عزل المكورات العنقودية الذهبية من إصابات مختلفة في الأبقارودراسة قوة ضراوتها وحساسيتها للمضادات الحيوية، دراسة مقارنة

ماجد محمد محمود
وحدة الامراض المشتركة - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد- العراق.
E-mail: alani.majid@gmail.com
قبل للنشر في 2013/6/11

الخلاصة

هدف الدراسة التحري عن وجود المكورات العنقودية الذهبية في إصابات مختلفة مثل الخراجات الجلدية والتهاب الضرع الحاد والإسهال والتهاب المجاري البولية والسعال في الأبقار ودراسة شدة ضراوتها ومقاومتها للمضادات الحيوية. جمعت 162 عينة مختلفة من تلك الحالات المذكورة وزرعت على وسط نقيع القلب والدماغ ثم اكار الدم ووسط المانيتول الملحي الصلب كما أجريت صبغة كرام للعزلات مع إجراء الاختبارات الكيموحيوية واختبارات تخمر السكريات فضلاً عن حقن الفئران بعالق الجراثيم 0.5 مل بتركيز 1.2×10^9 cfu/ml داخل الخلب كما اجري فحص الحساسية للمضادات الحيوية. بينت النتائج عزل المكورات العنقودية الذهبية بواقع 79 عزلة (48.77%) من مجموع 162 عينة حيث سجلت 7 عزلات 22 عينة (31.82%) من الخراجات الجلدية و 31 عزلة من 56 عينة حليب (55.36%) مصابة بالتهاب الضرع الحاد و 17 عزلة من 41 عينة براز أخذت من حالات اسهال (41.46%) و 9 عزلات من 25 مسحات مهبلية (36.00%) واخيراً 15 عزلة من 18 عينة قشع (83.33%). وقد ظهرت مستعمراتها كروية، ناعمة، محدبة، لماعة، محللة للدم من نوع بيتا، موجبة لصبغة كرام بشكل مكورات ثنائيات ورباعيات أو مرتبة ترتيب عناقيد بنفسجية اللون تحت عدسة المجهر الزيتية وقد أعطت مستعمراتها على وسط المانيتول الملحي الصلب مستعمرات صغيرة، دائرية الشكل، ملساء، محدبة، وصفراء اللون ذهبية مع ظهور لون اصفر على كل أجزاء الوسط الزرعي وقد سجلت نتائج الاختبارات الكيموحيوية أن العزلات كانت موجبة لانزيم الكتاليز وانزيم التجلط بنوعيه الشريحة والأنبوبة (باستثناء عزلتين من التهاب الضرع حيث كانت سالبة) ، موجبة لاختزال النترات وموجبة لاختبار (أكسدة – تخمر الكلوكوز) وتميع الجيلاتين (باستثناء 3 عزلات كانت سالبة) وموجبة لاختبار المثيل الاحمر-فوكاس بروسكاور (MR-VP) ومنتجة لانزيم اليوريز والفوسفاتيز الحامضي وتباينت العزلات في إنتاجها لأنزيم الدنا (DNase) في حين كانت جميع العزلات سالبة للاوكسيديز والاندول ، موجبة لتخمر سكر الكلوكوز والسكروز والمالتوز والفركتوز والتريهالوز واللاكتوز والمانيتول والمانوز والكالاكتوز والرايبوز في حين كانت سالبة لتخمر سكر الزايلوز والارابينوز. وقد بينت نتائج فحص الضراوة موت الفئران المحقونة بالعالق الجرثومي خلال 24 ساعة الاولى بعد الحقن وقد كانت عزلات الاسهال من أشدها ضراوة. وأخيراً أظهرت نتائج فحص الحساسية مقاومة معظم العزلات للمضادات بشكل عام باستثناء المضادين الازثرومايسين والدوكسيسايكلين حيث كانت حساسة لهما. نستنتج من هذه الدراسة إمكانية تواجد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في مختلف إصابات الابقار وأنها لا تستجيب لمعظم المضادات الحيوية بسبب شدة ضراوتها لذا ينصح بعدم الاستعمال العشوائي للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: المكورات العنقودية الذهبية ، فحص الضراوة ، الفئران.

