






Original Paper

## Efficacy of Fluoroquinolones on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from External Ocular Infections

Mehri Hosseini (M.Sc)<sup>1</sup> , Leila Fozouni (Ph.D)<sup>\*2</sup> , Ania Ahani Azari (Ph.D)<sup>3</sup> 

<sup>1</sup> M.Sc in Microbiology, Department of Microbiology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran. <sup>2</sup> Assistant Professor, Department of Microbiology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran. <sup>3</sup> Associate Professor, Department of Microbiology, Gorgan Branch, Islamic Azad University, Gorgan, Iran.

### Abstract

**Background and Objective:** *Staphylococcus aureus* is one of the most common causes of bacterial keratitis and conjunctivitis. This study was done to determine the efficacy of fluoroquinolones on Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains isolated from external ocular infections.

**Methods:** This descriptive-analytical study was conducted on 187 patients (2 months to 61 years old) with symptoms of conjunctivitis and keratitis who were hospitalized or referred to the emergency department of hospitals in Golestan and Mazandaran provinces, Iran during 2020-22. The samples were taken from the external infection of the patients' eyes. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates were identified by standard phenotypic microbiological and molecular detection (PCR) methods. The broth microdilution method determined sensitivity to quinolones and the minimum inhibitory concentration (MIC) in the 0.06-64 µg/ml range.

**Results:** The frequency of ocular MRSA isolates (n=52) was significantly higher in spring, females and patients aged 1-30 years (P<0.05). Among the MRSA isolates causing conjunctivitis, the highest rates of resistance were observed against ciprofloxacin (n=18, 48.64%), enoxacin (n=17, 45.95%), and ofloxacin (n=17, 45.95%). The MIC of gemifloxacin that inhibited the growth of 90% of MRSA isolates from conjunctivitis (MIC<sub>90</sub>=0.25 µg/ml) was 32-fold lower than that of ciprofloxacin.

**Conclusion:** Depending on the season and age, *staphylococcus aureus* may be the most common cause of bacterial conjunctivitis and keratitis. Considering the in vitro antibacterial potential of gemifloxacin, this antibiotic can be used to treat the bacterial external eye infections.

**Keywords:** *Staphylococcus aureus*, Conjunctivitis, Keratitis, Quinolones, Drug Resistance

\*Corresponding Author: Leila Fozouni (Ph.D), E-mail: leila.fozouni@iau.ac.ir

Received 15 Oct 2022

Final Revised 19 Dec 2022

Accepted 19 Dec 2022

Published Online 28 Aug 2023

Cite this article as: Hosseini M, Fozouni L, Ahani Azari A. [Efficacy of Fluoroquinolones on Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from External Ocular Infections]. J Gorgan Univ Med Sci. 2023; 25(2): 75-82. [Article in Persian]





## تحقیقی

# اثر بخشی فلوروکینولون‌ها بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جداسازی شده از عفونت خارجی چشم

مهری حسینی<sup>۱</sup>، دکتر لیلا فزونی<sup>۲\*</sup>، دکتر آتیا آهنی آذری<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> کارشناس ارشد میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران. <sup>۲</sup> استادیار میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران. <sup>۳</sup> دانشیار میکروبیولوژی، گروه میکروبیولوژی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران.

## چکیده

**زمینه و هدف:** استافیلوکوکوس اورئوس یکی از شایع‌ترین باکتری‌های مسبب کراتیت و کونژونکتیویت است. این مطالعه به منظور تعیین اثربخشی فلوروکینولون‌ها بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جداسازی شده از عفونت خارجی چشم انجام شد.

**روش بررسی:** این مطالعه توصیفی تحلیلی روی ۱۸۷ نمونه جداسازی شده از عفونت خارجی چشم بیماران ۲ ماهه تا ۶۱ ساله با علایم کونژونکتیویت و کراتیت بستری یا مراجعه کننده به اورژانس بیمارستان‌های استان‌های گلستان و مازندران طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۳۹۹ انجام شد. از تست‌های استاندارد میکروبیولوژیک فنوتیپی و تشخیص مولکولی (PCR) برای ردیابی سویه‌های مقاوم به متی‌سلین استافیلوکوکوس اورئوس (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus: MRSA*) استفاده شد. تعیین حساسیت دارویی به کینولون‌ها و حداقل غلظت مهارتی آنها در محدوده ۰/۰۶-۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر با تکنیک میکرودايلوشن برآش انجام گردید.

**یافته‌ها:** ۵۲ مورد سویه MRSA چشمی تایید شد که به‌طور معنی‌داری در فصل بهار، جنس زن و محدوده سنی ۳۰-۱ سال بیشتر بود ( $P < ۰/۰۰۵$ ). در زمره سویه‌های MRSA عامل کونژونکتیویت، بیشترین مقاومت دارویی نسبت به سیپروفلوکساسین به میزان ۱۸ مورد (۸۸/۶۴ درصد) تعیین شد. انوکساسین و افلوکساسین با نرخ یکسان ۱۷ مورد (۴۵/۹۵ درصد) در رتبه‌های بعدی مقاومت قرار گرفتند. حداقل غلظت مهارتی جمعی فلوکساسین که رشد ۹۰ درصد سویه‌های MRSA حاصل از کونژونکتیویت را مهار کرد ( $MIC_{90} = ۰/۲۵$  میکروگرم بر میلی‌لیتر) ۳۲ برابر کمتر از سیپروفلوکساسین تعیین شد.

**نتیجه‌گیری:** استافیلوکوکوس اورئوس ممکن است تحت تاثیر فصل و گروه سنی شایع‌ترین علل کونژونکتیویت و کراتیت باشد. با توجه به پتانسیل ضد باکتریایی بالای جمعی فلوکساسین در شرایط آزمایشگاهی نتایج این مطالعه می‌تواند در درمان عفونت‌های چشمی موثر باشد.

