مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

التحري عن المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المنتجة لانزيم البيتا لاكتاميز لدى عمال المطاعم الحاملين لها في مدينة الديوانية

ميثم غالي يوسف
كلية العلوم

علي عبد الرحيم
كلية التربية
جامعة القادسية

سجى مهدي جابر
كلية الطب البيطري

الخلاصة :-

عزلت وشخصت افراد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcu aureus* من مسحات لعمال المطاعم الحاملين لها والبالغة 232 مسحة منها (82) من الاذن و (73) من الانف (77) من اللوزتين . اظهرت النتائج ان (69) عزلة للنوع *S.aureus* الذي ساد في اللوزتين وبنسبة 24.6% ولدى 51.9% من سكنة المدينة في الفئة العمرية (30-21) سنة وكانت اقل نسبة عزل من الانف وبنسبة 1.5% ولدى نفس الفئة العمرية ولكن في 58.1% من سكنة الارياف، في حين سادت المكورات السالبة لانزيم التجلط من مسحات الانف وبنسبة 12.3%. اظهرت 89.5% من افراد هذا النوع امتلاكها انزيم بيتا لاكتاميز عند التحري عنه بطريقة بطريقة الانابيب الشعرية واليود السريعة .وأبدت جميع عزلات المكورات العنقودية الذهبية مقاومة لكل من البنسلين ج،والامبسلين،والتتراسايكلين والجنتامايسين،والسيفالكسين،وسيفاتاكسين،وسفترياكسون غير أنها كانت حساسه للفانكومايسين السبروفلوكساسين والريفامبسين.

المقدمة :-

تعد المكورات العنقودية *Staphylococci* من أكثر الجراثيم انتشاراً في الطبيعة ،اذ توجد على الجلد والأغشية المخاطية والقناة التنفسية العليا وفي الهواء والتربة ،إذ يقدر الحاملون(Carriers) للنوع *S.aureus* في مقدمة مناخرهم بـ (40-50%) لكنها تعد من الجراثيم التي يمكن ان تسبب إصابات خطيرة عند حدوث خلل او اضطرابات في دفاعات جسم المضيف المناعية(1,2). حضيت افراد هذا النوع بأهمية خاصة من بين جراثيم المكورات العنقودية لكونها سبباً مهماً في إصابة الانسان بامراض سريرية عديدة تتراوح في شدتها بين امراض جلدية بسيطة الى امراض جهازية خطيرة قد تودي بحياة المريض ، مثل تجرثم الدم Bacteremia (3,4) . تعود أمراضية هذه البكتريا وقدرتها في غزو نسيج المضيف وانتشارها فيه الى امتلاكها الكثير من عوامل الضراوة مثل إنتاجها الذيفانات (Toxins) والإنزيمات (Enzymes)التي تساعدها في أحداث الإصابة (5) . كان البنسلين من أكثر مضادات الحياة تأثيرا في المكورات الذهبية وعليه فقد تم استعماله منذ بداية الأربعينيات وهو يكافح بنجاح جميع حالات الإصابة بها وغيرها من الجراثيم ،غير أن بعض السلالات بدأت تقاوم هذا المضاد بفعل قدرتها على إنتاج البيتا لاكتاميز β-lactamase الذي يعطل عمل البنسلين لذا فقد ازداد الاهتمام بدراسة هذه البكتريا خاصة بعد فشل البنسلين ومشتقاته في علاج اخماجها وظهور سلالات بكترية مقاومة لعدة مضادات حياتية أخرى .(6,7). ونتيجة لما تقدم فقد هدفت الدراسة الى عزل وتشخيص المكورات العنقودية الذهبية من الحاملين (عمال المطاعم) والكشف عن العزلات المقاومة لمضادات الحياة قيد الدراسة .

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

المواد وطرائق العمل :-

جمع العينات

جمعت 232 مسحة من عمال المطاعم بواقع 12 موقع في مدينة الديوانية وللفترة من شهر شباط 2005 ولغاية شهر تشرين الاول 2005 شملت مسحات الاذن والانف واللوزتين المختلفة. وقد استعمل في عملية جمع العينات مسحات قطنية معقمة. واستعمل وسط نقيع المخ والقلب Brain heart infusion broth كوسط ناقل للعينات لحين وصولها للمختبر بفترة زمنية لا تتجاوز الثلاث ساعات ثم حضنت المزارع في درجة 37م° لمدة 24 ساعة. تم زرع العينات على اطباق حاوية على وسط اكار الدم Blood agar والمانتول الملحي وحضنت الاطباق في درجة حرارة 37مْ لمدة 18-24 ساعة وبعد ظهور النمو تم اختيار المستعمرات المنفردة ذات المواصفات المطلوبة واعيد زرعها على وسط اكار المانيتول الملحي وحضنت الاطباق بدرجة حرارة 37مْ ولمدة 24 ساعة ، وبعد ظهور النمو اخذت مستعمرات منفردة وزرعت على وسط مائل (Slant) الاكار المغذي وحفظت في درجة 4 م لحين اجراء الاختبارات الكيموحيوية عليها (8).

التشخيص :-

تم تشخيص افراد النوع اعتمادا على الاختبارات الشكلية والكيموحيوية والفسلجية (8,9,10) والتاكيد التشخيص باستخدام نظام .API Staph المجهز وحسب تعليمات الشركة المجهزة. اجري اختبار التحري عن انزيمات البيتا لاكتاميز حسب (13) باستخدام طريقتي الانبوب الشعرية واليود السريعة كما اجري اختبار الحساسية للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة حسب الطريقة القياسية للانتشار بالاقراص المحورة (9) .

التحليل الاحصائي

اجري التحليل الاحصائي وفق ما جاء به الرواي (1980) حيث استخدم جدول تحليل التباين (Anova) واختبار قيمة (F) الاحصائي للمقارنة بين المجاميع المختلفة وتحت مستوى معنوية ($P\leq0.05$).