المقدمة

تعد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* من أهم المسببات المرضية في الانسان والحيوان ، ففي الأبقار تسبب تلك المكورات العديد من الإصابات مثل الإصابات الجلدية، والخراجات والدمامل وتلوث الحروق والجروح، والتهاب المجرى الأنفي البلعومي والتهاب الضرع الحاد وتحت السريري والانتانمية septicemia والتهاب عضلة القلب والتهاب نخاع العظم osteomyelitis (1-3).

لقد سجلت جراثيم *S. aureus* في الاونة الاخيرة نسبة كبيرة جداً من الخسائر الاقتصادية الناجمة عن تكاليف العلاج من مقاومتها لمختلف المضادات الحيوية بسبب امتلاكها عدة اساليب لمقاومة تلك المضادات مثل انتاجها لانزيم البنسلينيز الذي يولد مقاومة الجراثيم ضد البنسلين والسيفالوسبورين وتفرعاتها ومجموعة البستراسين بالاضافة الى امتلاكها البايوفلم Biofilm والذي يمنع وصول المضاد الحيوي لها كما تستخدم طرقاً عدة للتهرب من جهاز المناعة مثل انتاجها لانزيم التجلط coagulase الذي يمنع بلعمتها من قبل البلاعم واحتوائها على بروتين (أ) protein A والذي يمنع ارتباطها مع الاضداد antibodies ومع المتمم complement وافرازها للسموم المختلفة وهكذا فان تنوع تلك الوسائل تجعل من الصعب علاجها او تحفيز الخلايا المناعية المهمة للتخلص منها فقد ظهرت انواع مقاومة للمثيسيلين Methicillin Resistant *S. aureus* (MRSA) واخرى مقاومة للفانكومايسين Vancomycin Resistant *S. aureus* (VRSA) (4 -8) كما يمكن للمكورات ان تخترق أي حاجز دفاعي في الجسم (9). ونظراً لتلك الاسباب المهمة ولصعوبة السيطرة على الأمراض الناجمة عن المكورات العنقودية الذهبية فقد صمم هذا البحث لمعرفة النسب المئوية لمدى انتشار تلك الجراثيم في آفات المختلفة والتعرف على ضراوتها ومدى مقاومتها للمضادات.

المواد وطرائق العمل

جمعت 162 عينة من حالات التهابية مختلفة من ابقار تراوحت أعمارها 1.5 – 5 سنوات من الإصابات السريرية في العيادات البيطرية في منطقة أبي غريب وكانت 22 عينة من الخراجات الجلدية و 56 عينة حليب مصابة بالتهاب الضرع الحاد و 41 عينة براز أخذت من حالات اسهال و 25

مسحة مهبلية من إصابات المجاري البولية الحادة و 18 عينة قشع sputum من حالات إصابة الجهاز التنفسي والسعال وقد نقلت تلك العينات إلى مختبر وحدة الامراض المشتركة / كلية الطب البيطري / جامعة بغداد في المدّة من 2010/10/14 ولغاية 2011/4/2 .

أجري العزل الأولي على مرق نقيع القلب والدماغ Brain heart infusion broth حيث حضنت العزلات بدرجة حرارة 37 مº لمدة 24 ساعة ثم نقل حجم ناقل جرثومي الى وسط اكار الدم ثم تمت تنقية العزلات على وسط المانيتول الملحي وأجريت مسحات متعددة وصبغة كرام للتعرف على أشكال الجراثيم المعزولة تحت المجهر الضوئي كما أجريت مجموعة من الاختبارات الكيموحيوية وحسب تعليمات الشركة المصنعة كما أجري اختبار فحص الحساسية باستعمال 13 نوع من المضادات الحيوية (شركة Bioanalysae) للعزلات وذلك بزراعتها على وسط مولر هنتون (Mueller Henton) الصلب ووضع أقراص المضادات الحيوية عليه (1). اجري فحص ضراوة العزلات من خلال حقن (0.5) مل بتركيز 1.2 × 10^9 cfu/ml من عالق الجراثيم (طريقة McFarland) في الفئران داخل الخلب (Intraperitoneal) حيث استعمل 79 فأراً لهذا الغرض بعمر 4 - 6 شهور وقد كانت سليمة من الأمراض وتمت متابعة وتسجيل المشاهدات المهمة والمدّة الزمنية لموت الفئران (10-12).