**واژه‌های کلیدی:** استافیلوکوکوس اورئوس، کونژونکتیویت، کراتیت، کینولون، مقاومت دارویی

\* نویسنده مسؤول: دکتر لیلا فزونی، پست الکترونیکی [leila.fozouni@iau.ac.ir](mailto:leila.fozouni@iau.ac.ir)

نشانی: گرگان دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گروه میکروبیولوژی، تلفن ۰۱۷-۳۲۱۳۲۲۶۲

وصول ۱۴۰۱/۷/۲۳ اصلاح نهایی ۱۴۰۱/۹/۲۸ پذیرش ۱۴۰۱/۹/۲۸ انتشار ۱۴۰۲/۶/۶

## مقدمه

اگرچه سطح چشم به دلیل لایه اشکی و حضور ترکیباتی با قدرت ضد میکروبی بالا مانند لاکتوفرین، دیفنسین‌ها و لیزوزیم در برابر عوامل خارجی عفونی غیرقابل نفوذ است؛ با این حال برخی عوامل مانند استفاده طولانی و نامناسب از لنزهای تماسی، جراحی، ضربه، عفونت‌های قبلی چشمی، خشکی چشم، انسداد مجرای اشکی، کاهش دفاع میزبان و بیماری‌های زمینه‌ای می‌توانند باعث عفونت‌های چشمی مختلف توسط میکروارگانسیم‌ها شوند.<sup>۱،۲</sup> در بین میکروارگانسیم‌ها، باکتری‌ها مسؤول حدود ۳۲ تا ۷۴ درصد عفونت‌های چشمی در هر سن و جنسی هستند. استافیلوکوکوس

اورئوس یکی از شایع‌ترین باکتری‌های مسبب عفونت‌های چشمی در سراسر جهان است که به عنوان یکی از علل کراتیت و کونژونکتیویت باکتریایی شناخته شده است. چنانچه عفونت‌های چشمی به درستی درمان نشوند؛ ساختار طبیعی چشم تغییر یافته و اختلالات بینایی رخ خواهد داد.<sup>۳،۴</sup> در دهه‌های اخیر، این باکتری به عنوان یک بیماری‌زای انسانی مقاومت دارویی روز افزونی را نشان داده است. کسب این مقاومت می‌تواند از طریق مسیرهای بیوشیمیایی متعدد شامل اصلاح و تخریب مولکول‌های آنتی‌بیوتیک، کاهش نفوذ آنتی‌بیوتیک و یا تغییر محل هدف باکتری حاصل شود.<sup>۵،۶</sup> از زمان ظهور و شیوع استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سلین

تایید عوامل باکتریایی، ابتدا سوآب‌های چشمی در داخل محیط ترانسپورت تایو گلیکولات قرار گرفت و طی دو ساعت به آزمایشگاه تشخیص طبی منتقل و بر روی آگار شکلاتی، آگار کلمبیا با ۵ درصد خون اسب و مک کانکی آگار تلقیح شدند. سپس در حضور CO<sub>2</sub> ۵ درصد در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸-۲۴ ساعت انکوبه شدند. به منظور تفکیک باکتری‌های فلور چشم مانند استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی، دیفترئیدها و استرپتوکوک‌های آلفا همولیتیک از استافیلوکوکوس اورئوس، نمونه‌ها در محیط مانیتول سالت آگار (مرک، آلمان) کشت داده شدند. پس از ۴۸ ساعت انکوباسیون در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با بررسی کلنی‌های مانیتول مثبت طی مشاهده مورفولوژی کلونی، رنگ‌آمیزی گرم، همولیز، تست‌های کاتالاز، کوآگولاز (کلاپینگ) و DNase و نهایتاً توسط سیستم کارت Vitek-2 (باومریکس، فرانسه) تعریف شده برای باکتری‌های گرم مثبت در مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی دانشگاه شهیدبهبشتی شناسایی شدند. به منظور جستجوی فنوتیپی MRSA از دیسک سفوکستین ۳۰ میکروگرم با متد کربی - بائر استفاده شد. وجود هاله عدم رشد با قطر کمتر از ۲۱ میلی‌متر حضور سویه‌های MRSA را تایید نمود. به منظور شناسایی نهایی سویه‌های MRSA پس از استخراج DNA توسط کیت استخراج DNA (سیناکلون، ایران) طبق دستورالعمل شرکت سازنده، از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) با استفاده از پرایمرهای پیش‌رونده و پس‌رونده (طراحی شده به کمک نرم‌افزار Oligo 5) به ترتیب 5'- AGTTCTGCAGTACCGGATTTGC -3' و 5'- AAAATCGATGGTAAAGGTTGGC -5' برای تکثیر ژن *mecA* (ژن مقاومت به متی‌سیلین) استفاده شد. سویه‌های استاندارد استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۳۳۵۹۱ و استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ به ترتیب به عنوان کنترل مثبت و کنترل منفی در نظر گرفته شدند. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل یک میکرولیتر از نمونه DNA، ۱ میکرولیتر از هر یک از پرایمرهای پیش‌رونده و پس‌رونده، ۱۲ میکرولیتر 2x Master mix (حاوی ۲۰ میکرومولار dNTP و ۱/۵ میکرومولار کلرید منیزیم) ساخت کمپانی آمپلیکون، کشور دانمارک و ۱۱ میکرولیتر آب مقطر انجام شد. برنامه زمانی واکنش زنجیره پلی‌مرز در دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) با شرایط دمایی دنا تورا سیون اولیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، در ادامه ۳۰ چرخه شامل دنا تورا سیون در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه، واسرشت پرایمرها در ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه، طولی سازی اولیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و سپس طولی سازی ثانویه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت و

(Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) در سال ۱۹۶۱، سازمان بهداشت جهانی این باکتری را به عنوان تهدید جدی در کنترل عفونت‌های چشمی معرفی کرده است.<sup>۸۷</sup> معمولاً درمان کراتیت با آنتی‌بیوتیک‌های موضعی، با فلوروکینولون‌ها یا با استفاده از یک بتالاکتام مانند سفازولین به همراه آمینوگلیکوزیدها انجام می‌شود. معمولاً کونژکتیویت نیز با استفاده موضعی تتراسایکلین، کلرامفنیکل و کینولون‌ها درمان می‌شود.<sup>۹</sup> از اوایل دهه ۱۹۸۰ هم زمان با معرفی نسل دوم کینولون‌ها، نقش مهم آنها به دلیل فعالیت مؤثر علیه آنزیم DNA ژیراز، نفوذ بهتر به درون باکتری‌ها و خصوصیات دارویی بهتر آشکارتر شد. با تغییر در اسکلت اصلی کینولون، در واقع جایگزین کردن فلورین در موقعیت شماره ۶ کینولون، کینولون‌های جدید شامل نورفلوکساسین در سال ۱۹۸۶ و سیپروفلوکساسین در سال ۱۹۸۷ و پس از آن لووفلوکساسین، موکسی فلوکساسین و جمی فلوکساسین با طیف فعالیت بیشتر علیه باکتری‌های گرم مثبت، گرم منفی، میکروارگانسیم‌های هوازی و غیرهوازی معرفی شدند.<sup>۱۱</sup> لیکن استفاده مکرر از کینولون‌ها با جهش در ژن‌های کد کننده آنزیم‌های دخیل در همانندسازی DNA باکتری‌ها منجر به مقاومت دارویی شده و از دهه ۱۹۹۰ میلادی روندی رو به افزایش داشته است.<sup>۱۲</sup> با توجه به درصد بالای عفونت‌های چشمی ناشی از استافیلوکوکوس اورئوس و افزایش مقاومت آن به عوامل ضد باکتریایی مختلف، این مطالعه به منظور تعیین اثربخشی فلوروکینولون‌ها بر سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین جداسازی شده از عفونت خارجی چشم انجام شد.

### روش بررسی

این مطالعه توصیفی تحلیلی روی نمونه چشمی ۱۸۷ بیمار دو ماهه تا ۶۱ ساله با علائم کونژونکتیویت و کراتیت بستری یا مراجعه کننده به اورژانس بیمارستان‌های استان‌های گلستان و مازندران طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۳۹۹ انجام شد.

مطالعه مورد تایید کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی - واحد چالوس (IR.IAU.CHALUS.REC.1400.100) قرار گرفت.

ضمن رعایت اخلاق پژوهش، پرسشنامه‌ای شامل جنس، سن، سابقه دیابت یا سابقه جراحی و فصل مراجعه تهیه شد.

انتخاب نمونه‌ها به روش تصادفی و نمونه‌گیری آسان انجام شد. حجم نمونه با سطح اطمینان ۹۵ درصد با استفاده از فرمول 
$$n = \frac{(Z_1 - \frac{\alpha}{2} + Z_1 - \beta)^2 \times (P_1(P_1 - 1) + P_2(1 - P_2))}{(P_1 - P_2)^2}$$
 تعیین شد.

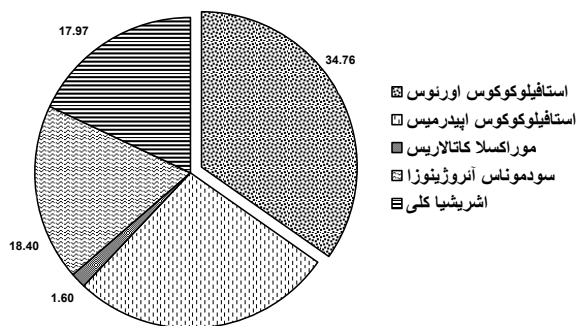
P1: تعداد بیماران مراجعه کننده به بخش عفونی، P2: تعداد بیماران با تست مثبت

نمونه‌ها علاوه بر سوآب چشمی از فورنیکس تحتانی ملتحمه، نمونه اشک و سلول‌های سطح قرنیه طی جراحی‌های چشمی از جمله تخلیه آبسه و جراحی مجرای اشکی نیز جمع‌آوری شدند. برای شناسایی و

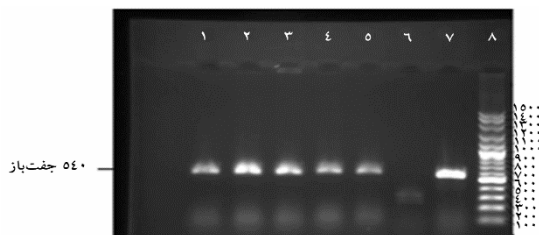
ارایه گردید. مقایسه بین گروه‌ها با آزمون کای‌اسکوئر در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ انجام شد.

#### یافته‌ها

از مجموع ۱۸۷ نمونه مورد بررسی، بیشترین فراوانی متعلق به استافیلوکوکوس اورئوس ۶۵ مورد (۳۴/۷۶ درصد) و کمترین فراوانی متعلق به سویه موراکسلا کاتالاریس ۳ مورد (۱/۶ درصد بود (نمودار یک)).



نمودار ۱: درصد سویه‌های باکتریایی جدا شده از مبتلایان به عفونت‌های چشمی



شکل ۱: تکثیر ژن *mecA* استافیلوکوکوس اورئوس به ترتیب از چپ به راست: مارکر bp ، نمونه‌های مثبت واجد ژن اختصاصی: ۵۴۰، ۴۲۰، ۲۰۱، ۲۰۱، ۲۰۱، ۲۰۱، ۲۰۱، ۲۰۱ کنترل منفی و کنترل مثبت: به ترتیب ۶ و ۷

از ۵۲ سویه MRSA تایید شده به روش فتوتیپی و تشخیص مولکولی (شکل یک)، ۳۱ مورد (۵۹/۶۱ درصد) مربوط به جنس مونث در محدوده سنی ۱-۳۰ سال (۶۵/۳۸ درصد) و بیشترین فراوانی مربوط به سویه‌های به‌دست آمده از کونژکتیویت ۷۱/۱۵ درصد برآورد شد. فراوانی سویه‌های حساس به متی‌سیلین و مقاوم به متی‌سیلین جدا شده از عفونت‌های چشمی به‌طور معنی‌داری در فصل بهار بیشتر بود ( $P < 0/036$ ). بر اساس متغیرهای مطالعه بیشترین میزان فراوانی سویه‌های MRSA از عفونت کونژکتیویت (۷۱/۱۵ درصد) ( $P < 0/036$ )، در فصل بهار (۳۲/۶۹ درصد) ( $P < 0/036$ ) و افرادی با سابقه جراحی و دیابت (۵۱/۹۲ درصد) ( $P < 0/02$ ) مشاهده شد (جدول یک). نتایج نشان داد بین فراوانی این سویه‌ها و سابقه بیماری رابطه آماری معنی‌داری وجود ندارد.