النتائج:-

اظهرت النتائج عزل وتشخيص 69 عزلة تعود الى بكتريا المكورات العنقودية التي اعطت نمواً على وسط اكار المانيتول الملحي Mannitol salt agar بعد نقلها من وسط اكار الدم Blood agar واهملت تلك العينات التي لم تعط نمواً على وسط اكار المانيتول التي بلغ عددها 163 عينة. ومن بين عزلات المكورات العنقودية كانت 48 عزلة تعود الى المكورات العنقودية الذهبية (الموجبة لانزيم التجلط) *Staphylococcus aureus* وبنسبة 20.6 % ، وان 21 عزلة الباقية أي بنسبة 9% تعود الى المكورات العنقودية السالبة لانزيم التجلط . ويوضح الجدول (1) العدد والنسب المئوية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عمال المطاعم. اذ شكلت عزلاتها الموجبة لانزيم مخثر البلازما اعلى نسبة (24.6%) من اللوزتين .في حين عزلت البكتريا باقل نسبة (15%) من الانف ،وقد اعطت بكتريا *S.aureus* النسبة الاكبر ضمن المكورات العنقودية اذ بلغت نسبتها (20.6%) من مجموع العينات قيد الدراسة كما في الجدول (1)

واما جراثيم المكورات العنقودية السالبة لانزيم التجلط فقد شكلت اعلى نسبة (12.3%) من الانف في حين كانت نسبتها منخفضة (6.4%) من اللوزتين. ويوضح الجدول (2) عدد العزلات والنسب المئوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عمال المطاعم الحاملين حسب الفئة العمرية ،اذ كانت اعلى نسبة 48.5% من اللوزتين تقع بين الاعمار من (21-30) سنة ، واما الاذن فقد اخذت مدى واسعاً اذ كانت عدد الحاملين للمكورات تتراوح بين الاعمار من (10-20) سنة وبنسبة 42.6 %. واما الانف فقد كانت اعلى نسبة تقع بين الاعمار (30-21) سنة وبنسبة 30.1%. ويوضح الجدول (3) انتشار بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من العمال حسب مناطق السكن.إذْ كانت اعلى نسبة لمسحات الاذن في سكان الارياف وبنسبة (57.3%) بينما بلغت النسبة في سكان المدينة (42.6%)، واما عزلات الانف فقد كانت اعلى نسبه لها في سكان الارياف ايضا وبنسبة (58.9%) واما سكان المدينة فكانت نسبتها (41%) ، وأشارت النتائج أيضاً الى ان عزلات اللوزتين كانت اعلى نسبة لها في سكان المدينة (51.9%) بينما كانت اقل من نسبة سكان الارياف (48%) .ومن خلال جدول تحليل التباين ظهرت فروقات معنوية عالية عند مستوى احتمال ($P\leq0.05$) في انتشار البكتريا حسب مناطق السكن

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

الجدول (1)العدد والنسبة المئوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عمال المطاعم (الحاملين) قيد الدراسة

منطقة عزل العينات	عدد العينات	عدد عزلات النامية على المانيتول	تصنيف العزلات			
			الموجبة لإنزيم التجلط	النسبة المئوية	السالبة لإنزيم التجلط	النسبة المئوية
الاذن	82	25	18	21.9	7	8.5
الانف	73	20	11	15	9	12.3
اللوزتين	77	24	19	24.6	5	6.4
المجموع الكلي	232	69	48	20.6	21	9

الجدول (2) عدد العزلات والنسب المئوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عمال المطاعم حسب الفئات العمرية

منطقة عزل العينات	عدد العينات	العزلات موزعه حسب الفئات العمرية							
		10-20سنة	النسبة المئوية	21-30سنة	النسبة المئوية	31-40سنة	النسبة المئوية	41-50سنة	النسبة المئوية
الاذن	82	35	42.6	27	32.9	13	15.8	7	8.9
الانف	73	18	24.6	22	30.1	20	27.3	13	17.8
اللوزتين	77	14	18.1	37	48.05	17	22.05	9	11.6
المجموع	232	67	28.8	86	37.0	50	21.5	29	12.5

الجدول (3) انتشار بكتريا المكورات العنقودية الذهبية من العمال تبعا لمنطقة السكن

منطقة عزل العينات	عدد العينات	مدينة	النسبة المئوية	ريف	النسبة المئوية
الاذن	82	35	42.6	47	57.3
الانف	73	30	41	43	58.9
اللوزتين	77	40	51.9	37	48
المجموع	232	105	45.2	127	54.7

الاختبارات الشكلية والكيموحيوية والفسلجية لافراد المكورات العنقودية

اظهرت نتائج العزل والاختبارات الشـــكلية (69) عزلة من بكتريا المكورات العنقودية ان (48) عزلة بكترية منها ذات مستعمرات دائرية كبيرة نسبيا ومرتفعه قليلاً،صفراء الى ذهبية تحيطها منطقة شفافة ضيقةه على وسط اكار الدم ذات قدرة على التحليل الكامل للدم من نوع بيتا (β) ،وكانت تنمو هوائيا على وســـط المانيتول الملحي محولة اياه الى اللون الاصـــفر لقدرتها على تخمر ســـكر المنايتول ،موجبة لفحص الكاتليز فضـــلاً عن ان خلاياها عبارة عن مكورات تتجمع على هيأة عناقيد غير منتظمة ،موجبة لصـــبغة الكرام ،غير متحركة ، موجبة لانزيم مخثر البلازما Coagulase والكاتاليز Catalase والمثيل الاحمر Red methel وفوكس بروســـكاور Voges-proskauer ، مخمرة لســـكريات المانيتول ، الكلوكوز ، اللاكتوز والمالتوز وغير مخمرة للرافينوز ،وكانت محللة للجيلاتين وغير منتجة لانزيم الاوكسديز وكما موضح في الجدول (4).