النتائج والمناقشة

عزلت جراثيم المكورات العنقودية الذهبية بواقع 79 عزلة (48.77%) من مجموع 162 عينة مختلفة وقد تفاوتت تلك العزلات في نسب العزل من العينات فقد بينت النتائج عزل 7 عزلات موجبة من اصل 22 عينة بنسبة (31.82%) من الخراجات الجلدية و 31 عزلة من اصل 56 عينة حليب بنسبة (55.36%) مصابة بالتهاب الضرع الحاد و 17 عزلة من اصل 41 عينة اسهال بنسبة (41.46%) و 9 عزلات من اصل 25 مسحة مهبلية بنسبة (36.00%) واخيراً 15 عزلة من اصل 18 عينة قشع بنسبة (83.33%) وحسب ما هو مبين في (جدول ،1).

جدول، 1: اعداد عزلات جراثيم المكورات العنقودية الذهبية ونسبها المئوية.

نوع الاصابة	عدد العينات الكلي	عدد العزلات الموجبة	النسبة المئوية %
الخراجات الجلدية	22	7	%31.82
التهاب الضرع الحاد	56	31	%55.36
الاسهال	41	17	%41.46
التهاب المجاري البولية	25	9	%36.00
القشع sputum	18	15	%83.33
المجموع	162	79	

أظهرت مستعمرات جراثيم المكورات العنقودية الذهبية كروية، ناعمة، محدبة، لماعة، محللة للدم من نوع بيتا، وقد ظهرت الخلايا بعد صبغها بصبغة كرام وفحصها تحت عدسة المجهر الزيتية بشكل مكورات (ثنائيات ورباعيات) أو مرتبة بشكل عناقيد بنفسجية اللون موجبة لصبغة كرام ، كما أظهرت الاختبارات انها غير متحركة وغير مكونة للابواغ، لا تحتوي على المحفظة اذ دلت جميع هذه النتائج الاولية على ان هذه البكتريا تحمل مواصفات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية لذلك تمت تنقية العزلات الجرثومية وذلك باعادة زرعها على وسط المانيتول الملحي الصلب (وهو الوسط الانتخابي) حيث استطاعت جميع العزلات النمو على هذا الوسط وظهرت المستعمرات النامية على شكل مستعمرات صغيرة، دائرية الشكل، ملساء، محدبة، وصفراء اللون ذهبية مع ظهور لون اصفر على كل أجزاء الوسط الزرعي دلالة على تخمير سكر المانيتول.

أما الاختبارات الكيموحيوية فقد اظهرت النتائج أن العزلات كانت موجبة لانزيم الكتاليز وانزيم التجلط بنوعيه (اختبار الشريحة واختبار الانبوبة) باستثناء عزلتين من التهاب الضرع حيث كانت سالبة كما كانت العزلات موجبة لاختزال النترات إلى نتريت وموجبة لاختبار (أكسدة – تخمر الكلوكوز) وتميع الجيلاتين (باستثناء 3 عزلات كانت سالبة) وموجبة لاختبار المثيل الاحمر- فوكاس بروسكاور (MR-VP) ومنتجة لانزيم اليوريز والفوسفاتيز الحامضي وتباينت العزلات في إنتاجها لانزيم الدنا (DNase) في حين كانت جميع العزلات سالبة للاوكسيديز والاندول (الجدول، 2).

الاختبار	النتيجة	تخمر السكريات	النتيجة
صبغة كرام	+	سكر الكلوكوز	+
انزيم الكتاليز Catalase	+	سكر السكروز	+
انزيم الاوكسيديز Oxidase	-	سكر المالتوز	+
انزيم التجلط Coagulase	معظمها +	سكر الفركتوز	+
انتاج الاندول Indole	-	سكر التريهالوز	+
O-F glucose	+	سكر اللاكتوز	+
تميع الجيلاتين Gelatinase	معظمها +	سكر المانوز	+
المثيل الاحمر- فوكس بروسكاور MR-VP	+	سكر الكالاكتوز	+
انتاج اليوريز Urease	+	سكر الرايبوز	+
تحلل الدنا DNase	متباينة	سكر الزايلوز	-
الفوسفاتيز الحامضي Acid Phosphatase	+	سكر الارابينوز	-

جدول، 2: نتائج الفحوصات الكيموحيوية لجرثومة المكورات العنقودية الذهبية واختبارات تخمر السكريات

وفيما يخص اختبارات تخمر السكريات فقد كانت العزلات موجبة لتخمر سكر الكلوكوز والسكروز والمالتوز والفركتوز والتريهالوز واللاكتوز والمانيتول والمانوز والكالاكتوز والأرابينوز في حين كانت العزلات سالبة لتخمر سكر الزايلوز والارابينوز (الجدول, 2).

