

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

*د.ميثم غالي يوسف، علي عبد الرحيم ، سجي مهدي جابر
جامعة القادسية / كلية العلوم/ قسم علوم الحياة

الخلاصة

عزلت وشخصت افراد المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* من مسحات لعمال المطاعم الحاملين لها والبالغة ٢٣٢ مسحة منها (٨٢) من الاذن و (٧٣) من الانف و (٧٧) من اللوزتين . اظهرت النتائج ان (٦٩) عزلة للنوع *S.aureus* الذي ساد في اللوزتين وبنسبة ٢٤,٦% ولدى ٥١,٩% من سكنة المدينة في الفئة العمرية (٢١-٣٠) سنة وكانت اقل نسبة عزل من الانف وبنسبة ١,٥% ولدى نفس الفئة العمرية ولكن في ٥٨,١% من سكنة الارياف، في حين سادت المكورات السالبة لانزيم التجلط من مسحات الانف وبنسبة ١٢,٣%. اظهرت ٨٩,٥% 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 والجنتاميسين، والسيفالكسين، وسيفاتاكسين، وسفترياكسون غير أنها كانت حساسه للفانكوميسين السيروفلوكساسين والريفاميسين.

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 مناخهم بـ (٤٠-٥٠%) 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 تؤدي 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 للذيفانات (Toxins) والإنزيمات (Enzymes) التي تساعدها في أحداث الإصابة (5) . كان البنسلين من أكثر مضادات الحياة تأثيراً 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 بكتيرية 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 .

المواد وطرائق العمل

جمع العينات

جمعت 232 مسحة من عمال المطاعم بواقع ١٢ موقع في مدينة الديوانية وللفترة من شهر شباط ٢٠٠٥ ولغاية شهر تشرين الاول ٢٠٠٥ 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 ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة. تم زرع العينات على اطباق حاوية على وسط اكار الدم Blood agar والمانتول الملحي وحضنت الاطباق في درجة حرارة ٣٧°م لمدة ١٨-٢٤ ساعة وبعد ظهور النمو تم اختيار المستعمرات المنفردة ذات المواصفات المطلوبة واعيد زرعها على وسط اكار المانيتول الملحي وحضنت الاطباق بدرجة حرارة ٣٧°م ولمدة ٢٤ ساعة ، وبعد ظهور النمو اخذت مستعمرات منفردة وزرعت على وسط مائل (Slant) الاكار المغذي وحفظت في درجة ٤°م لحين اجراء الاختبارات الكيموحيوية عليها (8).

تم تشخيص افراد النوع اعتمادا على الاختبارات الشكلية والكيموحيوية والفسلجية (8,9,10) والتأكيد التشخيص باستخدام نظام API Staph. المجهز وحسب تعليمات الشركة المجهزة. اجري اختبار التحري عن انزيمات البيتا لاكتاميز حسب (١٣) باستخدام طريقتي الانبوب الشعرية واليود السريعة كما اجري اختبار الحساسية للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة حسب الطريقة القياسية للانتشار بالاقراص المحورة (٩) .

التحليل الاحصائي

اجري التحليل الاحصائي وفق ما جاء به الرواي (١٩٨٠) حيث استخدم جدول تحليل التباين (Anova) واختبار قيمة (F) الاحصائي للمقارنة بين المجاميع المختلفة وتحت مستوى معنوية ($P \leq 0.05$).

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 تعطي نمواً على وسط اكار المانيتول التي بلغ عددها ١٦٣ عينة. ومن بين عزلات المكورات العنقودية كانت ٤٨ عزلة تعود الى المكورات العنقودية الذهبية (الموجبة لانزيم التجلط) *Staphylococcus aureus* ونسبة ٢٠,٦ % ، وان ٢١ عزلة الباقية أي بنسبة ٩% 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 (١٥%) من الانف ،وقد اعطت بكتريا *S.aureus* النسبة الاكبر ضمن المكورات العنقودية اذ بلغت نسبتها (٢٠,٦%) من مجموع العينات قيد الدراسة كما في الجدول (١)

