دراسة التلوث البكتيري لقطرات العين المعقمة

لمى عبد الهادي سندس عبد المهيمن

جامعة بغداد / كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم / قسم علوم الحياة

الخلاصة

جمعت 24عينة من قطرات العين المعقمة من صيدليات في مدينة بغداد ودرس التلوث البكتيري للقطرات, وبينت النتائج وجود بكتريا موجبة وسالبة لصبغة كرام في بعض العينات اذ لوحظ ارتفاع نسبة بكتريا *Staphylococcus albus* لتصل الى 62 % اما بكتريا *klbsiella* spp بلغت نسبتها 25% اما *E. coli* 13%,في حين فعالية القطرات في تثبيط نمو بكتريا *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* اذ استعملت طريقة الانتشار في الحفر في قياس فعالية القطرات في تثبيط نمو بكتريا *E.coli* و *S.auraus* وبينت النتائج ان هناك اختلاف في نسب التثبيط لبكتريا *E.coli* اذ يلاحظ ان العينات 3و4 و7و9 و 15و 16 لم تعطى اي نسب تثبيط في حين لوحظ العينات 2 و 11و 12و 14 اعطت نسب تثبيط عالية لتصل الى 52 ملم كما في العينة 2 .اما نسب تثبيط القطرات قيد الدراسة ضد بكتريا *S.aureu*اذ لوحظ هناك ارتفاع كبير في تثبيط البكتريا الموجبة عن البكتريا السالبة لصبغة كرام اذ اعطت العينات 2و5 و10و11و12و 14اعلى نسب تثبيط لتصل الى 60% في حين لم تعطى العينات 4و 16 اي نسبة تثبيط ,اما دراسة تاثير الخزن على مدى تلوث العينات وفعاليتها االتثبيطية للعينات (-24-17) فقد بينت النتائج ان خزن العينات لمدة 21يوم وفحصها اسبوعيا فقد اظهرت العينة 21تلوثا بعد 14يوم من خزنها في حين لوحظ تلوث العينات 17و 19 و 20 في اليوم الاول من فتحها ولم يلاحظ زيادة في التلوث طول فترة الخزن . اما العينات 18 و 22و 23 و 24 فلم يلاحظ تلوثها طول فترة الخزن . وعند دراسة فعالية القطرات في تثبيط البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام لوحظ عدم انخفاض في فعالية التثبيط للعينات باستمرار فترة الخزن .

المقدمة:

لكل دواء فوائد في علاج بعض الامراض لكنه قد يسبب بعض الاثار الجانبيه .في حين ان مايميز قطرات العين لاتصل الى الجسم الا بمقدار قليل جداً لذا فان الاثار الجانبيه منها نادرة,الا ان لبعض قطرات العين مفعول دوائي قوي والذي قد يؤثر على الجسم والعين مثل دواء معالجة حدقه العين والمخدره والمعالجه للالتهابات العين والخافضة لضغط العين (1) .وقد اشار (2) الى انخفاض عدد الراقدين في مستشفى العيون في المملكه المتحده بعد اجرائهم لعمليات جراحيه للعين او اجرائهم لفحوص روتينيه باستخدام قطرات العين اذا اشار ان الانخفاض في العدد يعود الى التلوث الحاصل بقطرات العين ,مشيرا الى وجود نمو مايكروبي في الزجاجيات الخاصة بقطرات العين اما (3و4و5) فقد اشار الى ان عدم وجود التلوث في قطرات العين يعود الى المواد الحافظه التي تضاف اثناء تحضير القطرات .قد قامت لجنه دستور الادويه البريطانيه عن اجراء دراسه على قطرات العين حاويه للمواد حافظه فوجدت من اصل 604 عينه 5% ملوثه بكتيريا coagulase negative staphylococcus (2) ا ما (6) فقد اشار الى حدوث التهابات بالعين نتيجه لتلوث قطرات العين وخاصه في بكتريا *Pseudomonas pyocyanea*اما (3) فقد اشار الى التهاب القرنية ببكتريا *Serratia*بفعل فوهات قطرات العين الملوثة . في حين اشار (7) الى ان 5.9% من العينات التي جمعها من المستشفيات والعيادات كانت ملوثه ببكتريا ,وقد بين (8 و9) وصول النسبه الى 28% و 34% على التوالي .في حين اشار (10) الى حدوث تلوث مايكروبي بعد فتح قناني القطرات اذا لوحظ ان زياده نسبه التلوث من 6.1%الى 9.1% بعد 7 و 14 يوم من الاستعمال على التوالي.لذا هدفت الدراسة الحالية الى تسليط الضوء على دراسة المحتوى البكتيري لقطرات العين الطبية .