فحصت الضراوة للعزلات الموجبة (الجدول، 3) وذلك بحقن الفئران بعالق الجراثيم (0.5) مل بتركيز 1.2 × 10^9 cfu/ml في داخل الخلب (Intraperitoneal) وقد لوحظ موت الفئران بدرجات متفاوتة فقد سجل موت الغالبية العظمى

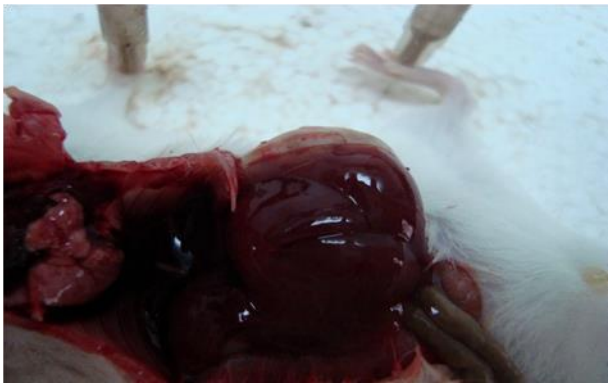
للفئران خلال (24) ساعة الاولى بعد الحقن وقد سجلت عزلات الاسهال هلاكات مبكرة خلال الثلاث ساعات الاولى بواقع 4 عزلات وكانت من أشد العزلات ضراوة تليها عزلات كل من القشع والتهاب المجاري البولية والتي نفقت جميعها خلال 24 ساعة اما عزلات الخراجات الجلدية وعزلات التهاب الضرع الحاد فقد كانت متوسطة الضراوة، ومن اهم العلامات المشاهدة قبل موت الفئران اختلاجات عصبية ، تضيق حدقة العين ، خروج نزيف من الانف ، ظهور الشعر بشكل ابري وتساقطه في منطقة الظهر بالقرب من فتحة المخرج (خاصة عزلات الخراجات الجلدية) ثم الإغماء والموت أما العلامات المسجلة بعد الموت فهي حصول نزف شديد واحتقان في الاعضاء الداخلية وخاصة على الكبد (مع تضخمه) والرئتين والامعاء والطحال، (شكل، 3 و4) لوحظ أيضاً علامات نزف دماغي وازرقاق سطح الجلد وخاصة بالنسبة لعزلات الاسهال وعزلات التهاب المجاري البولية .

جدول ،3: المدة الزمنية لموت الفئران بعد حقنها بالعالق الجرثومي داخل الخلب (I/P).

المدة الزمنية لموت الفئران	مصادر العزلات				
	عزلات الخراجات الجلدية	عزلات التهاب الضرع الحاد	عزلات الاسهال	عزلات التهاب المجاري البولية	عزلات القشع sputum
3 ساعات الأولى	0	0	4	0	1
6 – 3 ساعات	1	5	11	2	4
12 – 6 ساعة	3	9	2	5	7
24 – 12 ساعة	3	12	0	2	3
36 – 24 ساعة	0	3	0	0	0
48 – 36 ساعة	0	0	0	0	0
48 ساعة فما فوق	1	2	0	0	0
المجموع	7	31	17	9	15

شكل،1: تضيق حدقة العين وظهور الشعر بشكل ابري.