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 ٤٨,٥% من اللوزتين تقع بين الاعمار من (٢١-٣٠) سنة ، واما الاذن فقد اخذت مدى واسعاً اذ كانت عدد الحاملين للمكورات تتراوح بين الاعمار من (١٠-٢٠) سنة وبنسبة ٤٢,٦ % . واما الانف فقد كانت اعلى نسبة تقع بين الاعمار (٢١-٣٠) سنة وبنسبة ٣٠,١% . ويوضح الجدول (3) انتشار بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من العمال حسب مناطق السكن. إذ كانت اعلى نسبة لمسحات الاذن في سكان الارياف وبنسبة (٥٧,٣%) بينما بلغت النسبة في سكان المدينة (٤٢,٦%) ، واما عزلات الانف فقد كانت اعلى نسبة لها في سكان الارياف ايضا وبنسبة (٥٨,٩%) واما سكان المدينة فكانت نسبتها (٤١%) ، وأشارت النتائج أيضاً الى ان عزلات اللوزتين كانت اعلى نسبة لها في سكان المدينة (٥١,٩%) بينما كانت اقل من نسبة سكان الارياف (٤٨%) .ومن خلال جدول تحليل التباين ظهرت فروقات معنوية عالية عند مستوى احتمال ($P \leq 0.05$) في انتشار البكتريا حسب مناطق السكن

الجدول (١) العدد والنسبة المئوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عمال المطاعم (الحاملين) قيد الدراسة

تصنيف العزلات				عدد عزلات النامية على المانيتول	عدد العينات	منطقة عزل العينات
النسبة المئوية	السالبة لانزيم التجلط	النسبة المئوية	الموجبة لانزيم التجلط			
٨,٥	٧	٢١,٩	١٨	٢٥	٨٢	الاذن
١٢,٣	٩	١٥	١١	٢٠	٧٣	الانف
٦,٤	٥	٢٤,٦	١٩	٢٤	٧٧	اللوزتين
٩	21	20.6	48	69	٢٣٢	المجموع الكلي

الجدول (٢) عدد العزلات والنسب المئوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عمال المطاعم حسب الفئات العمرية

منطقة عزل العينات	عدد العينات	العزلات موزعه حسب الفئات العمرية					
		١٠-٢٠ سنة	النسبة المئوية	٢١-٣٠ سنة	النسبة المئوية	٣١-٤٠ سنة	النسبة المئوية
الاذن	٨٢	٣٥	٤٢,٦	٢٧	٣٢,٩	١٣	١٥,٨
الانف	٧٣	١٨	٢٤,٦	٢٢	٣٠,١	٢٠	٢٧,٣
اللوزتين	٧٧	١٤	١٨,١	٣٧	٤٨,٠٥	١٧	٢٢,٠٥
المجموع	٢٣٢	٦٧	٢٨,٨	٨٦	٣٧,٠	٥٠	٢١,٥

الجدول (٣) انتشار بكتريا المكورات العنقودية الذهبية من العمال تبعا لمنطقة السكن

منطقة عزل العينات	عدد العينات	مدينة	النسبة المئوية	ريف	النسبة المئوية
الاذن	٨٢	٣٥	٤٢,٦	٤٧	٥٧,٣
الانف	٧٣	٣٠	٤١	٤٣	٥٨,٩
اللوزتين	٧٧	٤٠	٥١,٩	٣٧	٤٨
المجموع	٢٣٢	١٠٥	٤٥,٢	١٢٧	٥٤,٧