الكلمات المفتاحية : قطرات العين, انواع قطرات العين , استعمالها ,التلوث البكتيري

طريقه العمل:

1. تم جمع العينات (قطرات العين) من الصيدليات في مدينة بغداد ثم سجلت المعلومات الموجودة على العلبة من حيث اسم القطرة و المنشئ ومكوناتها و تاريخ انتهاء الصلاحية
2. قياس نمو البكتريا:

أ. دراسة المحتوى البكتيري لسوائل القطرات قيد الدراسة:

تم سحب 1 مللتر من القطرات قيد الدراسة ووضعت في أنابيب حاويه على 5 مللتر من الوسط ألزرعي NB المعقم وحضنت ألأنابيب بدرجة حرارة 37م لمدة 24–72 ساعة ثم زرعت على Maeconkey agar و Mannitol salt agar

ب. دراسة الفعالية المضادة للميكروبات لقطرات العين قيد الدراسة:

استعملت طريقة الانتشار في الحفر well diffusion method اذ لقحت اطباق حاويه على الوسط ألزرعي الصلب Nutrient agar بوساطة قطنه معقمة sterile swab من عالق بكتيري(*E.coli* و*S.auraus* تم الحصول عليها من مختبر الاحياء المجهرية كلية التربية للعلوم الصرفة ابن الهيثم /جامعة بغداد) كثافة خلاياه (1.5×10^8 خليه/ مللتر) قورنت مع المحلول القياسي مكفرلاند (No.5) ,وتم عمل حفر على الوسط الزرعي المزروع بوساطة pastor pipette ووضعت 0.1 مايكرولتر من كل قطرة قيد الدراسة لكل الحفر وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة وحددت فعالية القطرات بقياس قطر منطقة التثبيط حول كل حفرة بالملمتر ,

د. تشخيص العينات

تم زرع العينات على الاوساط الزرعية Nutrient Agar وMannitol Salt agar و Mac Conkey agar بطريقة التخطيط وحضنت الاطباف بدرجة 37م لمدة 24 ساعة ولتشخيص العزلات اذ استعمل كل من Kligler Iron ager و IMViC وانتاج Coagulase و Hemolysin و Fermentation Carbohydrate (11).

النتائج

شملت الدراسة 24 عينة من القطرات المعقمة للعين مختلفة السعة والمنتجة من مناشئ مختلفة، وجمعت العينات الاكثر استعمالا من الصيدليات والاسواق في محافظة بغداد وقد اظهر جدول (1) رمز واسماء العينات ومكونات المنتوج من المواد الكيمياوية والمنشأ.