شكل،2: تساقط الشعر في منطقة الظهر



شكل،3: نزف واحتقان في معظم الاعضاء الداخلية

شكل،4: تضخم الكبد مع وجود نزف

استعمل 13 نوعاً من المضادات الحيوية في هذه الدراسة للتحري عن حساسية او مقاومة تلك العزلات للمضادات الحيوية فقد لوحظ مقاومة تلك العزلات كبيرة مقاومة جداً لكثير من المضادات الحيوية واسعة الطيف road pectrum antibiotic والتي كان من المتوقع انها تجدي نفعاً لأستعمالها استعمالاً كثيراً في مجال الطب البيطري فقد سجلت النتائج استجابة تلك العزلات لمضادين رئيسيين وهما الازثرومايسين Azithromycin والدوكسيسايكلين Doxycycline إلا أن الأول كان أكفأ من الثاني وقد أبدت عزلات الإسهال مقاومة شديدة ضد بقية المضادات الأخرى ومن ناحية اخرى فان هذه المقاومة كانت متوسطة بالنسبة لعزلات الخراجات الجلدية وكما مبين في (جدول ، 4)

جدول ،4: نتائج فحص الحساسية لجراثيم *Staphylococcus aureus* المعزولة.

المضاد الحيوي	الرمز	التركيز (µg)	الخراجات الجلدية	التهاب الضرع الحاد	الاسهال	التهاب المجاري البولية	القشع sputum
Amoxicillin	AMC	30	R	R	R	R	R
Amoxicillin/ Clavulanic acid	A/C	20/10	R	R	I	R	R
Ampicillin	AM	10	R	R	R	R	R
Azithromycin	AZM	15	S	S	S	S	S
Bacitracin	B	10	I	R	R	I	R
Ceftriaxone	CRO	30	R	R	R	R	R
Cephalexin	CL	30	I	I	R	R	I
Cloxacillin	CN	1	R	R	R	R	R
Doxycycline	DO	30	S	S	I	I	S
Erythromycin	E	15	I	I	R	I	I
Sulfamethoxazole	SXT	23.75	I	I	R	I	I
Tetracyclin	TE	30	I	S	R	I	R
Trimethoprim	TMP	5	R	R	R	I	R

R = مقاومة S = حساسة I = متوسط الحساسية

تباينت جراثيم المكورات العنقودية من حيث اصابتها فقد كانت أعلى نسب عزل مسجلة من عينات القشع من حالات التهاب الجهاز التنفسي والسعال تلتها عينات الحليب من التهاب الضرع الحاد ثم عينات البراز المأخوذة من حالات الاسهال ثم المسحات المهبلية والخراجات الجلدية وقد تعزى تلك النسب بسبب تواجد تلك الجراثيم بشكل طبيعي (normal flora) والتي تتعايش تعايشاً اعتيادياً في جسم المضيف ثم تتحول إلى الشكل المرضي كونها طفيلية opportunistic وتستغل أي تثبيط مناعي أو إصابة مشتركة لتؤثر في إحداث الإصابة الثانوية وبخاصة تلك الموجودة طبيعياً في المجرى التنفسي العلوي والموجودة ايضاً في الامعاء، ومن ناحية اخرى فان تلك المنطقتين تحديداً الأكثر عرضة للتلوث الخارجي من غيرها وهي المكان المفضل لوجود تلك الجراثيم وتكاثرها كما أن معظم الجراثيم المعزولة من حالات الاسهال ابدت مقاومة شديدة للعديد من المضادات الحيوية المستعملة قيد الدراسة ويعزى ذلك إلى الإستخدام العشوائي الخاطىء من الأطباء البيطريين او اصحاب الحيوانات بدون وعي صحي مما يزيد من خطورة تلك الجراثيم مستقبلاً فقد كانت عزلات الإسهال شديدة الضراوة ومقاومة كبيرةً للمضادات.

لقد بينت نتائج دراستنا توافقها في تشخيص المكورات العنقودية الذهبية مع الباحثين (13) الذين وضعوا طريقة مبسطة جداً لعزل جراثيم المكورات العنقودية الموجبة لفحص إنزيم التجلط من عينات الحليب لأبقار مصابة بالتهاب الضرع، فقد استنتجوا أنها محللة للدم من نوع بيتا وموجبة لفحص فوكس بروسكاور VP ومخمرة لكل من سكر المانيتول والمالتوز والتريهالوز وأن هذه الاختبارات وحدها كافية لتشخيص المكورات، وقد أكدوا ذلك باختبار PCR.