در زمره سویه‌های MRSA عامل کونژکتیویت، بیشترین مقاومت دارویی نسبت به سیپروفلوکساسین (۴۸/۶۴ درصد) تایید شد. در

محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. حضور قطعات ۵۴۰ جفت بازی در مقایسه با DNA مارکر دال بر محرز بودن سویه‌های MRSA بود.

به منظور تعیین حداقل غلظت مهارتی (MIC) باکتری‌ها نسبت به هشت فلوروکینولون شامل انوکساسین، سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین، افلوکساسین، موکسی فلوکساسین، نورفلوکساسین، گاتی فلوکساسین و جمی فلوکساسین از روش میکرودیالوژن برات طبق دستورالعمل CLSI M100 استفاده شد.<sup>۱۳</sup> برای تهیه سوسپانسیون دارویی، مقادیر لازم از پودر آنتی‌بیوتیک‌های کینولونی (سیگما-الدریج، امریکا) به حلال آب و سود ۰/۱ مول / لیتر اضافه گردید. غلظت اولیه هر آنتی‌بیوتیک به میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای الیزا حاوی محیط کشت مولر هینتون برات (مرک ، المان) و ۲ درصد نمک تلقیح شد. عمل رقت سازی استوک‌های دارویی از چاهک شماره ۲ تا چاهک شماره ۱۱ ادامه یافت تا رقت‌های ۶۴-۰/۰۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر حاصل شود. چاهک کنترل منفی حاوی استوک دارو به همراه محیط کشت مولر هینتون برات و چاهک کنترل مثبت حاوی محیط کشت مولر هینتون برات به همراه سوسپانسیون باکتری بود. در ادامه به چاهک‌های ۱۲-۲، سوسپانسیون باکتری با غلظت اولیه  $10^8 \times 1/5$  واحد تشکیل‌دهنده کلنی (غلظت نیم مک فارلند) طبق راهنمای ۲۰۲۰ CLSI<sup>۱۳</sup> و غلظت نهایی  $10^5 \times 1/5$  واحد تشکیل‌دهنده کلنی اضافه شده و میکروپلیت به مدت ۲۴-۲۰ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. حداقل غلظت دارویی که به میزان ۹۰ درصد مانع از رشد سویه‌های باکتریایی شده بود؛ به عنوان MIC<sub>90</sub> تلقی شد. در نحوه گزارش MIC علاوه بر متد کدورت سنجی چشمی از دستگاه الیزا ریدر در طول موج ۵۶۰ نانومتر هم برای تایید استفاده شد و با جداول استاندارد تطبیق داده شد.<sup>۱۳</sup> طبق دستورالعمل این کمیته سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با MIC بیشتر مساوی ۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر مقاوم به سیپروفلوکساسین، لووفلوکساسین و افلوکساسین، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با MIC بیشتر مساوی ۲ میکروگرم بر میلی‌لیتر مقاوم به موکسی فلوکساسین و گاتی فلوکساسین، سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با MIC بیشتر مساوی ۱۶ میکروگرم بر میلی‌لیتر مقاوم به نورفلوکساسین و سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس با MIC بیشتر مساوی ۸ میکروگرم بر میلی‌لیتر مقاوم به انوکساسین و با MIC بیشتر مساوی یک میکروگرم بر میلی‌لیتر مقاوم به جمی فلوکساسین در نظر گرفته شدند. از استافیلوکوکوس اورئوس ATCC ۲۵۹۲۳ به عنوان سویه کنترل حساسیت دارویی استفاده شد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS-23 تجزیه و تحلیل شدند. یافته‌ها در قالب جداول فراوانی نمودار و شاخص‌های عددی

جدول ۱: فراوانی ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین برحسب سن، جنس، فصل، نوع بیماری چشمی و سابقه دیابت یا جراحی بیماران دارای علائم کونژونکتیویت یا کراتیت

متغیرها	تعداد (درصد)		p-value
	استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (n=۵۲)	استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین (n=۱۳)	
سن (سال)	کمتر از یک	۱۳ (۲۵)	۰/۲۶
	۱-۳۰	۳۴ (۶۵/۳۸)	۰/۱۹
	۳۱-۶۱	۵ (۹/۶۱)	۰/۳۲
جنس	زن	۳۱ (۵۹/۶۱)	۰/۴۹
	مرد	۲۱ (۴۰/۳۸)	۰/۳۴
فصل	بهار	۱۷ (۳۲/۶۹)	۰/۵۶
	تابستان	۹ (۱۷/۳۰)	۰/۳۲
	پاییز	۱۰ (۱۹/۳۳)	۰/۲۱
	زمستان	۱۶ (۳۰/۷۷)	۰/۳۳
نوع بیماری چشمی	کونژونکتیویت	۳۷ (۷۱/۱۵)	۰/۵۶
	کراتیت	۱۵ (۲۸/۸۵)	۰/۳۱
سابقه دیابت یا جراحی	بله	۲۷ (۵۱/۹۲)	۰/۲
	خیر	۲۵ (۴۸/۰۸)	۴/۷۱

\* تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌های مورد مطالعه بر اساس آزمون کای اسکور

جدول ۲: فراوانی حساسیت و مقاومت جدایه‌های چشمی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم و حساس به متی‌سیلین به کینولون‌ها