جدول(1) رمز واسماء العينات ومكونات المنتوج من المواد الكيمياوية والدولة المنتجة

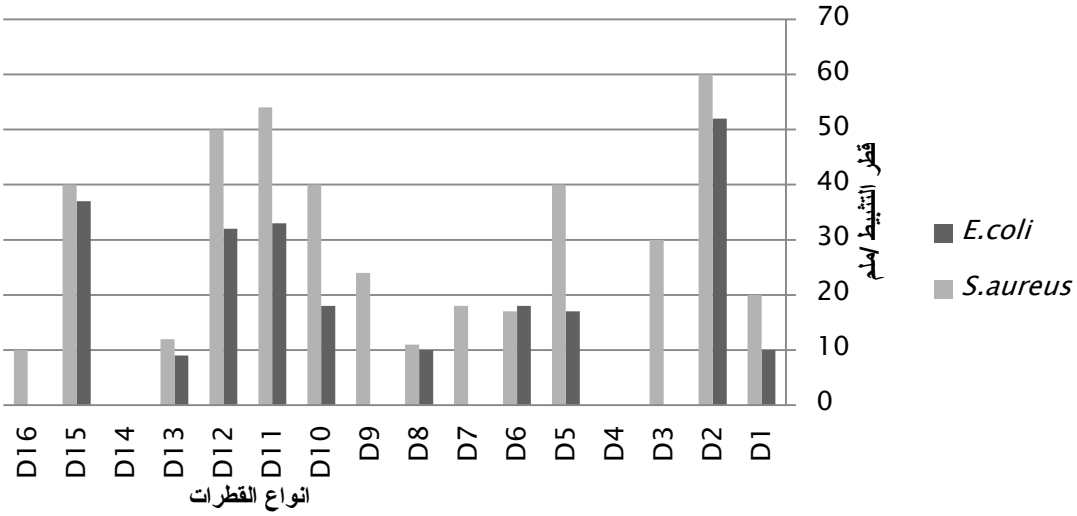
الرمز	اسم القطرات المعقمة	مكونات القطرات	المنشأ ومدة الصلاحية*
D1	Liposi	Carbomer, cetrimide ,sodium hydroxyde	فرنسا
D2	_frakidex	Framycetin sulphate dexamethasone sodium phousphate, benzalkonium chloride sodium citrate polysorbate sodium hydroxide hydrochloric acid Benzaalkonium chloride(excipient)	المملكة الاردنية
D3	apimol	Benzal kouinm chloride _timolo	فرنسا 28 يوم
D4	carteol	Carteololhyrochloride beuzalkonium chloride alginic acid sodium dihydrogen phosphate sodium chlorxide ,sodium hydroxide	Medium chain triylyceri des للعين الجافه فرنسا
D5	timolol	2_timolol maleate _prese _beu	جمهورية مصر العربية لمده شهر
D6	DexAmE thasone	Dexame thasone Sodium phsophate	لمده شهر الصين للالتهابات
D7	ساما فينكول	لايوجد معلومات	
D8	ophtazolin	_Antazolin sulphate _Naphazolin sulphate _Benze thonium _chloride _Sodium hyalurouate _Sodium chlorite	الهند لمده شهر
D9	cifran	_Cipro floxacin _Hydrochloride Benzalkonium chloride	
D10	predni solone acetate	لايوجد معلومات	المملكة الاردنية لمده شهر معقم
D11	apidex	Dexamethasone phosphate sodium _salt Benzalkonium chloride _preservative	المملكة الاردنية لمده شهر
D12	Eplcrom	_|sodium _cromoglycate	جمهورية مصر العربية لمده شهر

D13	norfloxacin	لايوجد معلومات	المانيا لمده شهر
D14	artelac (hypromellose)	_hypromellose _excipieutsi(sorbitol sodium dihydrogen phospate dihydrate Disodium phosphate dodecahydrate water for injectious)	فرنسا Single dose
D15	phenico	Chloramphenicol benzalkouium chloride	المملكة الاردنية
D16	clprocin	Ciprofloxacin Benzalkonium chloride	المملكة الاردنية
D17	hyhresh	Sodium hyaiuronate Sodium chlorite	المملكة السعوديه العربية
D18	ophtazlin	Antazoline sulphate naphazolin mtrate benzalkouium chloride	المملكة الاردنية
D19	apisal	Sodium chloridel Benzalkouium chloridel	المملكة الاردنية
D20	dexmethason	Dexameathason phsphate benzalkouium chloride	مضاد للالتهاباب جمهورية مصر العربية
D21	gentamycin	Geutamycin sulphate Geutamycin beuzalkaium chloride	الصين
D22	ciprodar	Ciprofloxacinlos ciprofloxacin hydro chloride	الصين
D23	phenicol	Chlorauphenicol Benzalkonium chloride	المملكة الاردنية Sterile eys drops
D24	NORLOX	Novfloxcim,Benzalkonium chlovide,Aqueousvehile	–