الجدول (4) . نتائج الاختبارات الكيموحيوية والفسلجية المستخدمة في تشخيص المكورات العنقودية

الاختبارات الكيموحيوية والفسلجية / لانواع الجرثومية	اختبار الكتاليز	اختبار النمو على وسط المانيتول	اختار انزيم التجلط	اختبار البيتالاكتاميز	تحلل الدم	المثيل الاحمر	فوكس بروسكاور	انتاج انزيم اليوريز	اختبار الجيلاتينيز	اختبار الاوكسيديز	تخمر السكريات: كلوكوز	لاكتوز	مانيتول	سكروز	رافينوز	مالتوز
الموجبة لانزيم التجلط	+	+	+	+	β	+	+	v	+	-	+	+	+	+	-	+
السالبة لانزيم التجلط	+	-	-	-	n	v	v	v	n	-	+	v	-	+	-	+

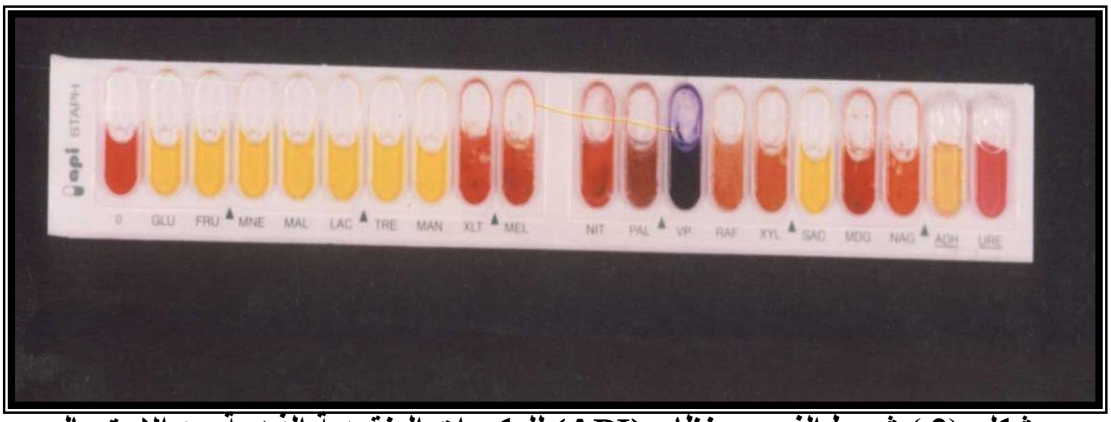
(+) موجبة للفحص (-) سالبة للفحص (n) لم يجرى الاختبار (v) متغايرة الاختبار

وللتاكد من ان هذه العزلات قيد الدراسة هي من نوع المكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* فقد اجري فحص انزيم مختثر البلازما بطريقة الانابيب Tube Coagulase test ،اذ ابدت جميع العزلات قيد الدراسة نتائج موجبه له ،وقد اعطت فحصا موجبا للعامل الخثرة Culmping factor ،عدا 9% منها إذ كانت سالبة في هذا الفحص كما في الجدول (1) ،وقد يظهر فحص انتاج الانزيم المخثر للبلازما نتائج كاذبه احيانا بسبب نوع وطبيعة البلازما المستعملة ،ومدة الحضن ودرجة التخثر ،فضلا عن امكانية انتاج هذا الانزيم من انواع بكتيريه .

وهذا ما دعا الى اخضاع العزلات البكتيرية قيد الدراسة الى استعمال نظام Api Staph system والتي اظهرت نتائج التشخيص باستعماله تطابقا كاملا مع نتائج الاختبارات الكيموحيوية السابقة الذكر لبكتريا ***S.aureus*** حيث يتكون من (19) اختبارا بايوكيميائيا لدراسة وكشف الفعالية البايوكيمائية والانزيمية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة والتي شملت فحص تخمر الكاربوهيدرات وفحوصات انزيمية اخرى . وقد تباينت نتائج هذه الفحوصات بين السلالات البكتيرية قيد الدراسة والتابعه للنوع *S.aureus* .

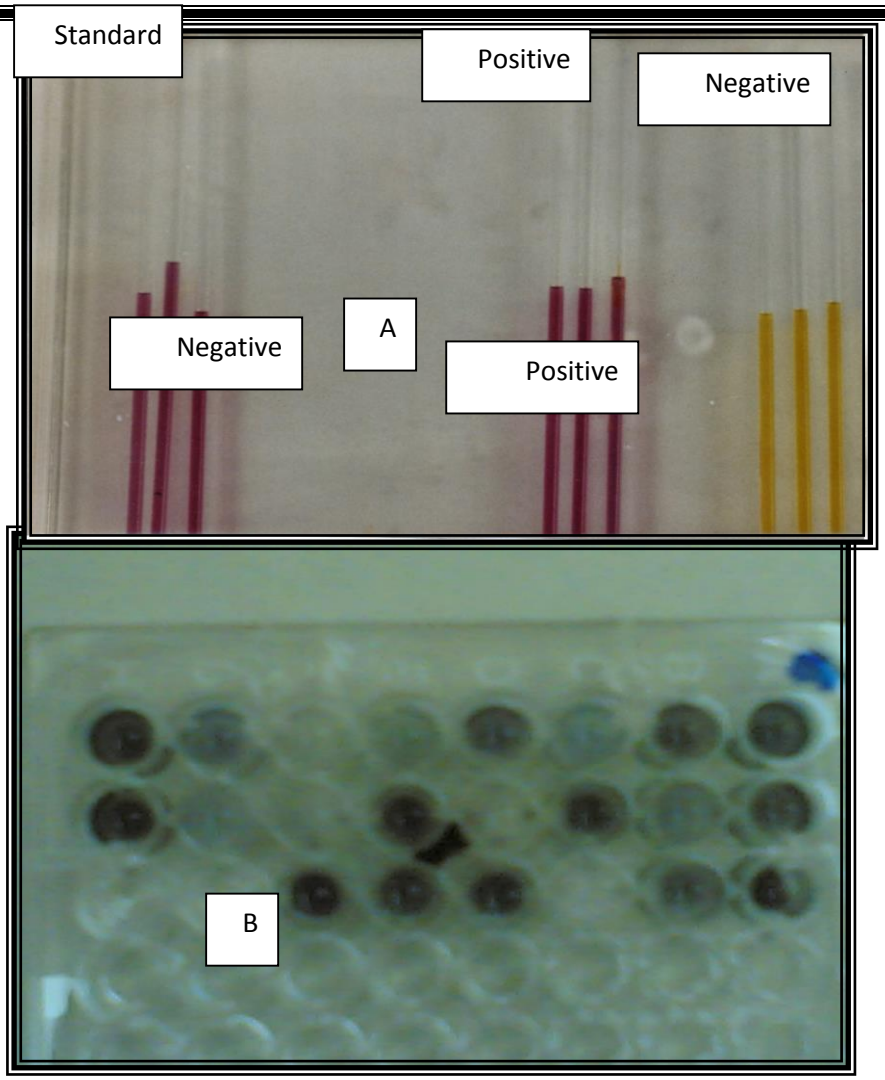
مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