کینولون‌ها	مقاوم به متی‌سیلین (n=۱۵)		حساس به متی‌سیلین (n=۳۷)	
	کراتیت (n=۱۵)	کونژونکتیویت (n=۳۷)	کراتیت (n=۱۵)	کونژونکتیویت (n=۳۷)
سیپروفلوکساسین	۴ (۲۶/۶۷)	۱۹ (۵۱/۳۵)	۱۱ (۷۳/۳۳)	۱۰ (۶۶/۶۷)
انوکساسین	۵ (۳۳/۳۳)	۲۰ (۵۴/۰۵)	۱۰ (۶۶/۶۷)	۱۰ (۶۶/۶۷)
لوفلوکساسین	۵ (۳۳/۳۳)	۲۲ (۵۹/۴۶)	۱۰ (۶۶/۶۷)	۱۰ (۶۶/۶۷)
افلوکساسین	۳ (۲۰)	۲۰ (۵۴/۰۵)	۱۲ (۸۰)	۱۲ (۸۰)
موکسی فلوکساسین	۳ (۲۰)	۲۱ (۵۶/۷۶)	۱۲ (۸۰)	۱۲ (۸۰)
نورفلوکساسین	۲ (۱۳/۳۳)	۲۳ (۶۲/۱۶)	۱۳ (۸۶/۶۷)	۱۳ (۸۶/۶۷)
گاتی فلوکساسین	۱ (۶/۶۷)	۲۶ (۷۰/۲۷)	۱۴ (۹۳/۳۳)	۱۴ (۹۳/۳۳)
جمی فلوکساسین	-	۳۴ (۹۱/۸۹)	۱۵ (۱۰۰)	۱۵ (۱۰۰)

جدول ۳: میزان حداقل غلظت مهار (MIC) کینولون‌های مختلف در مهار رشد جدایه‌های چشمی استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین

کینولون‌ها	میانگین حداقل غلظت (میکروگرم بر میلی‌لیتر) مهار (MIC)										
	۰/۰۶	۰/۱۲۵	۰/۲۵	۰/۵	۱	۲	۴	۸	۱۶	۳۲	۶۴
سیپروفلوکساسین	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
لوفلوکساسین	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
انوکساسین	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
افلوکساسین	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
موکسی فلوکساسین	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
نورفلوکساسین	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
گاتی فلوکساسین	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
جمی فلوکساسین	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-

صورتی که این نرخ در بین سویه‌های مولد کراتیت نسبت به انوکساسین و لوفلوکساسین به میزان یکسان (۳۳/۳۳ درصد) بود. ارزیابی حساسیت به جمی فلوکساسین بیانگر تفاوت معنی‌دار عملکرد ضدباکتریایی قوی این دارو با سایر فلوکینولون‌ها در مهار تمامی سویه‌ها به‌ویژه سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از کراتیت بود (جدول ۲). حساسیت سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مولد کونژونکتیویت به جمی فلوکساسین در شرایط آزمایشگاهی نسبی (۹۱/۸۹ درصد) بود. در حالی که ۱۰۰ درصد

سویه‌های مولد کراتیت به جمی فلوکساسین حساسیت نشان دادند. بررسی اثرات غلظت مختلف جمی فلوکساسین در میکروداپلوشن براث بر رشد سویه‌های MRSA نشان داد که این دارو از طریق وابسته به غلظت قادر به مهار رشد کامل سویه‌های حساس به متی‌سیلین و مهار ۹۱/۸۹ درصد سویه‌های مقاوم به متی‌سیلین در غلظت MIC  $\geq$  ۰/۲۵ میکروگرم بر میلی‌لیتر است. نتایج غلظت‌های داروهای کینولونی در محدوده ۰/۰۶-۶۴ میکروگرم بر میلی‌لیتر نشان داد؛ حداقل غلظت مهار جمی فلوکساسین که رشد ۹۰

درصد سویه‌ها را مهار کرد ( $MIC_{90}=0/25$  میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود که ۳۲ برابر کمتر از سیپروفلوکساسین و نورفلوکساسین ( $MIC_{90}=8$  میکروگرم بر میلی‌لیتر)، ۱۶ برابر کمتر از انوکساسین ( $MIC_{90}=4$  میکروگرم بر میلی‌لیتر) و ۸ برابر کمتر از لوفلوکساسین، افلوکساسین و گاتی‌فلوکساسین ( $MIC_{90}=2$  میکروگرم بر میلی‌لیتر) و ۲ برابر کمتر از موکسی‌فلوکساسین ( $MIC_{90}=0/5$  میکروگرم بر میلی‌لیتر) بود (جدول ۳).

## بحث

با توجه به نتایج مطالعه حاضر، وجود بیماری سطح چشم، ترومای چشم و بستری شدن در بیمارستان به طور قابل توجهی با وقوع عفونت باکتریایی مرتبط بود. از کل ۱۸۷ نمونه چشمی اخذ شده، بیشترین فراوانی متعلق به سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس ( $34/76$  درصد) و سویه‌های استافیلوکوکسی کواگولاز منفی ( $27/27$  درصد) بودند. به طوری که از ۶۵ سویه استافیلوکوکوس اورئوس ( $70/77$  درصد) سویه‌ها از عفونت کونژکتیویت جدا شدند. با وجود این که باکتری اصلی شناخته شده در این مطالعه، استافیلوکوکوس اورئوس است؛ اما میزان شیوع و نرخ وقوع پاتوژن‌های چشمی در سطح ملی و بین‌المللی به موقعیت جغرافیایی و جمعیت محلی بستگی دارد.<sup>۵</sup> در مطالعه‌ای در ایران فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس  $28/2$  درصد و استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی جدا شده از کونژکتیویت  $53/3$  درصد گزارش شد.<sup>۱۴</sup> در مطالعه انجام شده در ایالات متحده فراوانی استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوک‌های کواگولاز منفی از ملتحمه کودکان مبتلا به کونژکتیویت به ترتیب  $20/3$  درصد و  $59/3$  درصد گزارش شد.<sup>۱۵</sup> تشابه نسبی نرخ فراوانی‌ها می‌تواند بیانگر برتر بودن و نقش مهم استافیلوکوک‌ها در ایجاد کونژکتیویت باشد. مطالعه McGilligan و همکاران نیز حاکی بر غالب بودن فراوانی سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از کونژکتیویت بود که به دلیل تحریک ملتحمه توسط سم آلفا ( $\alpha$ -toxin) این باکتری عنوان شد.<sup>۱۶</sup> مطالعات متعدد نشان داده‌اند که سویه‌های MRSA عامل اصلی عفونت‌های چشمی در بسیاری از نقاط جهان است. لیکن استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین نیز به عنوان یک بیماری‌زای فرصت طلب عمل نموده و درصد کمی از افراد به صورت دائمی این باکتری‌ها را در ترشحات بینی خود حمل می‌کنند.<sup>۸</sup> وجود باکتری‌های مختلف به عنوان عوامل ایجاد کننده عفونت خارجی چشمی، نشان‌دهنده تفاوت در شرایط محیطی، استاندارد بهداشت فردی، سن، محل عفونت و حتی فصل است.<sup>۱۷ و ۱۸</sup> در مطالعه ما بیشترین شیوع ناشی متعلق به استافیلوکوکوس اورئوس در مبتلایان زیر ۳۰ سال ( $52/30$  درصد) بود که با شیوع بالا عفونت‌های چشمی استافیلوکوکی در این محدوده سنی در هند و اتیوپی همخوانی داشت.<sup>۱۱</sup> در حالی که فراوانی سویه‌های