*المدة المحددة للاستعمال عند فتح القطرة

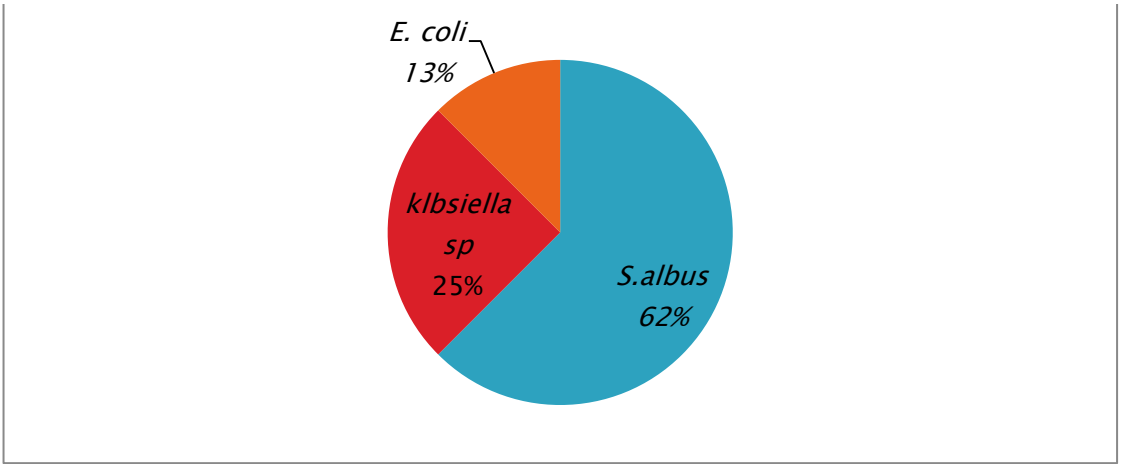
(D1– D16)قطرات مستعملة (مفتوحة) , (D17– D24) قطرات غير مستعملة (مغلقة)

اما الشكل (1) يبين نسب تثبيط قطرات العين لبكتريا *E. coli* اذ لوحظ هناك اختلاف في نسب التثبيط اذ يلاحظ من العينات 3و4 و7و9 و 15و 16لم تعطى اي نسب تثبيط في حين لوحظ العينات 11و 12و 14 نسب تثبيط عالية لتصل الى 52 ملم كما في العينة 11 اما جدول (3) يوضح نسب تثبيط القطرات قيد الدراسة ضد بكتريا *S.aureus*اذ لوحظ هناك ارتفاع كبير في تثبيط البكتريا الموجبة عن البكتريا السالبة اذ اعطت القطرات 2و5 و10و11و12و 14اعلى نسب تثبيط لتصل الى 60ملم في حين لم تعطى العينات 4و 16اي نسبة تثبيط .



شكل (1) يوضح الفعالية التثبيطية لقطرات العين المختلفة ضد بكتريا *E.coli* و*S.aureus*

اما الشكل(2) يوضح نسب البكتريا التي عزلت من القطرات المعقمة اذ يلاحظ هناك عزل للبكتريا السالبة والموجبة لصبغة كرام اذ لوحظ ارتفاع نسبة بكتريا *S.albus* لتصل الى 62 % اما بكتريا *klbsiella sp* بلغت نسبتها 25% و *E. coli* الى 13% في حين اشار (12)الى تلوث 77.3% من عينات قطرات العين المفحوصة ببكتريا *Bacillus sp* مشير الى ان البكتريا العصوية والموجبة لصبغة كرام تعد من اكثر انواع البكتريا تلوثا في المنتجات الصيدلانية والعينات البيئية ويعزى ذلك الى مقاومتها للعديد من الظروف .و قد اشار (13) الى عزل بكتريا *Staphylococcus aureus* و*Micrococcus* و*Neisseria* و *staphylococcus epidermidus* و *Candid albicans* و Gram negative rods من قطرات العين مشيرا الى ان معظمها تعود الى البكتريا الطبيعية الموجودة في العين .



شكل (2) يوضح المحتوى البكتيري لقطرات العين المعقمة قيد الدراسة (D16--D1)

جدول (2) اذ يبين لفعالية التثبيطية لقطرات العين اذ اظهرت النتائج ان كل من العينة D22و D23و D24فعالية تثبيطية عالية ضد البكتريا السالبة لصبغة كرام *E.coli* وبشكل اقل ضد البكتريا الموجبة لصبغة كرام *S.aureus* في حين لم تظهر العينات D17و D19و D20فعالية تثبيطية ضد بكتريا *E.coli* اما العينات D18و D21 اظهرت فعالية متوسطة ضد البكتريا في حين يبين جدول (3) الفعالية ضد بكتريا *S.aureus* اذ اظهرت العينات D18و D22و D23و D24فعالية عالية في حين العينات D19وD20 و D21فعالية متوسطة ولم تظهر العينة D17اي فعالية تثبيطية

جدول (2) الفعالية التثبيطية لقطرات العين المختلفة ضد بكتريا *E.coli* مقاسة بقطر التثبيط ملمتر

