Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 30, No: 3, 2021 (198-208)
Special Issue for Proceeding of 3rd National (1st international conference of biology) (ICBSUM 2021) 5, 6 July
College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

Resistance of Some Bacteria Isolated From Urinary Tract Infections in Elderly Patients to Antibiotics and Detection of β-lactamases in Them

Mohammed Abdullah Mahmood [1], Shaker Gazi Gergees[2] Alaa Taha Younis[3],

[1,3]Department of Biology, College of Education for Pure Science, University of Mosul, Iraq.
[2]Department of Biology, College of Sciences, University of Mosul, Iraq

E-mail: [1]mohammedalmola1981@uomosul.edu.iq , [2]momo12345mola@yahoo.com, [3]Alaatyounis@uomosul.edu.iq

(Received May 15, 2021; Accepted June 16, 2021; Available online August 28, 2021)

DOI: 10.33899/edusj.2021.168647, © 2021, College of Education for Pure Science, University of Mosul.
This is an open access article under the CC BY 4.0 license (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Abstract

Urinary tract infection is the second-largest infection, especially in elderly people, and the increasing use of antibiotics has led to the emergence and development of resistance in isolated and other bacteria in this study Fifty urine samples from elderly patients with urinary tract infections were collected from both sexes in Mosul city. Twenty-six bacterial isolates were isolated and diagnosed by ordinary bacteriological tests. The isolates were related to the species. *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Proteus mirabilis*. After isolation, their resistance to 14 selected antimicrobial agents was tested by the disk diffusion method. The presence of β-lactamases, in general, was detected by acidimetric method, the detection of extended-spectrum β-lactamases(ESBLs) was performed by double disk method, while the detection of AmpC β-lactamases was performed by cefoxitin resistance method. The isolates showed clear resistance to β-lactam antibiotics ranged (50%--92.3%),and to ciprofloxacin, gentamicin, sulfamethoxazole, streptomycin, rifampin with rates; (53.8%),(57.7%), (61.5%), (80.8%), (88.5%), respectively, while they showed reduced resistance to amikacin (15.4%). β-lactamases in general were detected in (96.1%) of the isolates, while (19.2%) of them gave a positive result for the detection of (ESBLs). AmpC β-lactamases were detected in (69.2%) of the isolates as they showed a clear resistance to cefoxitin which indicates that they are potential producers of these enzymes.

Keywords: Pathogenic bacteria, β-lactamases, antibiotics

مقاومة بعض الجراثيم المعزولة من إصابات الجهاز البولي لدى المسنين للمضادات الحيوية والتحري عن أنزيمات البيتا-لاكتاميز فيها

محمد عبدالله محمود [1], شاكر غازي جرجيس [2], الاء طه يونس [3]

[3,1] قسم علوم حياة , كلية التربية للعلوم الصرفة , جامعة الموصل , العراق
[2] قسم علوم الحياة , كلية العلوم , جامعة الموصل , العراق

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

الخلاصة:

عدوى المجاري البولية ثاني اكبر عدوى شيوعا وخاصة في الاشخاص المسنين و الاستخدام المتزايد للمضادات الحيوية ادى الى ظهور وتطور المقاومة لدى الانواع البكتريا المعزولة ,في هذه الدراسة جمعت 50 عينة ادرار من إصابات الجهاز البولي لدى المسنين من كلا الجنسين في مدينة الموصل . وتم عزل وتشخيص (26) عزلة جرثومية و كانت العزلات تابعة للأنواع *Escherichia coli* ، *Klebsiella pneumoniae* ، *Pseudomonas aeruginosa* ، *Proteus mirabilis* . درست مقاومتها لـ(14) نوعاً من المضادات الحيوية بطريقة الانتشار بالأقراص . تم التحري عن تواجد كلا من أنزيمات البيتا–لاكتاميز بشكل عام في هذه العزلات باستخدام الطريقة الحامضية ، أنزيمات البيتا–لاكتاميز واسعة الطيف باستخدام طريقة القرص المزدوج ، أنزيمات البيتا–لاكتاميز من نوع AmpC باستخدام طريقة المقاومة لمضاد Cefoxitin . أظهرت العزلات مقاومة واضحة لمضادات البيتا–لاكتام تراوحت بين (50-92.3%)، ولمضادات Ciprofloxacin، Gentamicin، Sulfamethoxazole، Streptomycin ، Rifampin بنسب (53.8%)، (57.7%) ، (61.5%) ، (80.8%) ، (88.5%) على التوالي ، في حين أظهرت العزلات مقاومة منخفضة لمضاد Amikacin بلغت (15.4%) . تواجدت أنزيمات البيتا–لاكتاميز بشكل عام في (96.1%) من العزلات ، في حين أعطى (19.2%) منها نتيجة موجبة عند التحري عن أنزيمات البيتا–لاكتاميز واسعة الطيف ، أما بالنسبة لأنزيمات البيتا–لاكتاميز من نوع AmpC فقد أظهرت (69.2%) من العزلات مقاومة واضحة لمضاد Cefoxitin مما يشير إلى كونها منتجات محتملة لهذه الأنزيمات .