استافیلوکوکوس اورئوس حساس به متی‌سیلین در این محدوده سنی  $13/84$  درصد تخمین زده شد. کما این که بیشترین شیوع در فصل بهار دیده شد که شاید با همزمانی گرده افشانی گل‌ها مرتبط باشد. در هر حال شناسایی این سویه‌ها نیز برای جلوگیری از مصرف بیش از حد آنتی‌بیوتیک‌ها ضروری است.

در مطالعه حاضر فراوانی سویه‌های MRSA در مجموع ۸۰ درصد بود. مطالعه Shanmuganathan و همکاران در بریتانیا بر روی ۵۴۸ نمونه جمع‌آوری شده از بیماران مبتلا به ورم ملتحمه انجام شد. ۱۷ درصد نمونه‌ها آلوده به استافیلوکوک‌های مقاوم به متی‌سیلین بودند.<sup>۱۹</sup> در مطالعه دیگری در ایالات متحده که بر روی ۳۶۴۰ بیمار مبتلا به عفونت چشمی انجام شد؛ ۱۰۸۸ مورد ( $30$  درصد) واجد MRSA با منشاء بیمارستانی گزارش شدند.<sup>۲۰</sup> علت برخی نوسانات مربوط به حساسیت و یا مقاومت آنتی‌بیوتیکی در مطالعات مختلف می‌تواند به دلیل تفاوت مکانیسم‌های مقاومت در مناطق مختلف، نوع عفونت یا روش ارزیابی مقاومت دارویی باشد. استفاده بیش از حد از آنتی‌بیوتیک‌ها، مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری‌های عفونت‌زای چشم را به شدت افزایش داده و این موضوع را به چالشی جدی برای درمان عفونت‌های باکتریایی تبدیل کرده است.<sup>۲۱</sup> این امر اهمیت انجام تست‌های تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی با دقت بالا را برای نظارت بر حساسیت باکتری‌های عفونی به عوامل ضد میکروبی مختلف نشان می‌دهد در مطالعه حاضر با استفاده از تست میکروایدلوشن برات، از مجموع ۵۲ سویه استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در زمره سویه‌های MRSA استافیلوکوکوس اورئوس عامل کونژکتیویت، نسبت به سیپروفلوکساسین به میزان  $48/64$  درصد گزارش شد. در صورتی که نرخ مقاومت در بین سویه‌های مولد کراتیت نسبت به انوکساسین و لوفلوکساسین به میزان یکسان ( $33/33$  درصد) بودند. تحقیقات گسترده‌ای از ایالات متحده آمریکا در مورد مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین ایزوله‌های چشمی بین سال‌های ۲۰۰۹ تا ۲۰۱۶ نشان داد که تقریباً ۳۶ درصد از ایزوله‌های استافیلوکوکوس اورئوس چشمی به سیپروفلوکساسین مقاومند.<sup>۵</sup> سویه‌های MRSA اغلب به فلوروکینولون‌ها مقاومند.<sup>۲۲</sup> با این حال در مطالعه کنونی تنها  $48/64$  درصد از سویه‌های MRSA مولد کونژکتیویت به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. در حالی که ۷۸ درصد از سویه‌های MRSA از ایالات متحده آمریکا<sup>۲۳</sup> به سیپروفلوکساسین مقاوم بودند. در مطالعات انجام شده در استرالیا و ایالات متحده در بازه‌های زمانی مختلف، سویه‌های عامل کراتیت در استرالیا (جداسازی شده بین سال‌های ۲۰۰۶ تا ۲۰۱۸) نسبت به سویه‌های ایالات متحده (جداسازی شده در سال ۲۰۰۴) به فلوروکینولون‌ها و آگزاسیلین حساسیت بیشتری نشان دادند.<sup>۲۴ و ۲۵</sup> در مطالعه حاضر بیشتر از نیمی از کل سویه‌های عامل

COVID-19 انجام شد و اکثر افراد اصول بهداشتی را بیشتر رعایت نموده بودند و کمتر در محیط حضور داشتند؛ این امر می‌تواند فراوانی سویه‌ها را تغییر داده باشد و از محدودیت‌های مطالعه به شمار می‌رود.