الاختبارات الشكلية والكيموحيوية والفسلجية لافراد المكورات العنقودية

اظهرت نتائج العزل والاختبارات الشكلية (٦٩) عزلة من بكتريا المكورات العنقودية ان (٤٨) عزلة بكتيرية منها ذات مستعمرات دائرية كبيرة نسبيا ومرتفعه قليلاً،صفراء الى ذهبية تحيطها منطقة شفافة ضيقة على وسط اكار الدم ذات قدرة على التحليل الكامل للدم من نوع بيتا (β)، وكانت تنمو هوائيا على وسط المانيتول الملحي محولة اياه الى اللون الاصفر لقدرتها على تخمر سكر المانيتول، موجبة لفحص الكاتليز فضلاً عن ان خلاياها عبارة عن مكورات تتجمع على هيئة عناقيد غير منتظمة، موجبة لصبغة الكرام، غير متحركة، موجبة لانزيم مخثر البلازما Coagulase والكاتاليز Catalase والمثيل الاحمر Red methel وفوكس بروسكاور Voges-proskauer، مخمرة لسكريات المانيتول، الكلوكوز، اللاكتوز والمالتوز وغير مخمرة للرافينوز، وكانت محللة للجيلاتين وغير منتجة لانزيم الاوكسيدز وكما موضح في الجدول (٤).

الجدول (٤) . نتائج الاختبارات الكيموحيوية والفلسجية المستخدمة في تشخيص المكورات العنقودية

تخمير السكريات							الاختبارات الكيموحيوية والفلسجية										
مالتوز	رافينوز	سكروز	مالتيتول	لاكتوز	كلوكوز	اختبار الاوكسيدينز	اختبار الجيلاتينيز	انتاج انزيم البوريز	فوكس بروسكور	المثيل الاحمر	تحلل الدم	اختبار البيتا لاكتامينز	اختار انزيم التجلط	اختبار النمو على وسط المانيتول	اختبار الكاتايز	الانواع الجرثومية	
+	-	+	+	+	+	-	+	v	+	+	β	+	+	+	+		
+	-	+	-	v	+	-	n	v	v	v	n	-	-	-	+	الموجبة لانزيم التجلط	
+	-	+	-	v	+	-	n	v	v	v	n	-	-	-	+	السالبة لانزيم التجلط	
متغايرة الاختبار (v)							لم يجرى الاختبار (n)					(-) سالبة للفحص			(+) موجبة للفحص		

(v) متغيرة الاختبار

(n) لم يجرى الاختبار

(-) سالبة للفحص

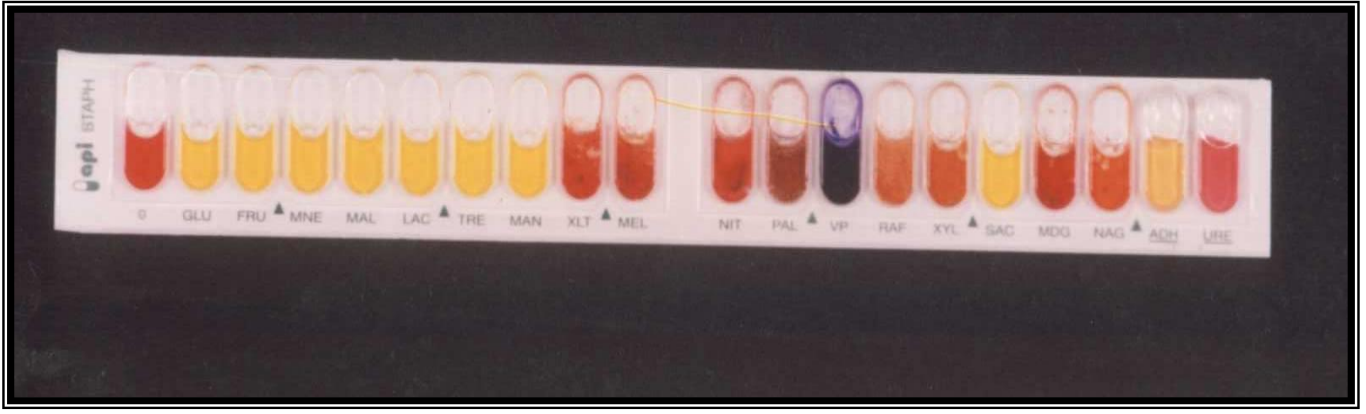
(+) موجبة للفحص

وللتأكد من ان هذه العزلات قيد الدراسة هي من نوع المكورات العنقودية الذهبية *S.aureus* فقد اجري فحص انزيم مخثر البلازما بطريقة الانابيب Tube Coagulase test ، اذ ابدت جميع العزلات قيد الدراسة نتائج موجبه له ، وقد اعطت فحصا موجبا للعامل الخثرة Culmping factor ، عدا ٩% منها إذ كانت سالبة في هذا الفحص كما في الجدول (١) ، وقد يظهر فحص انتاج الانزيم المخثر للبلازما نتائج كاذبه احيانا بسبب نوع وطبيعة البلازما المستعملة ، ومدة الحضان ودرجة التخثر ، فضلا عن امكانية انتاج هذا الانزيم من انواع بكتيرييه .