شكل (1) شريط الفحص بنظام (API) للمكورات العنقودية الذهبية قبل الاستعمال



شكل (2) شريط الفحص بنظام (API) للمكورات العنقودية الذهبية بعد الاستعمال

تمت دراسة قدرة البكتريا على إنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز بطريقتين وهما طريقة الانابيب الشعرية Direct capillary method وطريقة اليود Iodometric method شكل (3) بهدف المقارنة وتاكيد النتائج . وقد اوضحت نتائج تجربة الانابيب الشعرية ان 43 عزلة (89.5%) ،إذْ اعطت تفاعلا موجبا عند تحويل لون محلول الاختبار من الازرق البنفسجي الى اللون الاصفر ،وهو يدل على افراز هذا الانزيم ،وان تحول لون المحلول اليود القاتم في الطريقة الثانية الى عديم اللون مباشرة،يدل ايضا على انتاج وتحرير البيتالاكتاميز من قبل البكتريا في الوسط،



شكل (3) اختبار انتاج انزيمات البيتالاكتاميز للمكورات العنقودية الذهبية

(A):طريقة الانابيب الشعرية المباشرة (B):طريقة اليود السريعة

درست حساسية عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية تجاه 10 مضادات حيوية ،وتم الاعتماد على قياس قطر منطقة تثبيط النمو بالمليمتر حول اقراص مضادات الحياة المستعملة قيد الدراسة وقورنت النتائج مع ما ورد في (Atlas *et al.*,1995;NCCLS,1993) في تحديد حساسية هذه العزلات لمضادات الحياة. ويتضح من الجدول (5) ان هناك تباينا واضحا في مقاومة عزلات المكورات العنقودية الذهبية لمضادات الحياية المستخدمة،إذْ اظهرت هذه البكتريا مقاومة عالية للبنسلين ج والامبسلين إذْ بلغت نسبتها (93.7%)،(89.5%) على التوالي . ويتضح من الجدول (5) ايضا ان هناك 26 عزلة مقاومة للجنتامايسين وبنسبة 54.1% وقد قاومت 34 عزلة سيفالوكسين وبنسبة 70.8% وسيفاتاكسين وبنسبة 60.4% كما قاومت 26 عزلة السفترياكسون وبنسبة 54.1% وصولا الى التتراسايكلين والرفامبسين والسبروفلوكساسين والفانكومايسين حيث كانت عدد العزلات المقاومة لهم(23،21،5،0) على التوالي وبنسبة (0,8.7%,43.7%,47.9%) واظهرت النتائج الوارده في الجدول (6) ان العزلات (N7) ، (E22) ،(N27) ، (E358) ، (T42) كانت سالبة لفحص انزيم البيتالاكتاميز ولكنها في الوقت نفسه مقاومة للعديد من البنسلينيات ومضادات البيتالاكتام الاخرى . وكما يتضح من الجدول (6) ان 18 عزلة لبكتريا *S.aureus* وبنسبة (37.5%) كانت مقاومة لمضادات السيفالوسبورينات فيما كانت بقية العزلات حساسة او متوسطة الحساسية على الرغم من اعطائها تفاعلاً موجباً لانتاج البيتالاكتاميز ،

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

الجدول (5) النسبة المئوية لمقاومة عزلات *S.aureus* (48 عزلة) لمضادات الحياة المستخدمة

المضاد المايكروبي	تركيز المضاد	معدل قطر منع النمو بالملم	العزلات المقاومة			العزلات المتوسطة			العزلات الحساسة		
			قطر منع النمو بالملم	العدد	%	قطر منع النمو بالملم	العدد	%	قطر منع النمو بالملم	العدد	%
Penicillin G	10mg	19	≤20	45	93.7	28-24	3	5.2	≥29	0	0
Ampicillin	10mg	19.5	≤20	43	89.5	28-21	5	8.7	≥29	0	0
Gentamamicin	10mg	15.3	≤19	26	54.1	13-10	12	21	≥19	10	17.5
Cephalexin	10mg	12.4	≤12	34	70.8	13-14	10	20.8	≥15	4	7
Cefetaxine	30mg	11.7	≤14	29	60.4	12-11	16	33.3	≥23	3	5.2
Cefetriaone	30mg	19.8	≤13	26	54.1	12-11	10	20.8	≥21	12	21
Tetracyclin	30mg	19.8	≤24	23	47.9	17-13	8	16.6	≥25	17	29.8
Rafampcin	5mg	15.7	≤14	21	43.7	17-15	7	14.5	≥18	20	35
Ciprofloxacin	5mg	16.5	≤15	5	8.7	18-15	0	0	≥17	43	89.5
Vancomycin	30mg	15	≤19	0	0	11-10	0	0	≥12	48	100

الجدول (6) علاقة افراز β-lactames بمقاومة البكتريا *S.aureus* لمضادات البيتالاكتام

Isolate	B-lactames production	P 10g	AM 10g	Cl 5g	CT 5g	CA 30g
T1	+++	R	R	R	R	S
T2	+	R	S	S	S	S
T3	++	R	R	R	S	S
E4	+	R	S	S	S	S
E5	+	R	R	S	S	S
E6	++	R	R	S	S	S
N7	-	R	S	R	S	S
N8	++	R	R	R	R	S
N9	+++	R	R	R	R	S
N10	+++	R	S	S	R	S
N11	+	R	S	S	S	S
N12	+	R	S	S	I	S
T13	++	R	S	S	I	S
T14	+	R	S	S	S	S
T15	++	R	R	R	S	R
E16	+	R	R	R	S	R
E17	+	R	R	R	S	S
E18	+	R	R	R	S	S
T19	++	R	R	R	S	S
T20	+++	R	R	R	S	S
T21	+	R	R	R	S	S
E22	-	R	S	S	S	S
E23	+	R	S	S	S	S