الكلمات المفتاحية: الجراثيم المرضية, انزيمات البيتا–لاكتاميز ، المضادات الحيوية

المقدمة:

عدوى المسالك البولية هي ثاني أكثر أنواع العدوى شيوعًا ، وسنويا يتم تشخيص اصابة 150 مليون شخص بالتهاب المسالك البولية في جميع أنحاء العالم ، مما يكلف الاقتصاد العالمي أكثر من 6 مليار دولار (1). إن مسببات عدوى المسالك البولية يمكن التنبؤ بها، بدلالة عزل العصيات المعوية السالبة الكرام وخاصة *Escherichia coli* ، كونها احدى المسببات الرئيسية لهذا المرض (2). يتم التعامل مع التهاب المجاري البولية الأكثر شيوعًا للاغراض العلاجية باستخدام عوامل مضادة للميكروبات الاتي يطلق عليها عادة المضادات الحيوية واسعة الطيف مثل Cephalosporins, Trimethoprim sulfamethoxazole, Penicillins مع أو بدون مثبطات (3). ومع ذلك، *Escherichia coli* وغيرها من الانواع المعزولة أصبحت مقاومة وبشكل متزايدة لمضادات الميكروبات الموصوفة عادة، مما أدى إلى انخفاض فعالية بعض النظم القياسية وخاصة في المرضى المسنين. ومما لاشك فيه أن الاستخدامات الواسعة للأدوية المضادة للميكروبات قد أدت دائماً إلى تطور المقاومة للمضادات الحيوية التي أصبحت في السنوات الأخيرة مشكلة رئيسية في جميع أنحاء العالم (4).

تعد أنزيمات البيتا–لاكتاميز β – lactamase من أهم الاليات التي تستخدمها البكتريا في مقاومة مضادات البيتا –لاكتام ، عن طريق تأثيرها في فك حلقة البيتا –لاكتام الضرورية لفعل المضاد مما يجعل المضادات الحيوي ذات تأثير غير فعال ضد الخلايا البكتيرية (5) . تعتبر مضادات البيتا–لاكتام من المضادات الميكروبات الأكثر استخداما على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم, وتفضل بسبب فعاليتها الواسعة النطاق وسميتها المنخفضة , وكونها تتفاعل مع بروتينات البنسلين البكتيرية الرابطة penicillin binding proteins (PBPs)، التي تحفز الربط النهائي مع جزيئات peptidoglycan ، مؤدية إلى ضعف بناء جدار الخلية وتحلله (5).لذلك تعد انزيمات البيتا لاكتاميز السبب الأكثر شيوعاً لمقاومة البكتيريا لعوامل البيتا لاكتام المضادة للميكروبات (6). لقد تم تسجل ما يزيد عن (250) نوعا من هذه الانزيمات، كما وضعت تصانيف خاصة بها من اجل تسهيل تشخيصها وتحديد

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 30, No: 3, 2021 (198-208)
Special Issue for Proceeding of 3rd National (1st international conference of biology) (ICBSUM 2021) 5, 6 July
College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

أنواعها نظرا لتزايد أعدادها بشكل مستمر وقد صنفت في مجموعات أو فئات من الطيف المائي، والتعرض للمثبطات وما إذا كانت مشفرة من قبل كروموسوم أو البلازميدات (7).

وتتميز أنزيمات البيتا –لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) بتحليلها لعدد كبير من مضادات البيتا–لاكتام مثل البنسلينات واسعة الطيف والسيفالوسبورينات الاولى وكذلك سيفالوسبورينات الجيل الثالث، ومما يميز هذه ألانزيمات تثبيطها بحامض الكالفيولين Clavulinic acid الذي غالبا ما يستخدم في التحري عنها(7) مما أدى إلى مقاومة الجراثيم لهذه الأدوية، باستثناء 7,α-methoxy–cephalosporins (8،9), ان اغلب انزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف ومشتقاتها من بلازميد SHV او TEM(7)

انزيمات البيتا لاكتاميز تنشأ من خلال الطفرات التي تأثر على إلى واحد أو أكثر من بدائل الأحماض الأمينية التي تغير التكوين أو خصائص ملزمة للموقع النشط، ومؤدية في النهاية الى توسيع الطيف المائي للأنزيم. وعادة ما يتم تثبيط هذه الإنزيمات من قبل مثبطات البيتا لاكتاميز مثل (clavulanic acid، sulbactam, tazobactam). (8,10,11)

ومن امثلت هذه الأنزيمات انزيمات البيتا–لاكتاميز من نوع AmpC تتميز بتحليها للعديد من مضادات البيتا –لاكتام بما فيها واسعة الطيف،(12,13) كما أنها لا تثبط بحامض الكلافيولين وتقاوم مضاد Cefoxitin في نفس الوقت (14،15) .