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 (١٩) اختبارا بايوكيميائيا لدراسة وكشف الفعالية البايوكيميائية والانزيمية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة والتي شملت فحص تخمر الكاربوهيدرات وفحوصات انزيمية اخرى . وقد تباينت نتائج هذه الفحوصات بين السلالات البكتيرية قيد الدراسة والتابعة للنوع *S.aureus* .

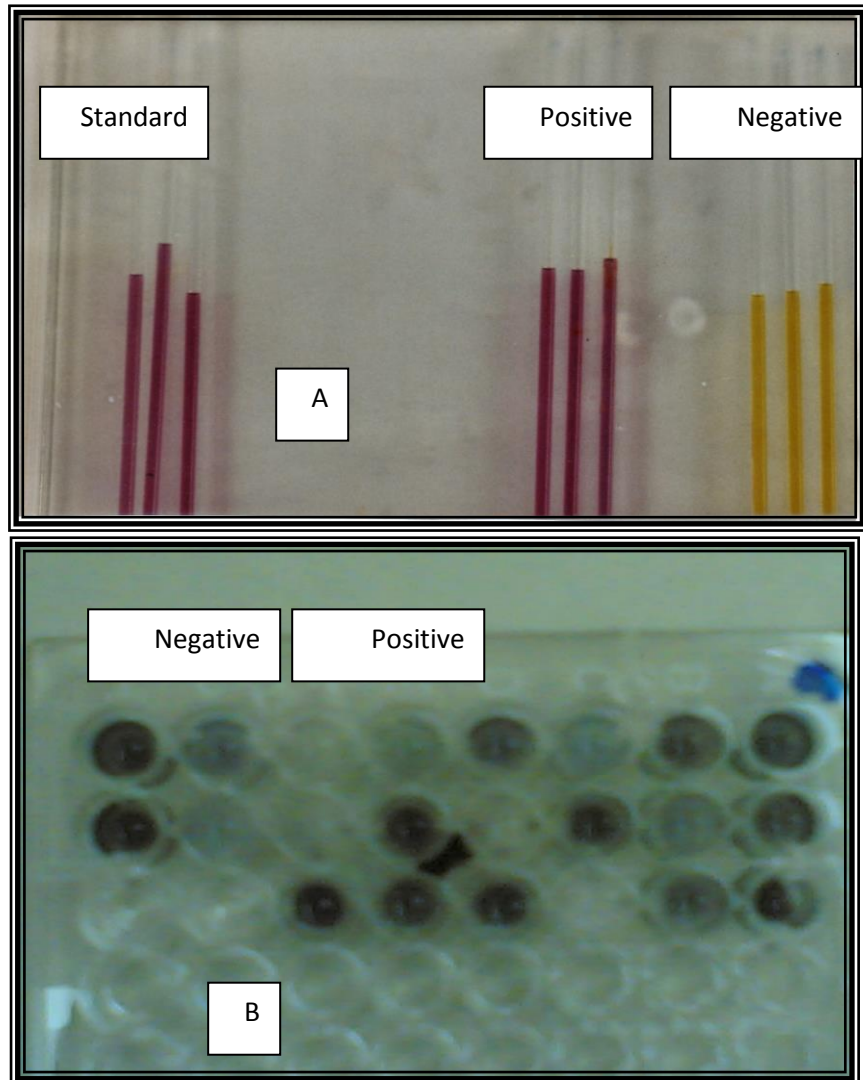


شكل (1) شريط الفحص بنظام (API) للمكورات العنقودية الذهبية قبل الاستعمال



شكل (٢) شريط الفحص بنظام (API) للمكورات العنقودية الذهبية بعد الاستعمال

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



شكل (3) اختبار انتاج انزيمات البيتا لاكتاميز للمكورات العنقودية الذهبية

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

درست حساسية عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية تجاه ١٠ 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 (٥) ان هناك تباينا واضحا في مقاومة عزلات المكورات العنقودية الذهبية لمضادات الحياة المستخدمة، إذ اظهرت هذه البكتريا مقاومة عالية للبنسلين ج والامبسلين إذ بلغت نسبتهما (٩٣,٧%)، (٨٩,٥%) على التوالي. ويتضح من الجدول (٥) ايضا ان هناك ٢٦ عزلة مقاومة للجنتاميسين وبنسبة ٥٤,١% وقد قاومت ٣٤ عزلة سيفالوكسين وبنسبة ٧٠,٨% وسيفاتاكسين وبنسبة ٦٠,٤% كما قاومت ٢٦ عزلة السيفترياكسون وبنسبة ٥٤,١% وصولا الى التتراسايكلين والرفامبين والسبروفلوكساسين والفانكوميسين حيث كانت عدد العزلات المقاومة لهم (٠,٥,٢١,٢٣) على التوالي وبنسبة (0,8.7%,43.7%,47.9%) واطهرت النتائج الوارده في الجدول (٦) ان العزلات (N7) ، (E22) ، (N27) ، (E358) ، (T42) كانت سالبة لفحص انزيم البييتالاكتاميز ولكنها في الوقت نفسه مقاومة للعديد من البنسلينات ومضادات البييتالاكتام الاخرى. وكما يتضح من الجدول (٦) ان ١٨ 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 البييتالاكتاميز ،

الجدول (٥) النسبة المئوية لمقاومة عزلات *S.aureus* (٤٨ عزلة) لمضادات الحياة المستخدمة

المضاد الميكروبي	تركيز المضاد	معدل قطر منع النمو بالملم	العزلات المقاومة			العزلات المتوسطة			العزلات الحساسة		
			بالملم قطر منع النمو	العزلات	%	بالملم قطر منع النمو	العزلات	%	بالملم قطر منع النمو	العزلات	%
Penicillin G	10mg	19	≤٢٠	٤٥	٩٣,٧	٢٨-٢٤	٣	٥,٢	≥٢٩	٠	٠
Ampicillin	10mg	19.5	≤٢٠	٤٣	٨٩,٥	٢٨-٢١	٥	٨,٧	≥٢٩	٠	٠
Gentamamicin	10mg	15.3	≤١٩	٢٦	٥٤,١	١٣-١٠	١٢	٢١	≥١٩	١٧,٥	١٠
Cephalexin	10mg	12.4	≤١٢	٣٤	٧٠,٨	١٣-١٤	١٠	٢٠,٨	≥١٥	٧	٤
Cefetaxine	30mg	11.7	≤١٤	٢٩	٦٠,٤	١٢-١١	١٦	٣٣,٣	≥٢٣	٥,٢	٣
Ceftriaone	30mg	19.8	≤١٣	٢٦	٥٤,١	١٢-١١	١٠	٢٠,٨	≥٢١	٢١	١٢
Tetracyclin	30mg	19.8	≤٢٤	٢٣	٤٧,٩	١٧-١٣	٨	١٦,٦	≥٢٥	٢٩,٨	١٧
Rafampcin	5mg	15.7	≤١٤	٢١	٤٣,٧	١٧-١٥	٧	١٤,٥	≥١٨	٣٥	٢٠
Ciprofloxacin	5mg	16.5	≤١٥	٥	٨,٧	١٨-١٥	٠	٠	≥١٧	٨٩,٥	٤٣
Vancomycin	30mg	15	≤١٩	٠	٠	١١-١٠	٠	٠	≥١٢	١٠٠	٤٨