E24	+	R	S	S	S	S
N25	+	R	S	S	S	S
N26	+	R	S	S	S	S
N27	-	R	S	S	S	S
T28	++	R	S	S	S	S
T29	+	R	S	S	S	S
T30	+	R	S	S	S	S
N31	+	R	S	I	S	S
N32	++	R	I	S	S	S
E33	+	R	I	S	S	S
E34	+	R	S	S	S	S
E35	-	R	S	S	S	S
T36	+	R	S	S	S	S
T37	++	R	S	S	S	S
T38	+	R	S	S	S	S
E39	+	R	S	S	S	S
E40	+	R	S	S	S	S
E41	++	R	S	S	S	S
T42	-	R	S	S	S	S
T43	+	R	I	S	I	S
T44	+++	R	S	S	I	S
T45	++	R	S	S	S	S
N46	++	R	S	S	S	S
N47	+	R	S	S	S	S
E48	++	R	S	S	S	S
ATCC	-	S	S	S	S	S

(+):weak (-):Negative (I):Intermediate (++):Moderate (S):Sensitive

(+++):Strong **(R):Resistance**

المناقشة :-

يوضح الجدول (1) العدد والنسب المئوية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عمال المطاعم. اذ شكلت عزلاتها الموجبة لانزيم التجلط اعلى نسبة (24.6%) من اللوزتين وهذا يتفق مع ما جاء به الجرجري (17) . ولم تتفق مع النتائج التي حصلت عليها حسين (18) اذ بلغت نسبتها (7%) وقد يعزى ذلك الى الاختلاف في الفترة الزمنية التي جمعت فيها العينات اضافة الى احتمال تناول المرضى الى المضادات الحياتية والذي يؤدي الى تغيير اعداد الجراثيم وفق الظرف المعين . ويرجع السبب في سيادة بكتريا *S.aureus* على الانواع الاخرى من الجراثيم كونها تشكل النبيت الطبيعي للجسم ولاسيما على الجلد ومقدمة المنخرين اذ تحمل هذه البكتريا بنسبة (30%-20) في خيشوم الاصحاء الذين يشكلون اهم واخطر مصدر مسبب للاصابة فضلا عن قابلية هذه البكتريا لمقاومة الجفاف والانتشار عن طريق الهواء (19) ،والملاحظ ان المكورات العنقودية الموجوده في الجلد غالبا ما تكون صعبة الازاله باستعمال مضادات الحياة وهذا يرجع الى تكرار التلوث بهذه الجراثيم من المستودع الانفي ولهذا نجد ان مقاومة البكتريا للمضادات كانت ومازالت المعضله الاساسية امام نجاح العلاج ومن الصعوبة ان توجد مجموعة من مضادات الحياة لم تظهر البكتريا اساليب لمقاومتها (20).

ومن هنا يتضح ومن خلال الدراسات المتعدده ان المكورات العنقودية الذهبية لها القدرة على احداث الامراضية فهي مكورات منتجة للسموم المعوية (Enterotoxins) وتهاجم الدم مسببه ما يسمى تعفن الدم (Septcemia) التي تتميز بحمى مستمرة كما وتعد مسببات التهاب المجاري البولية والدمامل والتهاب الجروح وذات الرئه (8). ولكن عندما يتعرض الانسان لامراض اخرى او ضعف المناعة تصبح جراثيم انتهازية لها القابلية على اصابة الانسان المعدي وهذا يفسر سيادة *S.aureus* في هذا المرض كما ذكر سابقا (21) .ويوضح الجدول (2) عدد العزلات والنسب المئوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عمال المطاعم الحاملين حسب الفئة العمرية ،اذ كانت اعلى نسبة 48.5% من اللوزتين تقع بين الاعمار من (21-30) سنة ،وقد يعزى سبب ذلك الى احتمال تعرض العمال ضمن هذه الفئات الى التهاب اللوزتين خلال فصل الشتاء البارد وقد جاءت هذه النتائج مقاربة الى السعدي (22) في دراستها الى عزل وتشخيص البكتريا المصاحبة لالتهاب اللوزتين وحساسيتها تجاه بعض مستخلصات النباتية الطبية . واما الاذن فقد اخذت مدى واسعاً اذ كانت عدد الحاملين للمكورات تتراوح بين الاعمار من (10-20) سنة وبنسبة 42.6 % وقد يعود السبب الى كثرة الافرازات الدهنية خلال هذه الاعمار التي تتميز بتغيرات فسلجية وهو ما يؤدي الى حدوث ثلوث في الاذن مما يجعلها اكثر عرضة للاصابة واما الانف فقد كانت اعلى نسبة تقع بين الاعمار (21-30) سنة وبنسبة 30.1% وقد يعزى سبب ذلك الى احتمال تلوث الانف عن طريق الاستنشاق بالبكتريا وضعف مناعة تلك الفئات مما جعلها اكثر عرضة للاصابة وقد اظهر جدول تحليل التباين وجود فروق معنوية في عدد العزلات للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عمال المطاعم وحسب الفئات العمرية . ويوضح الجدول (3) انتشار بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من العمال حسب مناطق السكن.إذْ كانت اعلى نسبة لمسحات الاذن في سكان الارياف وبنسبة (57.3%) بينما بلغت النسبة في سكان المدينة (42.6%)،وقد يعزى السبب الى ازدحام عوائل الارياف ضمن البيت الواحد حيث الكثير من المصابين بالتهاب الاذن ضمن العائلة الواحدة،وتتفق هذه النتائج مع نتائج الياسين (23) في دراسته انتان الاذن الوسطى دراسة وبائية واحيائية. واما عزلات الانف فقد كانت اعلى نسبه لها في سكان الارياف ايضا وبنسبة (58.9%) واما سكان المدينة فكانت نسبتها (41%) ،وقد يعزى ذلك الى قلة الخدمات الصحية والمراكز التابعه لها وقلة الوعي الصحي. وأشارت النتائج أيضاً الى ان عزلات اللوزتين كانت اعلى نسبة لها في سكان المدينة (51.9%) بينما كانت اقل من نسبة سكان الارياف (48%) .وهذا ما دعا الى اخضاع العزلات البكتيرية قيد الدراسة الى استعمال نظام Api Staph system والتي اظهرت نتائج التشخيص باستعماله تطابقا كاملا مع نتائج الاختبارات الكيموحيوية السابقة الذكر لبكتريا *S.aureus* حيث يتكون من (19) اختبارا بايوكيميائيا لدراسة وكشف الفعالية البايوكيمائية والانزيمية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة والتي شملت فحص تخمر الكاربوهيدرات وفحوصات انزيمية اخرى . وقد تباينت نتائج هذه الفحوصات بين السلالات البكتيرية قيد الدراسة والتابعه للنوع *S.aureus* ،ويعزى سبب ذلك الى الاختلاف بين السلالات البكتيرية من حيث قابليتها التخميرية للكاربوهيدرات ويوضح الشكل (2) نتائج تشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بنظام API.وقد جاءت هذه النتائج متوافقه مع نتائج السهلاوي (24) في دراسة بكتريولوجية لعزلات محلية من بكتريا العنقوديات الذهبية المقاومة لمضاد المثيسلين. ويعد هذا النظام مهما في التشخيص البكترلوجي لكونه فحصا دقيقا وسريعا وشاملا لجميع الاختبارات المهمة في التشخيص وتلافيا للأخطاء والخلط في الطرق الاعتيادية للتشخيص وخاصة بين الانواع المطابقة لجنس المكورات العنقودية (8) .هناك تباينا واضحا في مقاومة عزلات المكورات العنقودية الذهبية لمضادات الحياية المستخدمة،إذْ اظهرت هذه البكتريا مقاومة عالية للبنسلين ج والامبسلين إذْ بلغت نسبتها (93.7%)،(89.5%) على التوالي وهذه النسبة العالية للمقاومة تعود لامتلاك هذه المضادات لحلقة β-lactame لذا فاستعمالها علاجاً للالتهابات التي تسببها بكتريا *S.aureus* اصبح