وفي مجال العزل الجرثومي فقد اتفقت نتائجنا مع الكثير من الدراسات الأخرى، ففي دراسة أجراها الباحثون (14) في محاولتهم لعزل جراثيم من الخراجات الجلدية وحليب الجمال والابقار والماعز باستعمال الطرق الكلاسيكية ثم اكدوها بتحليل الحامض النووي RNA وقد تمكنوا من عزل 18 عزلة موجبة من اصل 60 (30%) . كما اتفقت نتائج العزل مع توصل إليه الباحثون (15) في إيران والذين تمكنوا من عزل جراثيم *S. aureus* من الخراجات والجروح الجلدية في الابقار بنسبة 28% إلا أن تلك الجراثيم كانت حساسة لمعظم المضادات الحيوية على نقيض ما وجدناه في بحثنا. وفي هذا المجال فقد عزل الباحثون (16) جراثيم *S. aureus* من الخراجات المصاحبة للإصابة بديدان *Hypodrma bovis* في الأبقار الإيرانية وبنسب قليلة جداً.

كما اتفقت نتائجنا مع الدراسة التي أجراها (17) في عزل المكورات العنقودية الذهبية من عينات حليب لابقار مصابة بالتهاب الضرع حيث سجلوا نسبة عزل 34.1% فضلاً عن عزلهم للانواع الأخرى من جنس المكورات وقد سجلوا عزلات مقاومة للعديد من المضادات الحيوية. وقد اتفقت أيضاً نتائجنا مع الباحثين (18) الذين سجلوا مقاومة جراثيم *S. aureus* المعزولة من حليب الابقار للعديد من المضادات الحيوية في أثيوبيا. وقد اتفقت نتائجنا نسبياً مع الباحثين (19) الذين اشاروا الى وجود مقاومة متوسطة لجراثيم *S. aureus* للمضادات وخاصة تلك المعزولة من حالات التهاب الضرع.

لقد أشارت نتائج دراستنا إلى عزل جراثيم *S. aureus* من حالات السعال وسجل (20) نسبة اعلى في أبقار الحليب و ابقار اللحم من بين مجموعة كبيرة من المسببات المرضية للجهاز التنفسي ألا أن هذه النسبة هي اقل بكثير مما توصلنا إليه في دراستنا.

أما في مجال مقاومة جراثيم *S.aureus* للعديد من المضادات الحيوية وخاصة في حالات الاسهال التي شهدناها في دراستنا فقد أثبت الباحثون (21) صحة تلك النتيجة من اكتشافهم للعاثيات الجرثومية bacteriophages الموجودة في براز الماشية والتي يعزى لها مقاومة المكورات العنقودية الذهبية للكثير من المضادات الحيوية، كما يمكن ان تعزى إلى إفراز السموم المعوية كما بينه كل من (22 و 23).

كما بينت النتائج في مجال فحص الضراوة في الفئران تقارباً كبيراً مع ما وجده (24) الذين سجلوا إصابات المكورات العنقودية الذهبية في الفئران فقد لاحظوا وجود قشور على الجلد مع تساقط شعر موضعي وانتقلت الاصابة

إلى الأعضاء الداخلية وتسببت في تضخم الكبد والطحال واحتقان شديد فيهما فضلاً عن الكلى مع وجود خلايا التهابية إلاّ أنهم لم يسجلوا حالات موت الفئران لأن الجرعة المصيبة لم تكن كافية (0.25) مل 1 × 10^7 cfu/ml داخل الجلد.

نستنتج من هذه الدراسة ضرورة التنبيه على تواجد جراثيم *S. aureus* في مختلف الاصابات والتي ابدت مقاومة لمعظم المضادات الحيوية وضرورة الاستخدام الفاعل للمضادات الحيوية الفعالة ولاسيما الازثرومايسين والدوكسيسايكلين والتي قلما تستعمل في مجال الطب البيطري لعلاج الالتهابات المختلفة.

