دراسة تأثير الامبرازول(Omeprazole) كمثبط لمضخات دفق السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين في بعض العزلات البكتيريه المعزوله من المرضى.

رغد عبد اللطيف عبد الرزاق
قسم علوم الحياة – كلية العلوم – الجامعة المستنصرية

الخلاصه

درس تاثيرالامبرازول(omeprazole) كمثبط لمضخات الدفق(Efflux pumps) لاختبار إمكانية تقليل مقاومة بعض العزلات المرضيه لمضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين.
تم اختيار عزلات*Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter*, *Esherichia.coli*, *Staphylococcus aureus* مقاومه لكل من مضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين بعد ذلك تم تحديد التركيز المثبط الادنىMIC(Minimal Inhibitory concentration) لكل من مضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين بطريقه التخافيف المتضاعفه المتسلسله في انكار مولر هنتون وقد بلغت قيم MIC للسبروفلوكساسين256 مايكروغرام/مل و64 مايكروغرام/ مل لكل من بكتريا *E.coli* و*Enterobacter* على التوالي و512مايكروغرام/ مل لكل من ***S.aureus*** و*Ps.aeruginosa* . بينما بلغت قيم MIC للنورفلوكساسين 512مايكروغرام /مل لكل من *E.coli* و *Ps.aeruginosa* و1024 مايكروغرام/مل لبكتريا *S.aureus* و256 مايكروغرام/مل لبكتريا *Enterobacter*,من جانب آخر تم إجراء فحص MIC للامبرازول لوحده ولم يظهر له اي تاثير على العزلات المرضيه .
بعدها تم اجراء فحص MIC لمضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين باضافه الامبرازول وبتركيز100 مايكروغرام/ مل لكل تركيز من تراكيزالسبروفلوكساسين والنورفلوكساسين وقد بلغMIC للسبروفلوكساسين 32 مايكروغرام/ مل لعزلات *Enterobacter, E.coli* و128 مايكرو غرام/مل و64 مايكروغرام/مل لكل من*S.aureus* و*Ps.aeruginosa* وبلغ MIC للنورفلوكساسين 128 مايكرورام/مل لبكتريا *E.coli* و64 مايكروغرام /مل للـ *Enterobacter* و256 مايكروغرام/مل لكل من *S.aureus* و *Ps.aeruginosa* .

المقدمة

يعد مضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين من مجموعه الكوينولونات Quninolons واسعة الطيف ولهما فعاليه ضد البكتيريا السالبه والموجبه لملون غرام (Katzung ، 2004) .
تطورت المقاومة للمضادين عن طريق تحوير الهدف الذي يعمل عليه المضاد وهو انظيم DNAgyrase الذي يحول الكروموسوم البكتيري فائق اللف super coiled (Alexandara وآخرون ، 2005). وكذلك لوجود مضخات الدفق التي تعد من أهم العوامل التي أدت إلى نشوء المقاومة المتعددة لمضادات الحياة ,إذ تعمل مضخات الدفق على تقليل تركيز المضاد في موقع الهدف الذي يعمل عليه المضاد (Keith ، 2005) .

- - - - - - - - - - - - - -
تاريخ استلام البحث 9 / 5 / 2010 .
تاريخ قبول النشر 21 / 9 / 2010 .

تقسم مضخات الدفق إلى عده عوائل وهـي MATE,ABC,SMR,RND تتـوزع مـابين البكتريا السالبه والموجبه لملون غرام. توجد في بكتريـا *Ps.aeruginosa* مـضخه دفـق-Mexcp oprn,Mexab,oprm,Mexjk-oprm,Mexxy-opmy oprj,Mexef- وهـ ـي مـ ـن عائلـ ـه RNDالمسؤوله عن مقاومه البكتريا لمضادات الامينوكلايكوسـايدات والكوينولينـات (Omeregia وآخرون ، 2007) .