في هذه الدراسة تم الكشف عن حساسية العصيات البولية السالبة الكرام المعزولة للمضادات الميكروبات وأنماط المقاومة في مدينة الموصل، فضلا عن β–lactamases بشكل عام (الطيف الواسع) β lactamases و ampC β lactamases، للتحقق من جزء من الوضع الحالي لمقاومة المضادات الحيوية في العراق.

المواد وطرائق العمل

العزل والتشخيص

أجريت الدراسة على المرضى المسنين الذين تتراوح أعمارهم بين (50–80 سنة) المصابين بالتهابات المسالك البولية الذين راجعوا مستشفى ابن سينا التعليمي في مدينة الموصل / العراق خلال فترة ثلاثة أشهر تم جمع عينات الادرار التي تم الحصول عليها من المرضى في حاويات معقمة ونقلها في أقرب وقت ممكن إلى المختبر حيث تم زرعها على وسط MacConkey agar .وحصنت لمدة 18–24 ساعة في 37 درجة مئوية (16,5). تم تحديد الانواع البكتيريا المعزولة من خلال الفحوصات المجهرية و التفاعلات الكيميائية الحيوية القياسية (17,5). ومن ثم زرعت العزلات على Slants agar، التي تم تخزينها في 4 درجة مئوية لحين اجراء التجارب اللاحقة عليها .

التحري عن الانزيمات الواسعة الطيف

اعتمد على طريقة (Kirby – Bauer method) القياسية وحسب ماورد في(18،19). لقح وسط Mueller-Hinton agar بالمعلق الفتي من البكتريا باستخدام ماسحة قطنية معقمة تم بعدها توزيع أقراص المضادات التالية (Amoxicillin25μg) , (cephradine30μg) , (cefixime30μg) , (cefotaxime30μg) , ((Amox–clavulanate 5μg) 10μg) , (Amikacin30μg) , (Ceftriaxone 30μg) , ceftazidime30μg) , (ceftizoxime 30μg) (sulfamethoxazole100μg)(Rifampin 5μg) , (Gentamicin 10μg) , (Streptomycin (Ciprofloxacin 5μg) ,

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 30, No: 3, 2021 (198-208)
Special Issue for Proceeding of 3rd National (1st international conference of biology) (ICBSUM 2021) 5, 6 July
College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

التي تم الحصول عليها من شركة Bioanalyse Co.، تركيا. والمعايير التفسيرية لكل مضادات الميكروبات هي تلك التي أوصت بها اللجنة الوطنية للأمراض والأمراض المعدية (20).

التحري عن انزيم البيتا-لاكتاميز باستخدام الطريقة الحامضية

تم التحري عن وجود β-lactamases بطريقة قياس الحموضة (21). تم تخفيف 2مل من 0.5٪ محلول أحمر الفينول المائي مع 16.6 مل من الماء المقطر، واضيف اليه 1.2غم من البنسلين G, تم ضبطت الدالة الحامضية عند 8 نقل 0.1 مل من الكاشف الى انبوبة اختبار ولقحت بعد ذلك بالبكتريا النامية في الوسط الصلب لانتاج معلق كثيف تركت الانابيب بدرجة حرارة الغرفة وتم مراقبة تغير اللون. علما ان ظهور اللون الاصفر خلال 5 دقائق يعد نتيجة موجبة للاختبار (11).

الكشف عن ESBLs تأزر القرص المزدوج

لقح وسط أكار مولر-هنتون بالمعلق الفتي من البكتيريا باستخدام ماسحة قطنية معقمة وحسب توصيات اللجنة الوطنية للقياسات المختبرية السريرية (NCCLS) . وضع قرص Amoxicillin\Clavulinic acid(20\10µg) في وسط الطبق ووضع قرصا مضادي (Cetazidime30µg) و (Cefotaxime30µg)على بعد 20-30 ملم من مركز القرص الوسطي. حضن الطبق بدرجة حرارة30 م° لمدة 24 ساعة ، تم بعدها ملاحظة مدى وجود أو غياب اتساع منطقة التثبيط في احدى أو في كلا المضادين باتجاه القرص الوسطي (24, 22,23)

التحري عن انزيمات AmpC المستحثة

تم التحري عن هذه الانزيمات في البكتريا بشكل اولي اعتمادا على مقاومتها للمضاد Cefoxitin بتركيز 30 مايكروغرام /قرص وبالتالي فإن مقاومة Cefoxitin يمكن أن تستخدم كمؤشر رئيسي على وجود هذه الانزيمات في العزلات المشتبه بها (25). تم تلقيح وسط اكار مولر هينتون بالمعلق البكتيري الفتي ووضع بعدها قرص مضاد Cefoxitin في وسط الطبق وحضن بدرجة 37° م لمدة 24 ساعة بعدها لوحظت منطقة التثبيط حول القرص وتم تحديد فيما كانت النتيجة موجبة او سالبة للاختبار حسب قياسات NCCLS. (19,20,24) .

