	4	0.03	تأزري
6	1024	128	32	0.28	تأزري
7	1024	1024	256	0.5	إضافة
8	512	128	16	0.156	تأزري
9	512	64	4	0.07	تأزري
10	512	64	4	0.07	تأزري

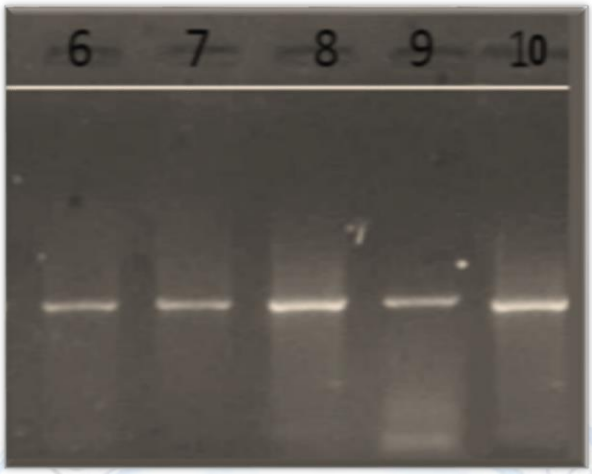


يوضح الشكل (2)النسب المئوية للتأثير التآزري المتزايد عند خلط مضاد Clindamycin مع Erythromycin مع اختلاف النسب المسخدمة في عملية الخلط على عزلات *S .aureus*

جاءت نتائج دراســتنا متفقة مع نتائج (24)الذي بين الى ان جميع عزلاته المقاومة لمضـــادات Erythromycin و Clindamycin اصبحت حساسة وبنسبة 98% بعد عملية خلط المضادين مع بعضهما البعض . لقد اشار (25) الى خلط مضادات Macrolide مع مضادات Lincosamide ضد بكتريا المكورات العنقودية المقاومة لمضادات الحياة اذ ان كلا المضـــادين من النوع المثبط Bacteriostatic ويعملان على تثبيط تصـــنيع البروتينات Inhibition of protein Synthesisمن خلال ارتباطها بالوحدة 50s للرايبوسوم فيزداد التأثير التآزري القاتل لفعل المضادين في الخليط اكثر مما هو عليه في حالة استعمال كل مضاد لوحده.

النسق البلازميدي

تم التحري عن المحتوى البلازميدي لـ (5) عزلات من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بأستخدام Pure Yield ™ Plasmid Miniprep System المجهز من قبل شركة (Promega (U.S.A وبعد عزل الدنا البلازميدي وترحيله على هلام الاكاروز وجد ان جميع العزلات حاوية على حزمة بلازميدية واحدة وكما موضح في الشكل (3) من هنا نستنتج ان عزلات *S.aureus* تمتلك بلازميدات لمقاومة مضادات الحياة وتوافقت نتائج الدراسة الحالية مع ماتوصل اليه (26) الى ان جميع عزلات *S. aureus* كانت حاوية على حزمة بلازميدية واحدة.



شكل (3) الترحيل الكهربائي لعزلات *Staphylococcus aureus* باستعمال هلام الاكاروز بتركيز 0.7% ، 75 فولت / سم لمدة 90 دقيقة

References

1. Ifeanyichukwu , I . ; chika , E. ; Emmanuel , N . ,Anthonia , O. ; Ngozi, A. And Esther, U . I . (2015). Community acquired methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (Ca – MRSA) carriage amongst tertiary School Students. American Journal of Science and Technology , 2 (1) : 18 – 21.
2. Tong , S. ; Chen , L. ; and Fowler , V. (2012). Colonization Pathogencity , Host Susceptibility and Therapeutics for *Staphylococcus aureus* : what is the Clinical Relevance . Semin . Immunopathol . 34(2) : 185 – 200.
3. Iwase , T. ; Uehara , Y , ; Shinji , ; Tajma , A. ; Seo , H . ; Takada , k . ; Agate, T ; and Mizuhoe , Y. (2010) . *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal Colonization . Nature . Vol 465.
4. Janstova , B . ; Necidova , L . and Janstova , B . (2012) . Comparing the growth *of S . aureus* and Production of staphylococcal enterotoxin C in Sheeps and goats milk . J . Microbiology . Biotechuology and food Sciences . I (February special issue) : 758 – 768 .

5. MCGrath, E. J ; and Asmar , B. I. (2011). Nosocomial infection and efflux pump contributes to the reduced Susceptibility of Laboratory – derived *Staphylococcus aureus* mutants to tigecysscline. Antimicrob Agents chemother. 49:65-71 .

6. Shakibaie , M.R. ; Golkari , X. and Salajegheh , Gh. (2014). Antimicrobial Susceptibility , Virulence factors and biofilm formation among *Staphylococcus aureus* isolate from hospital infections in Kerman , Iran. Journal of Microbiology and Infection Diseases 4(4) : 152 – 158 .

7. Pinheiro , L . ; Brito , C . I . ; Oliveira , A . ; Martins , P . ; Pereira , V . C . ; and Rebeiro , M . (2015) . *Staphylococcus epidermidis and Staphylococcus haemolyticus* : Molecular Detection of cytotoxion and Enterotoxin Genes . Toxins , 7 : 3688 – 3699 .

