

# عزل وتعريف البكتريا الممرضة التي تظهر مقاومة للمطهرات

عبدالإله مصلح الخزاعي

تحت إشراف:

د. بسام عوده الجهني

## المستخلص

تستخدم المطهرات على نطاق واسع في جميع أنحاء العالم. الاستخدام المفرط وإساءة استخدام المطهرات قد تؤدي إلى فشل في عمليات التطهير ومشاكل في الصحة العامة. البكتريا المقاومة لمضادات الميكروبات هي مصدر قلق عالمي. المطهرات لا تقدر بثمن بالنسبة للمجتمع، وهي أساسية للصحة العامة. نبحت في هذه الدراسة عن تواجد البكتريا الممرضة في بعض المنشآت الغذائية وقدرتها على إظهار المقاومة لبعض المطهرات الشائعة. عزلت البكتريا من خمس منشآت غذائية وتم تعريف هذه العزلات باستخدام الطرق الوراثية (16s rRNA). تم تحديد التراكيز المثبطة (MIC) والتراكيز القاتلة (MBC) للمطهرات باستخدام طريقة (macro-dilution method) وتم استخدام ستة مطهرات تحتوي على كلوريد البنزلكونيوم وكلوروزاينول وهيبوكلوريت الصوديوم متاحة في تركيبين إحداهما نقيه والأخرى تجارية. كذلك تم تعريض العزلات لتراكيز أقل من التراكيز المثبطة لنمو البكتريا لمراقبة تأثير التراكيز دون المثبطة على زيادة مقاومة البكتريا. تم عزل وتعريف ستة عشر عزله بكتيرية واختيار ثلاث عزلات ممرضة (*Klebsiella pneumoniae* C10, *Staphylococcus sciuri* YY64 and *Macrococcus caseolyticus* CCM7927). أظهرت نتائج التراكيز المثبطة أن *Klebsiella pneumoniae* لديها قدرة عالية على تحمل الكلوريد بنزلكونيوم والكلوروزاينول التجاري، وأما التراكيز القاتلة فأظهرت النتائج قدرة *Klebsiella pneumoniae* على مقاومة هيبوكلورايت الصوديوم وكلوريد بنزلكونيوم وكذلك كلوروزاينول التجاري، أما كلوروزاينول النقي فإن بكتريا *Staphylococcus sciuri* لديها أعلى مقاومة. بعدما تعرضت البكتريا للتراكيز دون المثبطة (sub-inhibitory concentration) زادت التراكيز المثبطة والقاتلة في 66٪ من النتائج وكانت أعلى زيادة في التراكيز المثبطة لبكتريا *Staphylococcus sciuri* حيث زادت نسبة التراكيز المثبطة لمادة كلوريد البنزلكونيوم ستة عشر ضعفاً، وبالنسبة للتراكيز القاتلة فكانت أعلى زيادة لبكتريا *Klebsiella pneumoniae* حيث كانت الزيادة في التراكيز القاتلة لمادة الكلوروزاينول إلى ثمانية أضعاف التركيز السابق. بناءً على هذه النتائج فإن سلالة *Klebsiella pneumoniae* كانت البكتريا الأكثر مقاومة للمطهرات في هذه الدراسة. هذه النتائج تشير إلى أن إساءة استخدام المنتجات المطهرة لعمليات التنظيف والتطهير قد تزيد من مقاومة البكتريا للمطهرات والتي بذلك قد تؤدي إلى فشل التطهير مما يسبب تهديداً للصحة العامة.

# **Isolation and identification of pathogenic bacteria showing resistance against disinfectants**

**Abdulelah al Khuzae**

**Supervised By**

**Dr. Bassam al Johny**

## **ABSTRACT**

Disinfectants used extensively across the world. Overuse and misuse of disinfectants could lead to disinfection failure, problems to public health and may cause food-borne disease outbreaks by pathogenic bacteria. This study investigates the presence of pathogenic bacteria in food facilities and their ability to show resistance against disinfectant products. Bacteria were isolated from five food facilities and identified using 16s rRNA. Minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration was determined using macro-dilution broth following the Clinical and Laboratory Standards Institute guidelines and six disinfectants used for this experiment were sodium hypochlorite, chloroxylenol and benzalkonium chloride were available on two formulations (commercially and pure). Isolates were exposed to sub-inhibitory concentration to observe the effect of sub-inhibitory concentration on increasing bacterial resistance to disinfectants. Out of selected strains, three were identified as pathogenic bacteria *Klebsiella pneumoniae* C10, *Staphylococcus sciuri* YY64 and *Micrococcus caseolyticus* CCM7927. Minimum inhibitory concentrations results showed that *Klebsiella pneumoniae* have very high tolerance to both commercially benzalkonium chloride and chloroxylenol, for minimum bactericidal concentrations *Klebsiella pneumoniae* showed high resistance to sodium hypochlorite, benzalkonium chloride, and commercially obtained chloroxylenol while *Staphylococcus sciuri* showed high resistance to pure obtained chloroxylenol. Exposing to sub-inhibitory concentration increased the MIC and MBC on 66% of the result. The highest increase to MIC was *S.sciuri* as their MIC value to benzalkonium chloride increased sixteen-fold (from 1.07 µg/ml to 17.3 µg/ml), and for MBC result *K.pneumoniae* showed eight-fold increase to chloroxylenol (from 75 µg/ml to 600 µg/ml). Based on these results *K.pneumoniae* were the most resistance bacteria to disinfectants. These results suggest that the misuse of disinfectant products for disinfection processes may increase bacterial resistance to disinfectant which could lead to disinfection failure and cause threat to public health.