وفي بكتريا *E.coli* توجد مضخات دفقAcrAb-tolc المسؤوله عـن مقاومـه البكتريـا للكوينولونات (Bottner و Kerny ، 2001) .أما بالنسبة لبكتريا S.aureus فتوجد مضخات دفق NOrA-Mep-AMDR التي ساهمت في نشوء المقاومـه المتعـدده لمـضادي السبروفلوكـساسين والنورفلوكساسين (Aureli و آخرون ، 2008) وتوجد في بكتريا *Enterobacter* مضخات دفق AcrAB-Tolc ,MexAB-opr (Murielmasi و آخرون ، 2005) .

يعد الامبرازول كعقار يستخدم لتخفيض حموضه المعـده ويـستخدم لعـلاج قرحـه المعـده والمرىويساعد في سرعه التئام القرح ويساهم الامبرازول في تثبيط مضخات الدفق المـسؤوله عـن زياده مقاومه البكتريا للمضادات (Paul-Magnusc ، 2001) .

يهدف البحث الى معرفه تاثير الامبـرازول كمثـبط لمـضخات دفـق السبروفلوكـساسين والنورفلوكساسين كمحاوله لتقليل مقاومه بعـض البكتريـا المرضـيه لمـضاد السبروفلوكـساسين والنورفلوكساسين.

المواد وطرائق البحث

العزلات البكتيريـة *S.aureus* و *Ps.aeruginosa* من مستشفى ابن البادي للأطفال عزلـت مـن حالات التهاب المجاري البوليه للأطفال وتم تشخيصها استنادا إلى الفحوصات البايوكيميائيه واستخدام عده التشخيص API20E و APISTAPH وحسب ما ورد من قبـل (Greenwood وآخـرون ، 2002).

2- فحص الحساسية لمضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين .

تم اختبار حساسيه العزلات البكتيريه قيد الدراسه لمضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكـساسين باستعمال اقراص (5 mg) بطريقه الأقراص على وسط اكار موار هنتون الصلب وقد قورنت مناطق التثبيط مع الاقطـار القياسـيه التـي وردت فـي National Committee for Clinical(2002) Laboratory Stander .

3-تحديد التركيز المثبط الادنى للسبروفلوكساسين والنورفلوكساسين .

تم تحديد التركيز المثبط الادنى للسبروفلوكـساسين والنورفلوكـساسين بطريقـه التخـافيف المتضاعفه المتسلسله على وسط اكار موار هنتون .

4- تحديد التركيز المثبط الادنى للامبرازول

تم تحديد التركيز المثبط الادنى للامبرازول بطريقه التخافيف المتضاعفه المتسلـسله فـي اكـار موارهنتون.

5- دراسة تأثير الامبرازول في تقليل MIC لمضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين.

تم خلط الامبرازول وبتركيز 100 مايكروغرام/مل مع التراكيزالمختلفـه لكـل مـن مـضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين لتحديدMICللمضادين بوجود الامبرازول.

النتائج والمناقشه

نظرا للفعاليه التي تتصف بها مضادات الكوينولينات فان البحث عن مركبات تعيدهذه الفعاليـه في العزلات البكتيريه المقاومه لهذه المضادات يعد امرا ضروريا لما لها من فعاليـه ضـد البكتريـا السالبه والموجبه لملون غرام ولها القابليه الى الوصول الى الجسم وبتراكيز علاجيه فعاله وتـستخدم

في علاج اخماج المسالك البوليه والتنفسيه والتناسليه والتهاب الجيوب الانفيه والتهاب الاذن الوسطى ويعد النورفلوكساسين فعال ضد البكتريا السالبه المتسببه في تليف الكبد (Anandkumar وآخرون ، 2003) .