نوع القطرة	قطر التثبيط /ملمتر			
	مدة خزن /ايام			
	1	7	14	21
D17	0	0	0	0
D18	21	17	15	0
D19	0	0	0	0
D20	0	0	0	0
D21	17	15	12	18
D22	42	35	30	17
D23	42	40	40	35
D24	36	32	30	38

جدول (3) الفعالية التثبيطية لقطرات العين المختلفة ضد بكتريا *S.aureus* مقاسة بنسبة التثبط مليمتر

نوع القطرة	قطر التثبيط /ملمتر			
	مدة خزن /ايام			
	1	7	14	21
D17	0	0	0	0
D18	30	25	22	15
D19	15	15	21	15
D20	20	15	20	17
D21	20	20	17	0
D22	34	32	30	30
D23	28	29	28	28
D24	32	32	30	28

اما جدول رقم (4) يبين الانواع البكتيرية المعزولة اذ لوحظ عزل ثلاثة انواع من بكتريا من قطرات العين بعد خزن 14يوم اما دراسة تاثير الخزن على مدى ثلوث العينات وفعاليتها االتثبيطية فقد بينت النتائج ان خزن العينات لمدة 28يوم وفحصها اسبوعيا اظهرت تلوث العينة 21 بعد 14يوم من خزنها في حين لوحظ ثلوث العينات 17و 19و 20 في اليوم الاول من فتحها ولم يلاحظ زيادة في التلوث طول فترة الخزن . اما العينات 18 و 22و 23 و 24 فلم يلاحظ تلوثها طول فترة الخزن .في حين اشار (14) الى عدم وجود فروق معنوية بالتلوث بين اليوم الاول والرابع من الخزن في حين لوحظ حصول تلوث في اليوم السابع مشيرا الى ان اغلب انواع التلوث كان بالبكتريا الطبيعية الموجودة في الهواء الجوي اما (15 و 16)اشار ان اغطية زجاجيات القطرات تعد السبب الرئيسي في التلوث فضلا عن المواد الحافظة تكون غير كافية في منع التلوث القطرات العين (14). وهذا ما اشار اليه (17) بعدم وجود فرق بين القطرات الحاوية على 0.1% او اكثرمنbenzalkonium chloride في الفعالية التثبيطية . من دراسة فعالية القطرات في تثبيط البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام لوحظ عدم حصول انخفاض في فعالية التثبيط للعينات باستمرار فترة الخزن .

جدول (4) انواع البكتريا المعزولة من القطرات قيد الدراسة وعلى فترات زمنية مختلفة

	انواع البكتريا المعزولة			
نوع القطرة	مدة خزن /ايام			
	1	7	14	21
D17	*S.aureus*	*S.aureus*	*S.aureus*	*
D18	–	–	–	*
D19	*E.coli* ،*K.sp*	*E.coli*	*E.coli*	*
D20	*Enterobacter*	–	–	*
D21	–	-	–	*
D22	–	.–	–	*
D23	–	–	–	*
D24	–	–	–	*

عدم وجود نمو * لم تفحص-

المصادر

1- قطرات العين ,التوعية الصحية (2008).الجمعية السعودية لطب العين . WWW.dovepress.com

2. Srtevens , J. D. and Matheson , M. M. (1992) Survey of the contamination of eye drops of hospital inpatients and recommendations for the changing of current practice in eye drop dispensing , British journal of ophthalmology . 76 : 36-38 .

3-Templeton, W.C.; Eiferman, R.A. Snyder, J.W.;, Melo, J.C.and Raff, M.J. (1982).Serratia keratitis transmitted by contaminated eyedroppers. Am J Ophthalmol 93: 723-726.

4-Hovding, G.and Sjursen, H.(1984). Bacterial contamination of drops and dropper tips of in-use multidose eye drop bottles. Acta Ophthalmol 1982; 60: 213-222.

5-. Coad CT, Osato MS, Wilhelmus KR. Bacterial contamination of eye drop dispensers. Am J Ophthalmol , 98: 548-551

6-cCulloch, J.C.(2004). Origin and pathogenicity of *Pseudomonas pyocyanea* in conjucnctival sac. Arch Ophthalmol 1943; 29: 924 cited from . Reza Fazeli , M. ; Nejad , H. B. ; Mehrgan , H. ; Elahian , L. ; Microbial Contamination of Preserved Ophthalmic Drops in outpatient departments : possibility of an extended period of use , Akira Murakami , DARU Volume 12 , No. 4, 151 .