النتائج والمناقشة

تم جمع50 عينة ادرار من المرضى المسنين (28 أنثى و 22 من الذكور) تتراوح أعمارهم بين 50 و 80 سنة.اظهرت النتائج ان 26 عينة اعطت نمو بكتيري كدلالة عن انتشار العدوى بـ *K.pneumoniae* و*P.aeruginosa* في كلا الجنسين الا انها كانت أكثر انتشارا في الإناث، في حين أن العدوى *E.coli* و*Pr.mirabilis* وزعت بالتساوي تقريبا بين الجنسين (الجدول 1)، وقد اثبت دراسات عديدة وعلى نطاق واسع أن معدل انتشار التهاب المسالك البولية لدى الإناث البالغات أعلى من الذكور، ويرجع ذلك أساسا إلى عوامل تشريحية وبدنية (4).

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 30, No: 3, 2021 (198-208)
Special Issue for Proceeding of 3rd National (1st international conference of biology) (ICBSUM 2021) 5, 6 July
College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

الجدول (1) عدد العزلات الجرثومية والنسبة المئوية للمرضى في كلا الجنسين

العزلات الجرثومية	العدد والنسبة المئوية للعزلات	العدد والنسبة المئوية للاناث	العدد والنسبة المئوية للذكور
E.coli	10(38.45)	4(15.35)	6(23.1)
K.pneumoniae	8 (30.8)	8(30.8)	0(0.0)
Pr.mirabilis	4 (15.4)	2(7.7)	2(7.7)
P.aeruginosa	4(15.35)	4(15.35)	0(0.0)
المجموع	26(100)	18(69.2)	8(30.8)

يبين الجدول (2) ملخصاً لفاعلية وطيف 14 نوع من المضادات على البكتريا المعزولة . أظهرت العزلات معدلات مقاومة عالية ضد المضادات الحيوية البتا لاكتام (50-92.3%) و Gentamicin, Streptomycin (80.8 و 57.7٪)على التوالي، باستثناء Amikacin الذي كان العامل الأكثر نشاطا ضد العزلات بدلالة انخفاض معدل المقاومة لغاية 15.4٪. كما أظهرت العزلات مقاومة عالية لكل من المضادات Rifampin (88.5٪)، وSulphamethoxazole (61.5٪) و Ciprofloxacin (53.8٪). وبالاضافة لذلك، وجد أن جميع العزلات التي تضمنتها الدراسة تقريباً مقاومة لأربعة أو أكثر من المضادات الحيوية ولوحظ أربعة وعشرون نمط من أنماط المقاومة المختلفة بين العزلات. تم العثور على كل من هذه الأنماط في عزلة واحد، وتكرر نمطين فقط في عزلتي *K.pneumoniae* و*P.aeruginosa* الجدول (3). من المعروف ان مقاومة المضادات الحيوية هي مشكلة سريرية رئيسية ومتنامية في علاج أنواع مختلفة من العدوى البكتيرية بما في ذلك التهابات المسالك البولية (26,1). وتتنامى هذه من خلال تطوير آليات دفاعية محددة تجعل المضاد الحيوي غير فعال ، مثل منع المضاد الحيوي من الارتباط بالخلية البكتيرية او منعه من دخول الخلية او ضخه ، وإنتاج الإنزيمات التي تعطل المضادات الحيوية (البيتا لاكتاميز ، والأمينوكليكوسيدات المعدلة للإنزيمات)، وتغيير مواقع الارتباط الداخلي (الهدف) للمضادات الحيوية تغيير في PBPs أو البروتينات الريبوسومية (27,25,5)علما بان البعض من هذه الآليات يمكن أن تنتقل إلى خلايا أخرى عن طريق الاقتران، مما يزيد من انتشار مقاومة المضادات الحيوية بين مسببات الأمراض البكتيرية (15,8).