محدودا (25,26). ويتضح من الجدول (5) ايضا ان هناك 26 عزلة مقاومة للجنتامايسين وبنسبة 54.1% وقد قاومت 34 عزلة سيفالوكسين وبنسبة 70.8% وسيفاتاكسين وبنسبة 60.4% كما قاومت 26 عزلة السفترياكسون وبنسبة 54.1% وصولا الى التتراسايكلين والرفامبسين والسبروفلوكساسين والفانكومايسين حيث كانت عدد العزلات المقاومة لهم(23،21،5،0) على التوالي وبنسبة (47.9%,43.7%,8.7%,0) وقد جاءت هذه النتائج مقاربة لنتائج عاكف (27) في دراسة مقارنة لالتهاب المجاري البولية المتسببة عن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وايشرشيا القولون وتاثير بعض مضادات الحياة عليها. ان وجود المقاومة العالية في العزلات المحلية لمجموعة مضادات البيتالاكتام قد يعزى الى العديد من الاليات التي تلجا اليها البكتريا لحماية نفسها من تاثير هذه المضادات ومن هذه الاليات هي تغير موقع الهدف متمثلا بالانزيمات التي تلعب دورا مهما في بناء الجدار الخلوي،كما يمكن ان تقاوم البكتريا هذه المضادات عن طريق انظمة الدفق Efflux system ،التي تعد من اساليب المقاومة الذاتية التي يتم من خلاله قذف المضاد من داخل الخلية الى خارج الخلية بمساعدة الغشاء البلازمي (28) . اما المقاومة للتتراساكلين فعادة ما تشفر في بكتريا المكورات العنقودية من قبل 15 جين عن طريق حماية الرايبوسومات التي تمثل موقع عمل هذا المضاد بواسطة بروتين ذائب(29) في حين ان المقاومة لمضادات الرفامبسين تتم عن طريق تغير موقع الهدف لهذا المضاد متمثلا بالانزيم RNA DNA-depended polymarase عن طريق حدوث طفرات كروموسومية (30) . وتشمل مجموعة الكوينولينات Quninolones مضاد السبروفلوكساسين فعلى الرغم من فعالية هذا المضاد الا اننا نلاحظ في دراستنا هذه تطور المقاومة لهذا المضاد في عزلاتنا المحلية،ولعل ذلك يعود الى حدوث طفرة وراثية ادت الى تخليق انزيماتgyrase DNA مقاومة لفعل هذا المضاد (31) .