المصادر

1. Quinn, P.J.; Markey, B.K.; Carter, M.E.; Donnelly, W.J. and Leonard, F.C. (2006). "Veterinary Microbiology and Microbial Diseases Textbook". Printed and bound in Great Britain by International Ltd. Mosby, London, Padstow-Cornwall. Pp: 118-126.
2. Jawetz, E.; Melink, J.L.; Steven, A. and Adelberg, E.A. (2007). "Review of Medical Microbiology Textbook". 24th Ed. International edition. McGraw-Hill Pub-lishing. Lange Medical Book. Appleton and Lange California, Pp: 224-230.
3. Radostits, O.M.; Henderson, J.A.; Blood, D.C.; Arundel, J.T. and Gay, C.C(2007).Veterinary Medicine : A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats, and Horses". 11th Ed., Bailliere, Tindall Comp. UK. Pp: 783-785.
4. El-Jakee, J.K.; Atta, N.S.; Samy, A.A.; Bakry, M.A.; Elgabry, E.A.; Kandil, M.M. and Gad El-Said, W.A. (2011). Antimicrobial Resistance in Clinical Isolates of Staphylococcus aureus from Bovine and Human Sources in Egypt. Global Veterinaria, 7 (6): 581-586.
5. McAdow, M.; Dedent, A.C.; Emolo, C.; Cheng, A.G.; Kreiswirth, B.N.; Missiakas D.M. and Schneewind, O. (2012). Coagulases as determinants of protective immune responses against Staphylococcus aureus. Infect. Immun. (in press).
6. Mohamed, N.A.; Mohamed, R. and Chong, T.T. (2012). Homology Modeling of Coagulase in Staphylococcus aureus. Biomedical Informatics. Bioinformation 8(9): 412-414.
7. Wikipedia, (2012). Staphylococcus aureus. Wikipedia, the free encyclopedia. The Wikimedia Foundation, Inc. a non-profit organization. Pp:1-8.
8. Zutic, M.; Cirkovic, I.; Pavlovic, L.; Zutic, J.; Asanin, J.; Radanovic, O. and Pavlovic, N. (2012). Occurrence of methicillin-resistant Staphylococcus aureus in milk samples from Serbian cows with subclinical mastitis. Afr. J. Microbiol. Res. 6(29): 5887-5889.
9. Plata, K.; Rosato, A. E. and Wegrzyn, G. (2009). Staphylococcus aureus as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. Acta Biochem. Pol., 56: 597–612.
10. O'Connor, L. (2006). "Diagnostic Bacteriology Protocols". 2nd Ed. Humana Press Inc. Totowa, New Jersey. Pp: 131-139.
11. Tang, Y-W. and Stratton, C.W. (2006). "Advanced Techniques in Diagnostic Microbiology". Springer Science and Business Media, LLC Press. Printed in the United States of America. Pp: 411-426.
12. Rauch, S.; Dedent, A.G.; Kim, H.K.; Bubeck, W. J; Missiakas, D.M. and Schneewind, O. (2012). Abscess formation and α-hemolysin induced toxicity in a mouse model of Staphylococcus aureus peritoneal infection. Infect Immun. In press.
13. Costa, G.M.; Paiva, L.V.; Piccoli, R.H.; Figueiredo, D.J.; Pereira, U. and Silva, N.D. (2010). Evaluation of a simplified key for the identification of coagulase positive Staphylococcus isolated from bovine mastitis. Acta Scientiarum. Biological Sciences Maringá, 32(4): 403-406.
14. Dubey, A.; S K Ghorui1 and S K Kashyap, (2009). Differentiation of Staphylococcus aureus strains based on 16S-23S ribosomal RNA intergenic space polymorphism. Ind. J. Biotechnol., 8: 276-279.
15. Rezaei, A.; Asghari, A. and Ozmaie, S. (2011). Assessing the culture and antibiogram aerobic microorganisms isolated from wounds and abscesses in adult dairy cattle. Aust. J. Basic Appl. Sci., 5(12): 738-740.
16. Tavassoli, M.; Imani, A.; Pasha, M.Y.; Tukmechi, A. and Tajik, H. (2010). Bacteria Associated with subcutaneous abscesses of cattle caused by Hypoderma spp Larvae in North of Iran. Vet. Res. Forum, 1 (2):123-127.
17. Klimienė, I.; Ružauskas, M.; Mockeliūnas, R.; Šiugždinienė, R.; Špakauskas, V.; Matusevičius, A.; Pereckienė, A. and Butrimaitė-Ambrozevičienė Č. (2012). The variety of Staphylococcus, extracted from cows mastitis samples, and their resistance to antimicrobial substances. Vet. Med. Zoot. T. 57 (79): 31-38.
18. Daka, D.; Silassie, S.G. and Yihdego, D. (2012). Antibiotic resistance Staphylo- coccus aureus isolated from cow's milk in Hawassa area, South Ethiopia. Afr. J. Microbiol. Res., 6(27): 5618-5624.