با توجه به اثر مهاری مناسب جمی فلوکسازین علیه سویه‌های مقاوم به دارو خصوصاً سویه‌های حاصل از کراتیت به نظر می‌رسد؛ استفاده از این آنتی‌بیوتیک برای درمان بیماری‌های چشمی موثر واقع شود. لذا پیشنهاد می‌شود در فهرست آنتی‌بیوگرام آزمایشگاه‌های تشخیص طبی برای نمونه‌های چشمی قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان‌دهنده مقاومت بالا به متی‌سیلین در بین سویه‌های بالینی استافیلوکوکوس اورئوس بود. استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان شایع‌ترین علل کونژکتیویت و کراتیت تحت تاثیر فصل و گروه سنی تایید شد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان‌نامه خانم مهری حسینی برای اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته میکروبیولوژی / میکروب‌های بیماری‌زا از دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان بود. این مطالعه با کمک هزینه (گرنه) استاد راهنما، اخذ شده از شورای پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان انجام شد. بدین وسیله از کارشناسان آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشگاه آزاد گرگان و تمام کسانی که در این مطالعه ما را یاری نمودند؛ تشکر می‌نماییم. بین نویسندگان تضاد منافی وجود ندارد.

### References

- Green M, Carnt N, Apel A, Stapleton F. Queensland Microbial Keratitis Database: 2005-2015. *Br J Ophthalmol*. 2019 Oct; 103(10): 1481-86. doi: 10.1136/bjophthalmol-2018-312881.
- Khan M, Stapleton F, Willcox MDP. Susceptibility of Contact Lens-Related *Pseudomonas aeruginosa* Keratitis Isolates to Multipurpose Disinfecting Solutions, Disinfectants, and Antibiotics. *Transl Vis Sci Technol*. 2020 Apr; 9(5): 2. doi: 10.1167/tvst.9.5.2.
- Getahun E, Gelaw B, Assefa A, Assefa Y, Amsalu A. Bacterial pathogens associated with external ocular infections alongside eminent proportion of multidrug resistant isolates at the University of Gondar Hospital, northwest Ethiopia. *BMC Ophthalmol*. 2017 Aug; 17(1): 151. doi: 10.1186/s12886-017-0548-6.
- Fukuda M, Ohashi H, Matsumoto C, Mishima S, Shimomura Y. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and methicillin-resistant coagulase-negative *Staphylococcus* ocular surface infection efficacy of chloramphenicol eye drops. *Cornea*. 2002 Oct; 21(7 Suppl): S86-9. doi: 10.1097/01.icc.0000263125.99262.42.
- Thomas RK, Melton R, Asbell PA. Antibiotic resistance among ocular pathogens: current trends from the ARMOR surveillance study (2009-2016). *Clin Optom (Auckl)*. 2019 Mar; 11: 15-26. doi: 10.2147/OPTO.S189115.
- Grzybowski A, Brona P, Kim SJ. Microbial flora and resistance in ophthalmology: a review. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*.

کراتیت و کونژکتیویت (۶۶/۱۵ درصد) به سیروفلوکساسین حساس بودند. مطالعاتی از استرالیا که بین سال‌های ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۶ منتشر شد؛ گزارش گردید که ۹۳ تا ۱۰۰ درصد از سویه‌های کراتیت میکروبی نسبت به سیروفلوکساسین حساسند.<sup>۲۷،۲۸</sup> تفاوت در پروفایل‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی در جمعیت‌های مختلف جغرافیایی غیرمعمول نیست و ممکن است به دلیل آب و هوا یا تفاوت‌های فرهنگی یا عرضه گسترده آنتی‌بیوتیک‌ها بدون نسخه در برخی کشورها باشد. آنتی‌بیوتیک جمی فلوکسازین از جمله کینولون‌های نسل چهارم است که امروزه برای درمان عفونت‌های شدید بیشتر استفاده می‌شود.<sup>۲۸</sup> در این مطالعه حساسیت سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مولد کونژکتیویت به جمی فلوکساسین در شرایط آزمایشگاهی نسبی (۹۱/۸۹ درصد) بود. در حالی که ۱۰۰ درصد سویه‌های مولد کراتیت به جمی فلوکساسین حساسیت نشان دادند. در مطالعه انجام شده در چین سال ۲۰۱۲، جمی فلوکساسین اثرات مهاری یکسانی با گاتی فلوکساسین و لووفلوکساسین در مهار سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مولد کراتیت نشان داد.<sup>۲۹</sup> در مطالعه حاضر گاتی فلوکساسین و لووفلوکساسین در مقایسه با جمی فلوکساسین ضعیف‌تر عمل کردند. لیکن خواص آنتی‌باکتریال بهتری نسبت به سیروفلوکساسین نشان دادند. اگرچه به نظر می‌رسید جمی فلوکساسین در کنترل پاتوژن‌های گرم منفی موفق است؛ لیکن نتایج حاصل از این مطالعه و سایر مطالعات<sup>۳۰،۳۱</sup> نیز بر قدرت مهاری خوب جمی فلوکساسین و پوشش قوی آن بر پاتوژن‌های گرم مثبت دلالت دارد. از آنجایی که مطالعه حاضر در طول همه‌گیری

2017 May; 255(5): 851-62. doi: 10.1007/s00417-017-3608-y.

- Lim WW, Wu P, Bond HS, Wong JY, Ni K, Seto WH, et al. Determinants of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) prevalence in the Asia-Pacific region: A systematic review and meta-analysis. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019 Mar; 16: 17-27. doi: 10.1016/j.jgar.2018.08.014.
- Vestergaard M, Frees D, Ingmer H. Antibiotic Resistance and the MRSA Problem. *Microbiol Spectr*. 2019 Mar; 7(2). doi: 10.1128/microbiolspec.GPP3-0057-2018.
- Baum J, Barza M. The evolution of antibiotic therapy for bacterial conjunctivitis and keratitis: 1970-2000. *Cornea*. 2000 Sep; 19(5): 659-72. doi: 10.1097/00003226-200009000-00011.
- Fozouni L, Askari H, Pordeli H R. Frequency Distribution of Fluoroquinolones-Resistant *Enterococcus faecalis* Isolates from Patients with Prostatitis in Golestan Province, Iran. *Med Lab J*. 2019; 13(4): 29-33. doi: 10.29252/mlj.13.4.29.
- Teweldemedhin M, Saravanan M, Gebreyesus A, Gebreegziabihier D. Ocular bacterial infections at Quiha Ophthalmic Hospital, Northern Ethiopia: an evaluation according to the risk factors and the antimicrobial susceptibility of bacterial isolates. *BMC Infect Dis*. 2017 Mar; 17(1): 207. doi: 10.1186/s12879-017-2304-1.
- Lautenbach E, Metlay JP, Weiner MG, Bilker WB, Tolomeo P, Mao X, et al. Gastrointestinal tract colonization with fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in hospitalized patients: changes over time in risk factors for resistance. *Infect*