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 30, No: 3, 2021 (198-208)
Special Issue for Proceeding of 3rd National (1st international conference of biology) (ICBSUM 2021) 5, 6 July
College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

الجدول(2) النسبة المئوية لمقاومة البكتريا لعدة انواع من المضادات الحيوية

*E.coli*_ العدد و(%)	*K.pneumoniae*_ العدد و(%)	*Pr.mirabilis*_ العدد و(%)	*P.aeruginosa*_ العدد و(%)	العد الكلي و(%)	المضادات الحيوية
10(100)	8(100)	2(50)	4(100)	24(92.3)	Cephradine
9(90)	8(100)	2(50)	4(100)	23(88.5)	Amoxicillin
9(90)	8(100)	2(50)	4(100)	23(88.5)	Rifampin
8(80)	8(100)	2(50)	4(100)	22(84.6)	Amox-clavulanate
8(80)	7(87.5)	3(75)	4(100)	22(84.6)	Cefixime
8(80)	7(87.5)	2(50)	4(100)	21(80.8)	Streptomycin
7(70)	7(87.5)	2(50)	4(100)	20(76.9)	Ceftizoxime
6(60)	7(87.5)	1(25)	2(50)	16(61.5)	Cefotaxime
5(50)	6(75)	3(75)	2(50)	16(61.5)	Sulphamethoxazole
4(40)	8(100)	0(0.0)	3(75)	15(57.7)	Gentamicin
5(50)	7(87.5)	1(25)	2(50)	15(57.7)	Ceftriaxone
5(50)	6(75)	1(25)	2(50)	14(53.8)	Ciprofloxacin
4(40)	6(75)	1(25)	2(50)	13(50)	Ceftazidime
2(20)	2(25)	0(0.0)	0(0.0)	4(15.4)	Amikacin

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

Journal of Education and Science (ISSN 1812-125X), Vol: 30, No: 3, 2021 (198-208)
Special Issue for Proceeding of 3rd National (1st international conference of biology) (ICBSUM 2021) 5, 6 July
College of Education for Pure Science, University of Mosul, Mosul, Iraq.

الجدول(3) انماط مقاومة المضادات الحيوية للبكتيريا المعزولة في الدراسة

الانواع الجرثومية	عدد العزلات	انماط المقاومة
E.coli	1	1- مقاومة لجميع المضادات ماعدا CAZ
	1	2- مقاومة لجميع المضادات ماعدا AK
	1	3- مقاومة لجميع المضادات ماعدا S,AK,CN
	1	4- مقاومة لجميع المضادات ماعدا SMZ,AK,CN
	1	5- Cep3,AMC,RA,AX,CE,CIP
	1	6- AMC,CE,CTX,ZOX,CFM,RA,S,AX,CN
	1	7- AMC,RA,S,SMZ,AX,CE
	1	8- AMC,CE,AX,S,RA,CN
	1	9- S,CFM,SMZ,AX,CE
	1	10- S,CFM,RA,ZOX,CE
K.pneumoniae		
	2	1- مقاومة لجميع المضادات
	1	2- مقاومة لجميع المضادات ماعدا AK
	1	3- مقاومة لجميع المضادات ماعدا SMZ,AK
	1	4- مقاومة لجميع المضادات ماعدا S,AK
	1	5- مقاومة لجميع المضادات ماعدا CIP,AK
	1	6- AMC,CTX,CFM,CE,AX,S,RA,CN,CIP,CRO
	1	7- AMC,CE,ZOX,AX,S,SMZ,RA,CN
Pr.mirabilis		
	1	1- مقاومة لجميع المضادات ماعدا CAZ,AK,CIP
	1	2- SMZ,CE,CAZ,CFM,AX,ZOX
	1	3- AMC,CRO,SMZ,RA,CIP
	1	4- S,SMZ,CFM
P.aeruginosa		
	2	1- مقاومة لجميع المضادات ماعدا AK
	1	2- AMC,CTX,CFM,ZOX,RA,S,CE,AX,CN
	1	3- AMC,CTX,CFM,ZOX,RA,S,CE,AX

الا ختصارات : Cep3:thirdgeneration cephalosporins (CTX,CAZ,ZOX,CFM,CRO) , AX: amoxicillin, AMC: amoxicillin\ clavulanate, CE:cephradine, CAZ:ceftazidime, CFM:cefixime, CRO:ceftriaxone, CTX:cefotaxime, ZOX:ceftizoxime, AK:amikacin, CN: gentamicin, S: streptomycin, RA: rifampin, CIP: ciprofloxacin, SMZ: sulfamethoxazole

تعتبر β-lactamases واحدة من الآليات الرئيسية التي تستخدمها البكتيريا لابطال التاثير التثبيطي للمضادات الحيوية التي تمتلك حلقة البيتا لاكتام. في هذه الدراسة (96.1٪) من العزلات المعزولة حصرا من النساء أعطت نتائج إيجابية عند الكشف عن انزيمات β-lactamases بواسطة الطريقة الحامضية التي أشارت إلى امتلاك هذه العزلات واحد على الأقل من هذه الإنزيمات بغض النظر عن أنواعها وشكل المادة المتفاعلة ، بينما أعطت عزلة واحدة فقط من *Pr.mirabilis* نتيجة سلبية لاختبار هذا الكشف الجدول(4). ان البكتيريا *Enterobacteriaceae* و*P.aeruginosa* معروفة جيدا في قدرتها على إنتاج β-lactamases، لذلك اختبارات الكشف العام هي أقل فائدة في هذه البكتيريا لان المهم اي نوع هو من β-lactamases (21). ولهذا السبب حاولنا تحديد المجموعات أو الفئات التي تنتمي إليها β lactamases. ويرد في الجدول (5) ملخص لنتائج الكشف عن البيتا لاكتاميز بالتآزر المزدوج للقرص، ووجد هناك خمس عزلات فقط (19.2٪) أعطت نتائج إيجابية لهذا الاختبار، وكان من المتوقع أربعة منهم