واما مضاد الفانكومايسين الذي يعد من المضادات ذات التاثير القاتل اذ يعمل على تثبيط تخليق الجدار الخلوي وذلك لقدرته على منع ارتباط بوليمرات البتيدوكلاكان (32) ،ورغم فعاليته أتجاه المكورات العنقودية الا انه سجلت حالات مقاومة له وقد يعزى سبب ذلك الى زيادة سمك الجدار الخلوي وقلة حساسية الخلية البكتيرية للانزيمات الحالة (33) . ويبدو ان السبروفلوكساسين كان له تأثيرٌ واضحٌ على عزلات المكورات العنقودية الذهبية وهذا ما اشار اليه Yamada *et al*. (34) في دراسة تاثير هذا المضاد على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية إذْ يعد من مضادات الحياة المثبطة لانواع البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة الكرام ومن جهة اخرى فان افضل مضادات الحياة المستعملة في دراستنا الحالية عند استثناء الفانكومايسين لسميته العالية هي الريفامبسين والسبروفلوكساسين ويعد الاخير مصدراً لعلاج التهاب المجاري البولية ويستعمل في عملية نقل الكلية كونه مضاداً امن الاستعمال وذو تاثيرات جانبية قليله ويطرح عن طريق الادرار (35,36) .وعلى الرغم من دخول السبروفلوكساسين للعلاج في السنوات القليلة الماضية الا ان الزيادة العشوائية في استعماله ادت الى ظهور عزلات مقاومة له،حيث وجد الباحث Blondeam *et al*., (37) ان (90%) من عزلات *S.aureus* كانت مقاومة لهذا المضاد الحيوي . ويعزى سبب التفاوت في مقاومة البكتريا لمضادات الحياة المختلفة الى قدرتها على منع التاثير القاتل للمضاد بواسطة اليات مختلفة تتمثل بيتثبيط فعل المضاد عن طريق انتاج مواد مثبطه مثل البيتالاكتاميز ،او عن طريق التحمل Tolerance للتاثير القاتل للمضاد او بتغير المسار الايضي الخلوي او عن طريق تغيير نفاذية الغشاء الخلوي (5) .واظهرت النتائج الوارده في الجدول (6) ان العزلات (N7) ، (E22) ،(N27) ، (E358) ، (T42) كانت سالبة لفحص انزيم البيتالاكتاميز ولكنها في الوقت نفسه مقاومة للعديد من البنسلينيات ومضادات البيتالاكتام الاخرى مما يشير بوضوح الى وجود ميكانيكيات اخرى للمقاومة قد تكون هي السبب وراء مقاومة تلك العزلات ،ولهذه البكتريا القدرة ايضا على توليد مقاومة داخلية وذلك من خلال خفض الفه او كمية البروتين المرتبط بالبنسلين (PBPs) وكذلك القدرة على تحمل التاثير القاتل لتلك المضادات ،اذ ان بروتينات PBPs تنتمي –وكما اشار الى ذلك Firth & Skurray (38) الى عائلة البيتالاكتاميز نفسها التي قد تم عزلها من البكتريا الموجبة والسالبة وبهذا الخصوص اشار Sanders (39) الى شيوع الميكانيكية الاولى (انتاج البيتالاكتاميز) والثانية خفض الفه او كمية PBPs) في مقاومة مضادات البيتالاكتام.

المصادر :-

1.Koneman, E. W. ; Allen, S. D. ; Janda, W. M. ; Schreckebergev, P. C. and Win, W. C. (1997). Color Atlas and text book of diagnostic microbiology. 5th ed, J. B. Lippincott Raven Publishers, Philadelphia.

2.Brooks, G. F.; Butel, J. S. & Morse, S. A. (2001). Jawetz, Melnick,& Adelberg's Medical Microbiology. 22ed. A Division of the McGraw-Hill Companies.

3.عاكف،ورود كمال (2003).دراســة مقارنة للالتهابات المجاري البولية المتســببة عن بكتريا ايشــركيا القولون والمكورات العنقودية الذهبية وتاثير نبات الزعتر عليها وعلى انسجة الجهاز البولي.رسالة ماجستير.كلية العلوم-جامعة المستنصرية.

3.Rosen, A. B. ; Corey, G. R. ; Downs, S. M. ; Biddle, A. K. ; Li, J. and Jollis, J. G. (1999). Cost-effectiveness of tranesophageal echocardiography to determine the duration of therapy for intravascular catheter-associated *staphylococcus aureus* Bacteremia. Ann. Intern. Med. 130 : 810-820.

4.Novak, F.R. ; Dasilva, A.V. ; Hagler, A.N. and Figueiredo, A.M.S., (2000). Contamination of expressed human breast milk with an epidemic , multiresistant staphylococcus aureus clone. J. Med. Microbiol. 49 : 1109-1117.

5.Brooks,G.F.,Butel,J.S.&Morse.S.A.(1998).Jawetz,Melink&Adelberg's Medical Microbiology.21st ed.Appleton & lang,Asimo & Schuster Co.,California.

6.Mini, E. ; Nobili, s. and Periti, P. (1997). Methicillin-resistant staphylococci in clean surgery. Drugs. 54(6) : 39-52.

7.Murray,B. E. (1984). Emergence of diseases caused by bacteria resistance to antimicrobial agents. In : Steele, J. N. and Beran, G. W. (eds.). Hand book series in zoonoses.Vol. 1,CRC Press,Inc. Boca Raton, Florida.

8.Collee, J. G. ; Fraser, A. G. ; Marmion, B. P. and Simmons, A.(1996). Mackine and McCarteny "Practical medical microbiology" 14th ed, Churchill livingston Inc., New York.

9.Baron ,E.J.;Peterson,L.R.& Finegold ,S.M.(1994) Bailey & Scoffs Diagnostic Microbiology .9th ed.thc C.V.Mosby ,Co.,USA.

11.Cruickshank, R. ; Dugnid, J. P. ; Marmion, B. P. and Swain, R.A. (1975). Medical microbiology. Vol. 2, practice of medical microbiology. 12th ed, Churchill Livingstone, London.

12.Johnson, A. G.; Ziegler, R. J.; Lukasewycz, O. A. & Hawley, L. B. (2002). Board Review Series Microbiology & Immunology. 4thed. Lippincott Williams & Wilkins Awolters Kluwer Company. 88.

13.Garrod,L.P.;Reeves,D.S.;Phillips,I.;Williams,J.D.&Wise,R.(1978).Laboratory Methods in Antimicrobial Chemotherapy.Churchill Livingstone,New York.

14.Turnidge, J. & Grayson, M. L., (1993). "Optimum treatment of Staphylococcus infection" Drugs. Vol. 45, No. 3. 353-366.

15.Atlas, R. M. (1995). Laboratory manual of experimental microbiology. Mosby-Year Book, Inc., USA.

16.NCCL,(1993).Performance standard for antimicrobail suceptitity tosting.Eight informational supplement.Document.M 100-58,Vol.18;No.1,NCCL,Wayne,Pa.

17.الجرجري ،محمد طه محمود خضــير (2002) . التاثير البايولوجي لمســتخلصــات بعض النباتات وعدد من المواد الكيميائية على جرثومة *Staphylococcus aureus* المعزولة من حالات مرضــية وغير مرضــية . رســالة ماجستير جامعة الموصل ، كلية التربية .

18.Espersen,F.(1998).Resistance to antibiotics used in dermatological parctice.British.J.Derma.Vol.139.P.4-8.