في هذه الدراسه تم اختيار امكانيه تقليل مقاومه العزلات البكتيريه لمضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين باستعمال الامبرازول. تم الحصول على عزلات تعود لبكتريا *E.coli* و*Enterobacter* و*S.aureus* و*Ps.aeruginosa* مقاومه لهذين المضادين وقد اختيرت مقاومتها باستعمال طريقه الاقراص وقد بلغت اقطار منطقه التثبيط لمضاد السبروفلوكساسين 14 ملم لكل من *E.coli* و*Enterobacter* و13 ملم لكل من*S.aureus* و*Ps.aeruginosa* بينما بلغت اقطارمنطقه التثبيط لمضاد النورفلوكساسين 11ملم لبكتريا *E coli* و*Enterobacter* و10 ملم لكل من *S.aureus* و*Ps.aeruginosa* .

أظهرت نتائج اختبار تحديد التركيز المثبط الادنى للسبروفلوكساسين لعزلات *E.coli* و*Enterobacter* و*S.aureus* و*Ps.aeruginosa* ان MIC 256 مايكروغرام/ مل و64 مايكروغرام/مل لعزلات *E.coli* و*Enterobacter* و512 مايكروغرام/مل لكل من *S.aureus* و*Ps.aeruginosa* . بينما سجلت قيم التراكيز المثبطه الدنيا لمضاد النورفلوكساسين 512 مايكروغرام/مل لكل من *E.coli* و*Ps.aureginosa* على التوالي و256 مايكروغرام /مل لبكتريا *Enterobacter* و1024 مايكروغرام/مل لل*S.aureus*.

بعد ذلك تم دراسه تاثير الامبرازول لوحده على العزلات البكتيريه قيد الدراسه وقداظهرت النتائج عدم وجود تاثير للامبرازول على العزلات البكتيريه

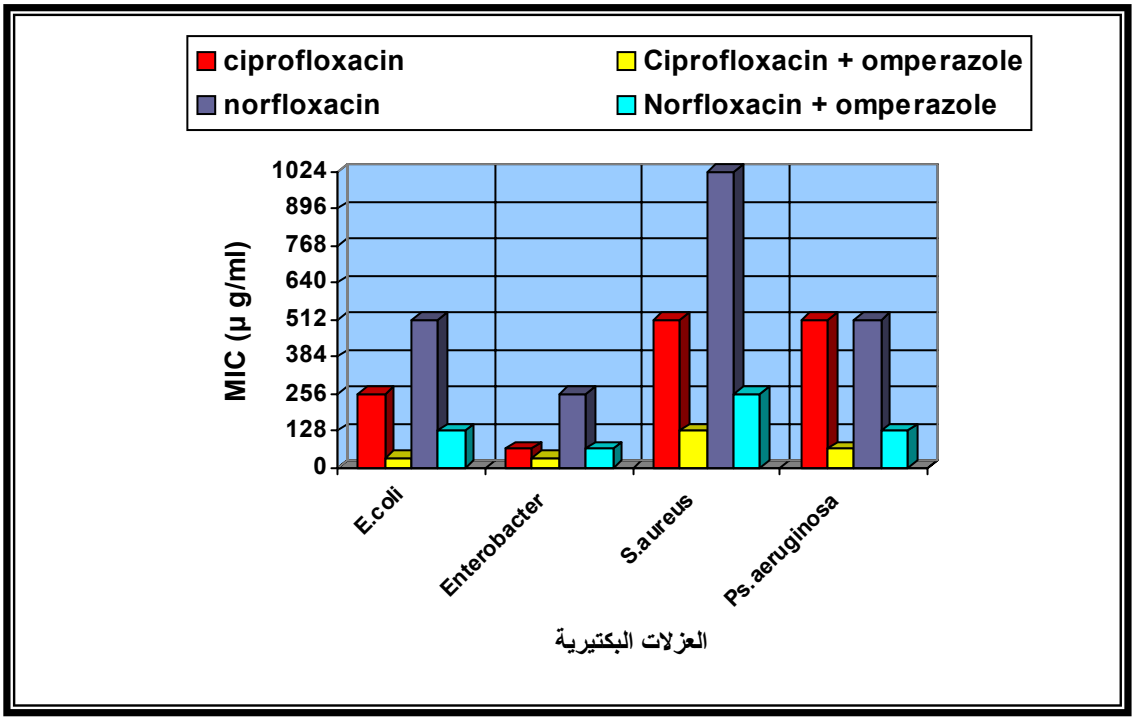
تم اختيار تركيز 100 مايكروغرام/مل من الامبرازول لخلطه مع مضاد السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين اذ لوحظ ازدياد مناطق التثبيط للعزلات البكتيريه اذ اصبحت 20ملم و22ملم و19ملم و18ملم لكل من *E.coli* و*Enterobacter* و*S.aureus* و*Ps.aeruginosa* بالنسبة لمضاد السبروفلوكساسين و18ملم و17ملم و15ملم و14ملم لكل من *E. coli* و*Enterobacter* و*S.aureus* و*Ps.aeruginosa* على التوالي بالنسبة لمضاد النورفلوكساسين مما يدل على التأثير التثبيطي للامبرازول لمضخات دفق السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين في البكتيريا .