- Control Hosp Epidemiol. 2009 Jan; 30(1): 18-24. doi: 10.1086/592703.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30<sup>th</sup> ed. CLSI supplement M100. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute. 2020.
  14. Shaeri M, Nazari-Alam A, Fathizadeh H, Moniri R, Akbari H, Mansoori M, et al. Bacterial Etiology and Antibiotic Susceptibility of Conjunctivitis Patients' Isolates in Kashan, Iran. *Adv Biomed Res*. 2020 Sep; 9: 49. doi: 10.4103/abr.abr\_118\_20.
  15. Tarabishy AB, Hall GS, Procop GW, Jeng BH. Bacterial culture isolates from hospitalized pediatric patients with conjunctivitis. *Am J Ophthalmol*. 2006 Oct; 142(4): 678-80. doi: 10.1016/j.ajo.2006.04.063.
  16. McGilligan VE, Gregory-Ksander MS, Li D, Moore JE, Hodges RR, Gilmore MS, et al. Staphylococcus aureus activates the NLRP3 inflammasome in human and rat conjunctival goblet cells. *PLoS One*. 2013 Sep; 8(9): e74010. doi: 10.1371/journal.pone.0074010.
  17. Schechter BA, Sheppard JD, Sanfilippo CM, DeCory HH, Asbell PA. An Evaluation of Staphylococci from Ocular Surface Infections Treated Empirically with Topical Besifloxacin: Antibiotic Resistance, Molecular Characteristics, and Clinical Outcomes. *Ophthalmol Ther*. 2020 Mar; 9(1): 159-73. doi: 10.1007/s40123-019-00223-y.
  18. Sauer A, Greth M, Letsch J, Becmeur PH, Borderie V, Daien V, et al. Contact Lenses and Infectious Keratitis: From a Case-Control Study to a Computation of the Risk for Wearers. *Cornea*. 2020 Jun; 39(6): 769-74. doi: 10.1097/ICO.0000000000002248.
  19. Shanmuganathan VA, Armstrong M, Buller A, Tullo AB. External ocular infections due to methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *Eye (Lond)*. 2005 Mar; 19(3): 284-91. doi: 10.1038/sj.eye.6701465.
  20. Blomquist PH. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections of the eye and orbit (an American Ophthalmological Society thesis). *Trans Am Ophthalmol Soc*. 2006; 104: 322-45.
  21. MacFadden DR, McGough SF, Fisman D, Santillana M, Brownstein JS. Antibiotic Resistance Increases with Local Temperature. *Nat Clim Chang*. 2018 Jun; 8(6): 510-14. doi: 10.1038/s41558-018-0161-6.
  22. Marangon FB, Miller D, Muallem MS, Romano AC, Alfonso EC. Ciprofloxacin and levofloxacin resistance among methicillin-sensitive Staphylococcus aureus isolates from keratitis and conjunctivitis. *Am J Ophthalmol*. 2004 Mar; 137(3): 453-58. doi: 10.1016/j.ajo.2003.10.026.
  23. Sharma V, Sharma S, Garg P, Rao GN. Clinical resistance of Staphylococcus keratitis to ciprofloxacin monotherapy. *Indian J Ophthalmol*. 2004 Dec; 52(4): 287-92.
  24. Goossens H, Ferech M, Vander Stichele R, Elseviers M. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance: a cross-national database study. *Lancet*. 2005 Feb; 365(9459): 579-87. doi: 10.1016/S0140-6736(05)17907-0.
  25. Sheikh A, Hurwitz B. Topical antibiotics for acute bacterial conjunctivitis: Cochrane systematic review and meta-analysis update. *Br J Gen Pract*. 2005 Dec; 55(521): 962-64.
  26. Watson S, Cabrera-Aguas M, Khoo P, Pratama R, Gatus BJ, Gulholm T, et al. Keratitis antimicrobial resistance surveillance program, Sydney, Australia: 2016 Annual Report. *Clin Exp Ophthalmol*. 2019 Jan; 47(1): 20-25. doi: 10.1111/ceo.13364.
  27. Samarawickrama C, Chan E, Daniell M. Rising fluoroquinolone resistance rates in corneal isolates: Implications for the wider use of antibiotics within the community. *Healthcare Infection*. 2015; 20(3-4): 128-33. doi: 10.1071/HI15014
  28. Fozouni L, Khosravi M, Pordeli HR, Mokaram R. [Activity of hkhGemifloxacin against Levofloxacin – and Ciprofloxacin-Resistant Escherichia coli Displaying DNA gyrase Isolated from Patients Admitted to the intensive care unit]. *Iranian Journal of Infectious Diseases*. 2019; 23(83): 67-74. [Article in Persian]
  29. Wu X, Jiang H, Xu Y, Yue W, Yang L, Song Z, et al. Efficacy of gemifloxacin for the treatment of experimental Staphylococcus aureus keratitis. *J Ocul Pharmacol Ther*. 2012 Aug; 28(4): 420-27. doi: 10.1089/jop.2011.0229.
  30. File TM Jr, Schlemmer B, Garau J, Cupo M, Young C. Efficacy and safety of gemifloxacin in the treatment of community-acquired pneumonia: a randomized, double-blind comparison with trovafloxacin. *J Antimicrob Chemother*. 2001 Jul; 48(1): 67-74. doi: 10.1093/jac/48.1.67.
  31. King A, May J, French G, Phillips I. Comparative in vitro activity of gemifloxacin. *J Antimicrob Chemother*. 2000 Apr; 45 Suppl 1: 1-12. doi: 10.1093/jac/45.suppl\_3.1.