8. Menestrina , G. ; Dalla , S. and Prevost , A. (2011). Mode of Action of β. barrel pore – forming toxin of staphylococcal α. hemolysin family. J. Toxicon. Vol. 39 , no. 11, PP. 1661-1672

9. Jang , S . (2016) . Multidrug efflux pumps in *Staphylococcus aureus* and their clinical implicathions . Journal of Microbiology , Vol . 54 , Issuel . pp 1-8.

10. Vishwantha , T. ; Spoorthi , N.J ; Reena , V. ; Aishwarya , S. ; Siddhalingeshwara , K.G. and Venugopal , N. ; (2012). Evalution of in vitro Synergy between ampicilin and Kanamycin against *staphylococcus aureus* . Journal of Drug Delivery & Therapentics. 2(4) : 144-146 .

11. Spoorthi , N.J. ; Vishwanatha , T. ; Reena , V. ; Divyashree , B.C. ; Aishwarya , S. , Siddhalinge shware , K.G. ; Venugopal , N. and Ramesh , I. (2011). Antibiotic synergy Test : checker board on multidrug Resistant *Pseudomonas aeruginosa* . Int. Reserch Journal of pharmacy . 2(12) : 196 – 198

12. Brown, A.E.(2005). Microbiological Applications . Laborator Manual in General Microbiology . Mc Graw-Hill.New York.compaines Inc. ,1221 Avenue of the Americas, NewYork . 144-146 .

13. Rajamohan , G. ; Kanak , L . and Dikshit . (2000) . Role of the N-terminal region of Staphylokinase (SAK): Evidence for the participation of the N- termina region of (SAK) in the enzyme Substrate complex formation . FEBS Letters . 474151158.

14. Martins , M. ; Viveiros , M. ; Couto , I. ; Costa , S.S. ; Pacheco , T. ; Fanning , S. ; Dages , J.M. and Amaral , L. (2011). Identification of efflux pump – mediated multidrug – resistant bacteria by the Ethidium Bromide – agar Cart Wheel Method In Vivo. 25 : 171-178.

15. Morello , J.K. ; Mizer , H. E and Granato , P.A. (2006). Laboratory Manual And work Book in Microbiology Application To Patient Care. 8thed. Mc Graw Hill.

16. Moerllo , J.A. ; Granto , P.A. and Mizer , H.E. (2003). Laboratory Manual and workbook in Microbiology : Applications to patient Care. 7thed. The Mc Graw – Hill Companies : 97 – 99 .

17. Alpa Rabadia , S.D. and KAMAT . D.V. (2013) . Study of Synergistic Action of cefotoxaim and Terminalia Chebula on Acinetobacter baumanni using Checker board assay . Academic Science Int .J .of pharmacy and pharmaceutical Science , Vol 5 (3) : 830-832 .

18. Kyaw , Bh . M ; Arora , Sh . and Lim , ch . S . (2012) . Bactericidal antibiotic – phytochemical combinations against methicillin resistant *Staphylococcus aureus* . Braz . J . Microbial , 43 (3) : 938 – 945 .

19. Al-Hasani , H . A . (2011) . Comparative Study between Methicillin – Resistaut Coagulase Positive and Negative Staphylococci . M . Sc . Theis . Collage of Scince . University of Baghdad .

20. Dezfulian, A. ; Aslani, M.M. ; Oskoui, M. ; Farrokh, P. ; Azimirad, M. ; Dabiri, H. ; Salehian , M.T. and zali, M.R. (2012) . Identification and Characterization of ahigh Vancomycin – Resistant *Staphylococcus aureus* Harboring Van Agene Clusterisolated from Diabetic food ulcer . Iran. J. Basic. Med. Sci . ,15(2) : 803-806 .

21. Costa, S.S. ; Junqeira, E. ; Palma, C. ; Viveiros, M. ; Melo-Cristion, J. ; Amaral, L. and Couta, T, (2013) . Resistance to Anti microbiols Mediated by Efflux Pumps in *Staphylococcus aureus*. J. Antibiotics. 2:83-99 .

22. AL-Margani,M.F.; Abdal,A.K. and Edan,D.Salem(2015). Identification of an efflux pump gen ,Nor A in MRSA in Baghdad . WJDR 4(4) : 346 .

23. Khan , F . ; Ali , S . ; sultan , A . , Rizvi , M . and shukla, I . (2014) . Clindamycin Resistance Constitutive and Inducible Patters in Erythromycin Resistance Clinical Isolates of *Staphylococcus* species . Int . J . of Microbiological Reserch , 5 (3) : 185 – 189 .

24. Jorgensen , J . H . ; Leticia , M . ; Fulcher , C . ; MC Gee , L . ; Richter , S . ; Heilmann , K . p . ; Ferraro , M . ; spargo , J . and Glenner , A . (2011) Collaborative Evaluation of an Erythromycin – Clindamycih combination well for Detection of Inducible clindamycih Resistancein Beta – Hemolytic streptococci by use the CLSI Broth Microdilution Method . J . Clin Microbial ; Vol . 49 (8) . 2884 – 2886 .

25. HeB, S. ; Gallert, C. (2014). Resistance behaviour of inducible Clindamycin – resistant Staphylococcus from clinical samples and aquatic environments. Journal of Medical Microbiology. 63 : 1446 – 1453.

26. Akinjogunla , O. J. and Enabulele , I. O . (2010) . Virulence Factors, Plasmid Profiling and Curing analysis of Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus* and Coagulase negative *Staphylococcus* spp. Isolated from Patients with Acute Otitis Media. Journal of American Science , Vol 6 (11) :1022-1027 .