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

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 (١٧). ولم تتفق مع النتائج التي حصلت عليها حسين (١٨) اذ بلغت نسبتها (٧%) وقد يعزى ذلك الى الاختلاف في الفترة الزمنية التي جمعت فيها العينات اضافة الى احتمال تناول المرضى الى المضادات الحيوية 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 (٢٠-٣٠%) في خيشوم الاصحاء الذين يشكلون اهم واطخر مصدر مسبب للالصابة فضلا عن قابلية هذه البكتريا لمقاومة الجفاف والانتشار عن طريق الهواء (19)، والملاحظ ان المكورات العنقودية الموجودة في الجلد غالبا ما تكون صعبة الازالة باستعمال مضادات الحياة وهذا يرجع الى تكرار التلوث بهذه الجراثيم من المستودع الانفي ولهذا نجد ان مقاومة البكتريا للمضادات كانت ومازالت المعضلة الاساسية امام نجاح العلاج ومن الصعوبة ان توجد مجموعة من مضادات الحياة لم تظهر البكتريا اساليب لمقاومتها (20).

ومن هنا يتضح ومن خلال الدراسات المتعددة ان المكورات العنقودية الذهبية لها القدرة على احداث الامراضية فهي مكورات منتجة للسموم المعوية (Enterotoxins) وتهاجم الدم مسببة ما يسمى تعفن الدم (Septicemia) التي تتميز بحمى مستمرة كما وتعد مسببات التهاب المجاري البولية والدمامل والتهاب الجروح وذات الرئة (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 ٤٨,٥% من اللوزتين تقع بين الاعمار من (٢١-٣٠) سنة ،وقد يعزى سبب ذلك الى احتمال تعرض العمال ضمن هذه الفئات الى التهاب اللوزتين خلال فصل الشتاء البارد وقد جاءت هذه النتائج مقارنة الى السعدي (22) في دراستها الى عزل وتشخيص البكتريا المصاحبة لالتهاب اللوزتين وحساسيتها تجاه بعض مستخلصات النباتات الطبية . واما الاذن فقد اخذت مدى واسعاً اذ كانت عدد الحاملين للمكورات تتراوح بين الاعمار من (١٠-٢٠) سنة وبنسبة ٤٢,٦ % 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 (٢١-٣٠) سنة وبنسبة ٣٠,١% وقد يعزى سبب ذلك الى احتمال ثلوث 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. إذ كانت اعلى نسبة لمسحات الاذن في سكان الارياف وبنسبة (٥٧,٣%) بينما بلغت النسبة في سكان المدينة (٤٢,٦%)، 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 اثنان اثنان الاذن الوسطى دراسة وبائية واحيائية. واما عزلات الانف فقد كانت اعلى نسبة لها في سكان الارياف ايضا وبنسبة (٥٨,٩%) واما سكان المدينة فكانت نسبتها (٤١%) ،وقد يعزى ذلك الى قلة الخدمات الصحية والمراكز التابعة لها وقلة الوعي الصحي. وأشارت النتائج أيضاً الى ان عزلات اللوزتين كانت اعلى نسبة لها في سكان المدينة (٥١,٩%) بينما كانت اقل من نسبة سكان الارياف (٤٨%) . وهذا ما دعا الى اخضاع العزلات البكتيرية قيد الدراسة الى استعمال نظام *Staph system* Api والتي اظهرت نتائج التشخيص باستعماله تطابقاً كاملاً مع نتائج الاختبارات الكيموحيوية السابقة الذكر لبكتريا *S.aureus* حيث يتكون من (١٩) اختباراً بايوكيميائياً لدراسة وكشف الفعالية البايوكيميائية والانزيمية