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

أن يكون نوع CTX–M من ESBLs كما لوحظ في توسيع منطقة التثبيط نحو قرص Cefotaxime، وواحد آخر من نوع CAZ من ESBLs عندما كان التوسع في منطقة التثبيط نحو القرص Ceftazidime (22,21). ومن ناحية أخرى، أعطت نتائج الكشف عن انزيمات AmpC معدلات أعلى (69.2 %)، فقد وجدت معدلات انتشار عالية في عزل *P.aeruginosa* و *E.coli* و *K.pneumoniae*(100٪،70٪،62.5٪) على التوالي ، كما هو مبين في الجدول (6). وكانت نتائج الكشف الإيجابية، سواء بالنسبة لـ ESBLs أو إنزيمات AmpC أكثر شيوعًا في المسالك البولية المعزولة عن الإناث (11.5٪ و 50٪) مقارنة بأولئك المعزولين عن الذكور(7.7٪ و 19.2٪)، الجدولين(5 و 6). وجاءت نسب المقاومة وانتاج البيتا لاكتاميز مشابهة لنتائج Alham and.Ali(28) بالنسبة لبكتريا *P.aeruginosa* المعزولة من عينات الادرار.

الجدول (4) نتائج الكشف عن انزيم البيتا لاكتاميز بواسطة الطريقة الحامضية

الانواع الجرثومية	عددعزلات الاختبار	العددوالنسبة المئويةللاناث	العددوالنسبة المئويةللذكور	عددالعزلات الموجبةللاختبار والنسبةالمئوية
E.coli	10	4(40)	6(60)	10(100)
K.pneumoniae	8	8(100)	0(0.0)	8(100)
Pr.mirabilis	4	1(25)	2(50)	3(75)
P.aeruginosa	4	4(100)	0(0.0)	4(100)
العدد الكلي	26	17(65.3)	8(30.8)	25(96.1)

الجدول(5) نتائج التحري عن انزيم البيتا لاكتاميز (ESBLs) بطريقة تازر القرص المزدوج

الانواع الجرثومية	عدد عزلات الاختبار	العدد والنسبة المئوية للاناث	العدد والنسبة المئوية للذكور	عدد العزلات الموجبة والنسبة المئوية	النوع المتوقع
E.coli	10	0(0.0)	1(10)	1(10)	CTX-M
K.pneumoniae	8	2(25)	0(0.0)	2(25)	CTX-M
Pr.mirabilis	4	0(0.0)	1(25)	1(25)	CTX-M
P.aeruginosa	4	1(25)	0(0.0)	1(25)	CAZ
العدد الكلي	26	3(11.5)	2(7.7)	5(19.2)	

الجدول(6) نتائج التحري عن انزيمات AMPC البيتا لاكتاميز في العزلات الجرثومية

الانواع الجرثومية	عدد عزلات الاختبار	العدد والنسبة المئوية للإناث	العدد والنسبة المئوية للذكور	العدد والنسبة المئوية للعزلات الموجبة للاختبار
E.coli	10	3(30)	4(40)	7(70)
K.pneumoniae	8	5(62.5)	0(0.0)	5(62.5)
Pr.mirabilis	4	1(25)	1(25)	2(50)
P.aeruginosa	4	4(100)	0(0.0)	4(100)
العدد الكلي	26	13(50)	5(19.2)	18(69.2)

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

ومن الجدير بالذكر أن نتائج الكشف عن AmpC هي نتائج محتملة لانتاج هذه الإنزيمات، مما يعني أنها ليست قاطعة وتحتاج إلى طرق كشف أكثر تحديدا ودقة لتكون نهائية (28,12)، ولكن لا تزال تشير إلى احتمال عالي لوجود هذه الإنزيمات في العزلات المختبرية. وهذا قد يفسر ارتفاع معدلات المقاومة التي تظهر من قبل هذه العزلات ضد المضادات الحيوية البتا لاكتام المستخدمة في هذه الدراسة، كما تشتهر إنزيمات Ampc بقدرتها على تحلل مجموعة واسعة من البيتا لاكتام Penicillins, Cephamycins, Monobactams,1st , 2nd and 3rd generation Cephalosporins باستثناء Carbapenems (12,15). على الرغم من أن هذه الإنزيمات عادة ما تكون كروموسومية وان تعبيرها تحت السيطرة الحثية، الا انه من المتوقع ان تشفر هذه الإنزيمات بوساطة البلازميد من خلال نقل الجينات الكروموسومية إلى البلازميدات (15,9,1).