أظهرت نتائج اختبار التركيز المثبط الأدنى إنMIC للسبروفلوكساسين اصبح32مايكروغرام/مل لكل من *E.coli* و*Enterobacter* و128مايكروغرام/مل لل*S.aureus* و64مايكروغرام/مل لل*PS.aeruginosa* وهذا يتفق مع ما أشار إليه Celline وآخرون ، (2007) .إذ كان MIC للسبروفلوكساسين لوحده 128مايكروغرام/مل لعزلات *S.aureus* أصبح 16مايكروغرام/مل بعد خلطه مع الامبرازول وهي مقاربه لما توصلنا اليه في هذه الدراسه. بينما أصبح MIC لمضاد النورفلوكساسين 128مايكروغرام/مل لكل من *E.coli* و*Ps.aeruginosa* و64مايكروغرام/مل لل*Enterobacter* و256مايكروغرام/مل لل*S.aureus*. جدول (1) شكل (1)

يبين التركيز المثبط الادنى للسبروفلوكساسين والنورفلوكساسين لوحدهما مقارنه بعد خلطهما مع الامبرازول .

جدول 1. التركيز المثبط الأدنى لمضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين لوحدهما وبعد خلطهما مع الامبرازول .

ت	العزلات البكتيرية	MIC للسبروفلوكساسين لوحده (µ g/ml)	MIC للسبروفلوكساسين بعد خلطه مع الامبرازول µ ml/gL	MIC للنورفلوكساسين لوحده (µg/ml)	MIC للنورفلوكساسين بعد خلطه مع الامبرازول (µgml)
1	***E.coli***	256	32	**512**	128
2	***Enterobacter***	64	32	**256**	64
3	***S.aureus***	512	128	**1024**	256
4	***Ps.aeruginosa***	512	64	**512**	128



شكل1.التركيز المثبط الأدنى لمضادي السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين لوحدهما وبعد خلطهما مع الامبرازول .

المصادر

Alexandara Aurby,Xiuo-Supan,L.Mark fisher Vincent Jarlier and E.cambau. 2005. *Mycobacterium tuberculosis* DNAgyras interaction with Qunolones and correlation with Antimycobacterial drug activity. Antimicrobial Agent and Chemotherapy,VOL 48,no.4, P:1281-1288.

Anandkumar ,H. Dayanand kumar, H., Dayanand, Vinodk umar, and C.S.akd Ikapur.2003. Invitro activity of norfloxacine agent uropathogeneses and drug. efficacy in simulated bladder model under diabetic condition. Medical Microbiology.21(1).P:37-42.