للعزلات البكتيرية قيد الدراسة والتي شملت فحص تخمر الكاربوهيدرات وفحوصات انزيمية اخرى . وقد تباينت نتائج هذه الفحوصات بين السلالات البكتيرية قيد الدراسة والتابعة للنوع *S.aureus* ، ويعزى سبب ذلك الى الاختلاف بين السلالات البكتيرية من حيث قابليتها التخمرية للكاربوهيدرات ويوضح الشكل (2) نتائج تشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بنظام API. وقد جاءت هذه النتائج متوافقة مع نتائج السهلاوي (24) في دراسة بكتريولوجية لعزلات محلية من بكتريا العنقوديات الذهبية المقاومة لمضاد الميثيسلين. ويعد هذا النظام مهماً في التشخيص البكتريولوجي لكونه فحصاً دقيقاً وسريعاً وشاملاً لجميع الاختبارات المهمة في التشخيص وتلافاً للأخطاء والخط في الطرق الاعتيادية للتشخيص وخاصة بين الانواع المطابقة لجنس المكورات العنقودية (8). هناك تبايناً واضحاً في مقاومة عزلات المكورات العنقودية الذهبية لمضادات الحياة المستخدمة، إذ اظهرت هذه البكتريا مقاومة عالية للبنسلين ج والاميسلين إذ بلغت نسبتها (٩٣,٧%)، (٨٩,٥%) على التوالي وهذه النسبة العالية للمقاومة تعود لامتلاك هذه المضادات حلقة β -lactame لذا فاستعمالها علاجاً لالتهابات التي تسببها بكتريا *S.aureus* اصبح محدوداً (25,26). ويتضح من الجدول (٥) ايضا ان هناك ٢٦ عزلة مقاومة للجنتاميسين وبنسبة ٥٤,١% وقد قاومت ٣٤ عزلة سيفالوكسين وبنسبة ٧٠,٨% وسيفاتاكسين وبنسبة ٦٠,٤% كما قاومت ٢٦ عزلة السفرياكسون وبنسبة ٥٤,١% وصولاً الى التتراسايكلين والرفامبين والسبروفلوكساسين والفانكوميسين حيث كانت عدد العزلات المقاومة لهم (٢٣,٢١,٥٠) على التوالي وبنسبة (0,8.7%, 43.7%, 47.9%) وقد جاءت هذه النتائج مقارنة لنتائج عاكف (27) في دراسة مقارنة لالتهاب المجاري البولية المتسببة عن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية واشرشيا القولون وتأثير بعض مضادات الحياة عليها. ان وجود المقاومة العالية في العزلات المحلية لمجموعة مضادات البيتا لاكتام قد يعزى الى العديد من الاليات التي تلجا اليها البكتريا لحماية نفسها من تأثير هذه المضادات ومن هذه الاليات هي تغير موقع الهدف متمثلاً بالانزيمات التي تلعب دوراً مهماً في بناء الجدار الخلوي، كما يمكن ان تقاوم البكتريا هذه المضادات عن طريق انظمة الدفع *Efflux system* ، التي تعد من اساليب المقاومة الذاتية التي يتم من خلاله قذف المضاد داخل الخلية الى خارج الخلية بمساعدة الغشاء البلازمي (28). اما المقاومة للتتراساكيلين فعادة ما تشفر في بكتريا المكورات العنقودية من قبل ١٥ جين عن طريق حماية الرايبوسومات التي تمثل موقع عمل هذا المضاد بواسطة بروتين ذائب (29) في حين ان المقاومة لمضادات الرفاميسين تتم عن طريق تغير موقع الهدف لهذا المضاد متمثلاً بالانزيم *DNA-dependent RNA polymerase* عن طريق حدوث طفرات كروموسومية (30). وتشمل مجموعة الكوينولونات *Quinolones* مضاد السيروفلوكساسين 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 انزيمات *DNA gyrase* مقاومة لفعل هذا المضاد (31).