18.حسين ، سها حسين احمد (2001) . التاثير البايولوجي لبعض المستخلصات النباتية ومكوناتها الفعالة في نمو ثلاثة انواع من الجراثيم المعزولـة من اللوزتين . رســالـة ماجستير ، كلية التربية ، جامعة الموصل .

19.Dowell,E. B. & James , J. F. (2001). Speciation of Coagulase Negative staphylococci , Contagious comments Department of Epidemiology The children's Hospital Association . 15:102-104.

20.Amyes , S.G.B. (2000). The rise bacterial resistance .BMJ,320:199-200 .

21.MacFaddin,J.F.(2000).Biochemical test for identification of medical bacteria.The williams & Wilkins Co.,USA.

22السعدي،امال غازي مهدي(2002).عزل وتشخيص البكتريا المصاحبة لالتهاب اللوزتين وحساسيتها تجاه بعض المستخلصات النباتية.رسالة ماجستير .كلية التربية-جامعة القادسية.

23.الياسين،سارة عزيز وطبان (2001).دراسة الفعالية التضادية للنباتات الطبية على بعض الجراثيم المرضية.رسالة ماجستير.كلية العلوم.جامعة الكوفة.

24.Bennett , R. W. & Lancett ; G . A . (2001) . *Staphylococcus aureus* in Bacteriological Analytical Manual Online January . Chapter 12 .U. S Food & Drug Administration Center for food Safty & Applied Nutrition.

25.Deepak, S.; Samant, S. A., & Urhekar, A. D., (2000). study of coagulase positive & negative staphylococci in clinical samples.Indian. J.,Med. Sci., 53 : 425-8.

26.السهلاوي،زهير صادق رزاق (2002).دراسة بكترلوجية لعزلات محلية من بكتريا المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* المقاومة للمضاد المثيسلين.رسالة ماجستير.كلية العلوم-جامعة الكوفة.

27.Joseph,K.M.(1993).New Microbiology method for the detection of Staphylococcal Beta-lactames.Indian.J.Expermental biology.31:653-654.

28.Urass,W.K.,Haule,E.A.;Kagoma,C.&Langeland,N.(1999).Antimicrobial suscepibility of *Staphylococcus.aureus* straivsat muhimbili medical center,Tanzania.J.Medic.Vol 76 (12):695-695.

29.Solnik,J.V.(2003).Antibiotic mechanisms resistance.Div.Infect.Dis.,530:752 - 1333.

30.Tylor,D.E.(1996).Tetracycline resistance mediated by ribosomal protection J.Antmicrobial.Agents chemother.,40:1-5

31.Schmitz,F.J.;Fluit,A.C.;Hofener,D.;Beeck,A.;Perdikouli,M;Boos,M.;Schearing,S.;Ver hoef,F.;Kohrer,K.and Von-Eiff,C.(2000).Development of resistance to ciprofloxacin,ravampicin and Mupirocin in methicillin-susceptible and resistance *Staphylococcus aureus* isolates.J.Antimicrobail.Agents chemother.,44:3229-3231.

32.Schwarber,M.J.;Graham,C.S.;Sand,S.B.E.;Gold,H.&Carmeli,Y.(2003).Treatment with abroad species.J.Antimicrob.Agents chemother.,882-889.

33.Gonzalez-Zom,B and Courvalin,P.(2003).Van A-mediated high level.Glycopeptide resistance in MRSA.Lancet.Infect.Dis.,3:67-68.

34.Yamada,H.;Kursoe-Hamad,S.;Fukuda,Y.;Mitsayama,Y.and Narita,H.(1997).Quinolone susceptility of nor a disronpted Staphylococcus aureus antimicrobial agent and chemotherapy.41(10):2308-3209.

35.Grekas,D.;Thanos,V.;Dioudis,C. and Alivanis,P.(1993).Treatment of urinary tract infections with ciprofloxacin after renal transtation.Inter.J.Clin.Pharmacol ther.Toxicol.,31(6):309-311.

36.Stevens DL,(2006). Infectious Disease Section, Veterans Affairs Medical Center, Boise, ID, 83702, USA

37.Blondeam,Jm.;Yaschuk,Y.;Suter,M&Uaughan,D.(1999).In.Vitro susceptibility of 1982.Respiratory tract pathogens urinary tract pathogens against 19 ntimicrobial.J.Antimicrobe.Chemother.43:3-23.

38.Firth,N.& Skurray,R.A.(1998).Mobile elements in the evalution and spread of multiple-durg resistance in Staphylococci Drug resistance updates,1:49-58.

39.Sanders,C.C.(1992).β-lactames of gram negative bacterai:New challenges for new drangs.Clin.Infect.Dis.14:1089-1099.

40.Thomson,K. S. (1995). B-lactamase : New challenges for the clinical laboratory infection diseases in clinical practice. Am. J. Med. 3(6) : 436-471.

41.Neu,H.C.(1984).The Patient at risk for infection.Am.J.Med.76:240-243.

مجلة القادسية للعلوم الصرفة المجلد 16 العدد 2 سنة 2011
ISSN 1997-2490

Detection of *Staphylococcus aureus* producing Beta lactamase among carriers restaurants workers in Al-Diwanyia Governorate

***Maitham Ghaly yousif, **Alli Abdul Raheem , **Sajaa Jaber mehdy**

Biology Department ,college of Science

***Collage of Scince -Al-Qadissiay University/**Eudcation collage-Al-Qadissiay University**

Abstract:-

The isolation and identification of *Staphylococcus aureus* members from restaurant workers carrers swabs were 232 samples. (82) from ear, 73 from nose and 77 from tonsil. The results showed that 69 isolates were belong to the genus Staphylococcus , 48 of them were of *Staphylococcus aureus* which prevalent in tonsils (24.6%) , (51.9%) in urban community and in ages (21-30) years. But rarely isolated from nose (1.5%) in same ages while in 58.1% from rural community. 89.5% of S.aureus members showed beta lactamase production by cappilary tubes and the fast iodine methods. bacterial isolates were resistant to the PencillinG, Ampicilline, Tetracyline, Gentamycine, Cephalaxine,Cefataxine,and Cefetriaone antibiotics, while it is Susceptible to other antibiotics .