Aurelie A.Huet, Josel ,Raygada, K. Rutta, S. Seo and G. Kaatz. 2008. Multidrug efflux pump overxpression in x after single and multiple in vitro exposures to biocides and dyes. Microbiology(154).3144-3153

Bottner ,J. and S. Kernw. 2001 .An substrate and inhibition by efflux pump . Interscence on antimicrobial agent and chemotherapy Chicago , 41st .

Celline V. ,J. Gulliou,Corinnearpin,Isabelle forfar-Bares Boubakar B.Ba,Jean Grellet,Stephan morean,Danieal – Herr caignard,Christian Jarry, and Clandin Quenth. 2007 .Synthesis of Omeprazole Analogues and evaluation of these as potential inhibitor of multidrug efflux pump NOrA of *Staphylococcus aureus* antimicrobial agent Chemother ,51(3),P:831-838.

Greenwood, D.J. Slack, R.C. and J.F. Peuthere. 2002. Medicals to microbiology 16th ED.Churchill livingen .

Katzung, B.G. 2004. Chemotherapeutic drug basic and clinical pharmacology .gth ed : 733-18.

Keith P. 2005. Efflux –mediated antimicrobial resistance. Journal of Antimicrobial Chemotherapy VOL56,N.1,P:20-51

Murielmasi, J. ,G. ,Villard and E. Pradel. 2005. The eeFABC multidrug efflux pump operon is repressed by H-NS in *Enterobacter aerogenes*. Journal of Bacteriology .VOL.187, NO.11, P:3894-3897.

National Committee for Clinical Laboratory Stander. 2002 . The performance standard from antimicrobial susceptibility testing methods (7th ed) VOL.22(1),USA.

Omeregia, A. , D.J.V, D. , Jo, Ibeh, I.N. and H.O. Ogefer. 2007.Prevalance of multidrug efflux pump reguring ciprofloxacine,ofloxacin and pefloxacin as substrates, among clinical isolates of *Ps.aeruginosa* . Malaysian Journal of Microbiology.VOL 3(20),pp:37-40 .

Paul-Magnusc, Rekers Bricks, Klotzu, and Mf. Fromm. 2001 . Interaction of omeprazole, lansoprazole and pantaprazole with P-glycoprotein naunyn Schmiedebers arch pharmacol. : 364 (6) P:551-7 .

STUDY THE INHIBITORY EFFECT OF OMPERAZOLE ON EFFLUX PUMPS FOR CIPROFLOXACINE AND NORFLOXACINE ON SOME BACTERIAL ISOLATE FROM PATIENT

Raghad Abd-Alatif
Dept. of Biology - College of Science- Al-Mustansiria University.

ABSTRACT

The inhibitory effect of omperazole on drug efflux pumps for decrease of antibiotic resistance in some isolates included(*E.coli, Enterobacter, Staphylococcus aureus., Pseudomonas aeruginosa*) to ciprofloxacin and norfloxacne.The minimal inhibitory concentration(MIC) of ciprofloxacin and norfloxacin were determined by using tow fold dilution method on muller hinton agar. The MIC of ciprofloxacine was 256µg/ml,64µg/ml, In *E.coli* and *Enterobacter* respectively and 512µg/ml in S.*aureus* and *Ps. aeruginosa*. the MIC values of norfloxacin was 512µg/ml in *E.coli* and *Ps.aeruiginosa* and 1024µg/ml in *S. aureus* and 256µg/ml in *Enterobacter* . On the other hand the MIC of omperazole alone was tested there was no effect on pathogenic bacteria.

The MIC of ciprofloxacin and norfloxacion were determined after added of 100mg/ml of omperazol on each of concentration .the MIC of ciprofloxacin became 32µg/ml in *E.coli and Enterobacter* and 128µg/ml,64µg/ml for *S.aureus* and *Ps.aeruginosa*. while the MIC of norfloxacin after added omperazole was 128µg/ml to *E.coli* , 64µg/ml to *Enterobacter* and 256µg/ml for *S.aureus* and *Ps.aeruginosa*