واما مضاد الفانكوميسين الذي يعد من المضادات ذات التأثير القاتل اذ يعمل على تثبيط تخليق الجدار الخلوي وذلك لقدرته على منع ارتباط بوليمرات الببتيدوكلاكان (32)، ورغم فعاليته اتجاه 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 تأثير واضح على عزلات المكورات العنقودية الذهبية وهذا ما اشار اليه (34) Yamada *et al.* في دراسة تأثير هذا المضاد على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية اذ يعد من مضادات الحياة المثبطة لانواع البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة الكرام ومن جهة اخرى فان افضل مضادات الحياة المستعملة في دراستنا الحالية عند استثناء الفانكوميسين لسميته العالية هي الريفاميسين والسبروفلوكساسين وبعد الاخير مصدراً لعلاج التهاب المجاري البولية ويستعمل في عملية نقل الكلية كونه مضاداً امن الاستعمال وذو تأثيرات جانبية قليلة وي طرح عن طريق الادرا (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 (37) Blondeam *et al.* ان (90%) من عزلات *S.aureus* كانت مقاومة لهذا المضاد الحيوي. ويعزى سبب التفاوت في مقاومة البكتريا لمضادات الحياة المختلفة الى قدرتها على منع التأثير القاتل للمضاد بواسطة اليات مختلفة تتمثل بـ تثبيط فعل المضاد عن طريق انتاج مواد مثبطة مثل البيبتالاكتاميز، او عن طريق التحمل Tolerance للتأثير القاتل للمضاد او بتغيير المسار الايضي الخلوي او عن طريق تغيير نفاذية الغشاء الخلوي (5). وظهرت النتائج الواردة في الجدول (٦) ان العزلات (N7)، (E22)، (N27)، (E358)، (T42) كانت سالبة لفحص انزيم البيبتالاكتاميز ولكنها في الوقت نفسه مقاومة للعديد من البنسلينات ومضادات البيبتالاكتام 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 التأثير القاتل لتلك المضادات، اذ ان بروتينات PBPs تنتمي -وكما اشار الى ذلك (38) Firth & Skurray الى عائلة البيبتالاكتاميز نفسها التي قد تم عزلها من البكتريا الموجبة والسالبة وبهذا الخصوص اشار (39) Sanders الى شيوع الميكانيكية الاولى (انتاج البيبتالاكتاميز) والثانية خفض الفه او كمية (PBPs) في مقاومة مضادات البيبتالاكتام.