methicillin resistant Staphylococcus aureus clone. J. Antimicrob. Chemother. Research letter, Pp:1-2.
23. Rahimi, E.; Mommtaz, H.; Shakerian, A. and Kavyani, H.Z. (2012). The detection of classical enterotoxins of Staphylococcus aureus in raw cow milk using the ELISA method. Turk. J.Vet. Anim. Sci., 36(3): 319-322.
24. Onunkwo, C.C.; Hahn, B.L. and Sohnle, P.G. (2010). Clearance of experimental cutaneous Staphylococcus aureus infections in mice Arch Dermatol. Res., 302(5): 375–382.
19. Weese, J.S. (2010). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in animals. ILAR J., 51(3): 233-244.
20. Abd-Elall, A.M.; Mohamed, M.E. and Awadallah, M.A. (2009). Potential airborne microbial hazards for workers on dairy and beef cattle farms in Egypt. Veterinaria Italiana, 45(2): 275-285.
21. Colomer-Lluch, M.; Imamovic, L.; Jofre, J. and Muniesa, M. (2011). Bacteriophages carrying antibiotic resistance genes in fecal waste from cattle, pigs, and poultry. Antimicrob. Agents Chemother., 55(10):4908–4911.
22. Haenni, M.; Galofaro, L.; Ponsin, C.C.; Bes, M.; Laurent, F. and Madec, J-Y. (2010). Staphylococcal bovine mastitis in France: enterotoxins, resistance and the human Geraldine

Isolation of *staphylococcus aureus* from different affections in cows and study its virulence and sensitivity to antibiotics. A comparative study

Majid Mohammed Mahmood
Zoonotic Diseases , College of Veterinary Medicine , Baghdad University, Iraq

Summary

The study was conducted to detect the presence of *Staphylococcus aureus* in different affections like skin abscesses, acute mastitis, diarrhea, urinary tract infection and cough in cows, with studying their virulence and antibiotic sensitivity test. 162 different samples were collected then cultured on brain heart infusion broth, subcultured on blood agar and mannitol salt agar, also gram stain was done and a set of biochemical tests as well as sugar fermentation tests. Also, mice were injected 0.5 ml of 1.2×10^9 cfu/ml intraperitoneally with bacterial suspension and antibiotic sensitivity test was applied. The results showed isolation of 79 (48.77%) *S. aureus* isolates out of 162 as a total which included 7 isolates (31.82%) out of 22 abscesses' samples, 31 isolates (55.36%) out of 56 milk samples from acute mastitis, 17 isolates (41.46%) out of 41 fecal samples, 9 isolates (36.00%) out of 25 vaginal swabs, and 15 isolates (83.33%) of 18 sputum samples. The colonies seen as rounded, smooth, convex, shiny, β-hemolytic, and shown gram +ve diplococci, quadrates or grape like under light microscope. While their colonies seen on mannitol salt agar as small, spherical, smooth, convex, yellowish in color which cover all background of plate. The results of biochemical tests revealed that all isolates were +ve to the following : catalase, slide and tube coagulase (except 2 isolates from milk) nitrate reduction test, (O-F glucose), gelatin hydrolysis test (except 3 isolates) Methyl Red – Voges Proskauer (MR-VP), urease, acid phosphatase, and variable to DNase production test, while all isolates were negative to oxidase and indol. The isolates fermented glucose, sucrose, maltose, fructose, trehalose, lactose, mannitol, mannose, galactose, ribose, while they were negative to xylose and arabinose. The results of virulence test revealed death of majority number of mice with the first 24 hours after I/P injection which was demonstrated strongly in the isolates of diarrhea. Finally, the results of antibiotic sensitivity showed resistant cases to many types of broad spectrum antibiotics except Azithromycin and Doxycycline which were sensitive. It could be concluded that *S. aureus* could be found in different affections of cows and they do not respond to the treatment with classical antibiotics because their virulence power, so I recommend avoiding random antibiotic therapy.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, Virulence test, Mice.