7-Du Bois, S.K.; Pinney, R.J.and Davison A.L.(1989). Investigation of the levels of bacterial contamination in used eye drops. Pharm J.; 237: R39. cited from . Reza Fazeli , M. ; Nejad , H. B. ; Mehrgan , H. and Elahian , L. (2004).Microbial Contamination of Preserved Ophthalmic Drops in outpatient departments : possibility of an extended period of use , Akira Murakami , DARU Volume 12 , No. 4, 151 .

8. Schein, O.D.; Hibberd, P.L. ; Starck, T.; Baker, A.S. and Kenyon, K.R.(2001). Microbial contamination of in-use ocular medications. Arch Ophthalmol 1992; 110: 82-85.

9-Tasli H, Cosar G. Microbial contamination of eye drops. Cent Eur J. Public Health ; 9: 162-4.

10-Livingstone, D.J.; Hanlon, G.W.and Dyke, S.(1998). Evaluation of an extended period of use for preserved eye drops in hospital practice. Br. J. Ophthalmol; 82: 473-475.

11-Forbes,B.A. ;Sahm, D. F.. and Weissfeld ,A.S.(2007). Diagnostic Microbiology ,Bailey &Scott's .11ed.MOSBY ELSEVIER

12. *Abo-State M.A.M. ; Husseiny S. H. M. ; Helimish , F. A. ; and Zickry , A. R. A.* (2012) Contamination of Eye Drops with *Bacillus* Species and Evaluation of Their Virulence Factors , world Applied Sciences Journal 19 (6) : 847-855 .

13. Raghad , A. ; Razooki ; Ebtihal , N. ; Saeed and Hanan , I. ; Omer A.-D. (2011) Microbial Contamination of Eye Drops in out Patient in Iraq , *Iraqi J Pharm Sie, Vol. 20 (2).*
14. Reza Fazeli , M. ; Nejad , H. B. ; Mehrgan , H. and Elahian , L. (2004).Microbial Contamination of Preserved Ophthalmic Drops in outpatient departments : possibility of an extended period of use , Akira Murakami , DARU Volume 12 , No. 4 , 15
15-Coad CT, Osato MS, Wilhelmus KR. Bacterial contamination of eye drop dispensers. Am J Ophthalmol 1984; 98: 548-551.
16-Schein, O.D.; Hibberd, P.L.; Starck, T.; Baker, A.S. and Kenyon, K.R.(1992). Microbial contamination of in-use ocular medications. Arch. Ophthalmol; 110: 82-85.
17. Honda , R. ; Roshida , H. ; Suto , C. ; Fujimaki , T. ; Kimura , T. ; Ohta, T. ; Effect of long-term treatment with eye drops for glaucoma on conjunctival bacterial , http://dx.doi.org/10.2147/ IDR.S24260 .

Study of the Bacterial contamination of sterile eye drops

luma abdal hady Sundus Abdul moheman
*Biology Department, College of Education ibn Al-Haitham
Scientific Departments University of Baghdad

Summary

Collected 24 samples of sterile eye drops from pharmacies in Baghdad and studied microbial content drops, and the results showed the presence of bacteria positive and negative gram stain in some samples, as observed high percentage of bacteria Staphylococcus .albus 62% either bacteria klbsiella spp 25% and E. coli, 13%, while the effectiveness of the drops in the inhibition of the growth of the bacteria E.coli and S. aureus as the use of well diffusion method , results showed the samples 3, 4, 7, 9, 15 and 16 did not give any inhibition while samples 2, 11, 12 and 14 is observed given the high inhibition up to 52mm as in the sample 2. The inhibition against S.aureu as noted there was significant different between positive and negative bacteria as it gave samples 2, 5, 10, 11, 12 and 14, the highest inhibition up to 60 mm, while samples 4 and 16 did not give any percentage of inhibition, either study the effect of storage on contamination ant inhabition activity of samples (17-24), the results showed that the samples are stored for 21 days and sample 21 showed contamination after 14 days of storage, while observed contamination of samples 17, 19 and 20 on the first day of the opening is not observed an increase in pollution length of the storage period. The samples 18, 22, 23 and 24 have not observed contamination along the storage period. When examining the activity of the drops in the inhibition of positive and negative bacteria ,observed don't decrease in the activity of the inhibition of the samples consistently storage period period.