المصادر

1. Koneman, E. W. ; Allen, S. D. ; Janda, W. M. ; Schreckeberger, 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 (٢٠٠٣). دراسة مقارنة للالتهابات المجاري البولية المتسببة عن بكتريا ايشريشيا القولون والمكورات العنقودية الذهبية وتأثير نبات الزعر على 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 transesophageal 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, Melnick & 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). Mackinnon and McCartney "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. the C.V. Mosby, Co., USA.
11. Cruickshank, R. ; Duguid, 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. 4th ed. 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 antimicrobial susceptibility testing. Eight informational supplement. Document. M 100-58, Vol. 18; No. 1, NCCL, Wayne, Pa.
17. الجرجري، محمد طه محمود خضير (٢٠٠٢). التأثير البايولوجي لمستخلصات بعض النباتات وعدد من المواد الكيميائية على جرثومة *Staphylococcus aureus* المعزولة من حالات مرضية وغير مرضية. رسالة ماجستير جامعة الموصل، كلية التربية.
18. Espersen, F. (1998). Resistance to antibiotics used in dermatological practice. British J. Derma. Vol. 139. P. 4-8.
18. حسين، سها حسين احمد (٢٠٠١). التأثير البايولوجي لبعض المستخلصات النباتية ومكوناتها الفعالة في نمو ثلاثة انواع من الجراثيم المعزولة من اللوزتين. رسالة 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.
22. السعدي، امال غازي مهدي (٢٠٠٢). عزل وتشخيص البكتريا المصاحبة لالتهاب اللوزتين وحسايتها تجاه بعض المستخلصات النباتية. رسالة ماجستير. كلية التربية - جامعة القادسية.
23. الياسين، سارة عزيز وطبان (٢٠٠١). 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 (٢٠٠٢). دراسة بكتريولوجية لعزلات محلية من بكتريا المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* المقاومة للمضاد الميثيسلين. رسالة ماجستير. كلية العلوم - جامعة الكوفة.
27. Joseph, K.M. (1993). New Microbiology method for the detection of Staphylococcal Beta-lactams. Indian. J. Experimental biology. 31:653-654.
28. Urass, W.K., Haule, E.A.; Kagoma, C. & Langeland, N. (1999). Antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* strains at 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. Antimicrobial. Agents chemother., 40:1-5
31. Schmitz, F.J.; Fluit, A.C.; Hofener, D.; Beeck, A.; Perdikouli, M.; Boos, M.; Schearing, S.; Verhoeff, 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. Antimicrobial. 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 susceptibility of nor a disrupted *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.

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

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

Biology Department ,college of Science , Al-Qadissiy 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 cappillary 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 .