من المهم التأكيد على أن المقاومة المتعددة للبكتريا *Enterobacteriaceae* و*P.aeruginosa* قد يكون بسبب امتلاكها أكثر من نوع واحد من البيتا لاكتاميز التي لاتثبط بواسطة مثبطات البيتا لاكتاميز التقليدية مثل clavulanic acid حيث يكمل أحد الإنزيمات عمل الأنزيمات الاخرة وهذا قد يفسر انخفاض معدل الكشف عن ESBLs (19.2٪) بين عزلاتنا مقارنة مع إنزيمات Ampc (69.2٪). نعتقد أن هذه العزلات قد يكون لها إنزيمات Ampc بالإضافة إلى ESBLs، ولهذا السبب أعطت نتائج سلبية للكشف عن ESBLs وكانت مقاومة للمضادات الحيوية الثلاثة ولم تثبط بواسطة clavulanic acid (31,30,9).

من الواضح من النتائج الواردة في هذه الدراسة أن هناك مستوى عالي من المقاومة المتعددة للأدوية بين البكتريا المعزولة من المرضى المسنين في مدينة الموصل/ العراق، مقاومة المضادات الحيوية البيتالاكتام كان على الأرجح بسبب إنتاج β- lactamases, كما هو مبين في نتائج اختبارات الكشف التي أجريت في الدراسة, التي أظهرت معدلات انتشار عالية من إنزيمات Ampc وكذلك ESBLs. الاستخدام العشوائي وبدون وصفات طبية للمضادات الميكروبات هو بالتأكيد أحد الأسباب الرئيسية لظهور البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة وخاصة العصيات المعوية السالبة لصبغة كرام ، وذلك بسبب امتلاكها العديد من آليات المقاومة ، بما في ذلك انتاجها لانزيمات β- lactamases ، سواءا المشفرة بواسطة الجينات الواقعة على الكروسومات او الواقعة على البلازميد. ويلزم إجراء المزيد من الدراسات لمعرفة الحجم الدقيق لهذه المشكلة، في الأنواع البكتيرية الأخرى في مدينة الموصل.

الاستنتاجات

من المثير للقلق أن نلاحظ تقريبا أن جميع العزلات المدرجة في هذه الدراسة وجدت مقاومة لأربعة أو أكثر من المضادات الحيوية. ولاشك ان هذه المقاومة مشكلة كبيرة على مستوى الصحة العامة لانها تهدد الأرواح وتضيف عبأ مالي على الرعاية الصحية. ولذلك يتعين على الهيئات الصحية صياغة سياسة صارمة تحد من استخدام المضادات الحيوية في مدينتنا وبلدنا أيضا من أجل السيطرة على مشكلة مقاومة المضادات الحيوية والحد من انتشارها ومنع ظهور بكتيريا جديدة مقاومة للأدوية المتعددة.

المصادر:

[1] W.E. Stamm and R.S. Norrby "Urinary tract infections: disease panorama and challenges". J.Infect.Dis.,183 Suppl 1:S1-4. (2001).

[2] J.A.Karlowsky , M.E. Jones and C.Thrnsberry "Prevalence of antimicrobial resistance among urinary tract pathogens isolated from female outpatients across the US in 1999".Int.Antimicrob.Agents, 18:121-127. (1999).

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

[3] H.Arslan , O.K. Azap, O.Ergonul and F. Timurkaynak “Risk factors for ciprofloxacin resistance among *Escherichia coli* strains isolated from community-acquired urinary tract infections in Turkey”. J.Antimicrob.Chemother.,56:914-918.(2018)

[4] M.Akram , M.Shahid and A.Khan, “Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in JNMC hospital Aligarh, India”. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob., 6:4-10. (2007).

[5] E.W. Koneman , S.D. Allen , W.M. Janda , P.C. Schreckenberger and W. C.Winn "Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology" . 5th ed., Lippincott-Raven publisher ,Philadelphia, U.S.A. (1997).

[6] D.M. Livermore, “β-lactamases in laboratory and clinical resistance” . Clin.Microbiol.Rev.,8: 557-584(1995).

[7] K.Bush , G.A. Jacoby and A.A. Medeiros “A functional classification scheme for β-lactamases and its correlation with molecular structure” . Antimicrob. Agents Chemother., 39: 1211-1233 (1995).

[8] P.Bradford “AExtended-spectrum β-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistant threat” . Clin.Microbiol.Rev.,14: 933-951.(2001).

[9] K.S. Thomson “Controversies about extended-spectrum and AmpC β-lactamases” . Emerg.Infect.Dis., 7: 333-336(2001).

[10] M.A. Pfaller and J.Segreti “Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum β-lactamases”. Clin.Infect.Dis.,42 Suppl 4:S153-162. (2006).

[11] J.R. Knox “Extended-spectrum and inhibitor-resistant TEM-type β-lactamases: Mutations, specificity, and three-dimensional structure” . Antimicrob. Agent Chemother., 39: 2593-2601(1995).

[12] K.Nasim , , S.Elsayed , J. D. D.Pitout , J.Conly , D. L.Church and D.B. Gregson “New method for laboratory detection of AmpC β-lactamases in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumonia”* . J.Clin.Microbiol., 42: 4799-4802(2004).

[13] V.Manchanda and N.P. Singh “Occurrence and detection of AmpC β-lactamases among gram-negative clinical isolates using a modified three-dimensional test at Guru Tegh Bahadur hospital ,Delhi, India” .J.Antimicrob.Chemother., 51: 415-418(2003).

[14] A.M.Queenan , S.Jenkins and K.Bush “Cloning and biochemical characterization of FOX-5, an AmpC-type plasmid-encoded β-lactamase from a New York city *Klebsiella pneumoniae* clinical isolate” . Antimicrob. Agents Chemother., 45: 3189-3194(2001).

[15] A.Philippon , G.Arlet and G.A. Jacoby “Plasmid AmpC-type β-lactamases” . Antimicrob. Agents Chemother., 46: 1-11(2002).

[16] E.J.Baron , L.R.Peterson, and S.M.Finegold “Bailey&Scott's Diagnostic Microbiology” .9th.ed.,Mosby-Year Book ,Inc.,U.S.A. .(1994)

[17] J.F. MacFaddin “Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria” . 2nd ed., Williams&Wilkins company , Baltimore , U.S.A. . (1985)

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/

[18] National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS "Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests" ;Approved Standards-8th ed., M2-A8, Vol.20 , No.1 ,NCCLS , Wayne , PA , U.S.A. (2003).

[19] A.E.Brown "Benson`s Microbiological *Applications Laboratory Manual in General Microbiology"*10thed., P. 102-263. McGraw-Hill comp. Inc., USA. .(2007)

[20] National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing ; 14th Informational Supplement" . M100-S14 ,Vol.24 ,No.1 ,NCCLS, Wayne , PA , U.S.A. (2004).

[21] D.M.Livermore, and D.F.J.Brown "Detection of β-lactamase-mediated resistance". J. Antimicrob. Chemother., 48 Suppl 1:S59-64.(2001)

[22] C.C. Sanders , A.L. Barry , J.A. Washington , C.Shubert , E.S.Moland , M.M. Traczewski , C.Knapp , and R.Mulder, "Detection of extended-spectrum-β-lactamase-producing members of the family *Enterobacteriaceae* with the Vitek ESBL test" . J.Clin.Microbiol., 34: 2997-3001(1996).

[23] P.E.Coudronm, E.S. Moland, and K.S.Thomson "Occurrence and detection of AmpC β-lactamases among *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Proteus mirabilis* isolates at a veterans medical center". J.Clin.Microbiol.,38: 1791-1796 .(2000).

[24] T.M. File "Overview of resistance in the 1990s" .Chest 115 Suppl:3S-8. .(1999)

[25] L.M. Prescott , J.P. Harley and D.A. Klein " Microbiology" . 3rd ed., Wm.C. Brown Communication, Inc., Iowa, U.S.A. (1996).

[26] M.Z.Al-Hasso "Extraction and purification of β-lactamases from some Gram negative bacilli isolated from lower respiratory tract infections and study of some of their characteristics". Ph.D thesis, College of Science, Mosul University.(in Arabic) (2006).

[27] N.D. Hanson "AmpC β-lactamases : What do we need to know for the future ?" . J.Antimicrob.Chemother.,52:2-4(2003).

[28] J.K.Alham and M.Ali "Investigation of broad-spectrum bitachemic enzymes in clinical isolation Pseudomonas aeruginosa in Najaf" AL Kufa University Journal for Bilogy Vol 4 No 1 (2012).

[29] M.Stoczko , J. Frere, G.Rossolini and J.Docquier "Antimicro". Agents Chemother.,11: 1973-1981. (5) Livermore, D. M., Clin. Microbiol. Rev.,8: 5(2006).

[30] J. N . Samaha-Kfouryand , G. F.Araj BM J, 327:1209-1213 (2003) .

[31] M.A. Mahmood , M.A. Essa "Antimicrobial activity of peptides extracted from camels' blood neutrophils against some pathogenic bacteria" Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 35, No. 1,33-37 (2021) .

Downloaded from https://edusj.mosuljournals.com/