وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جـامـــعة القادسـية
كلـية العـــلوم
قـــسم البـيـئة

تحديد استعمار بكتريا المكورات العنقودية الذهبية عند مجموعة من الطلبة والعاملين في النادي الطلابي لكلية العلوم جامعة القادسية

بحث تقدم به

امير عبد الكريم عبد الامير
جيهان حمزه عبد الله

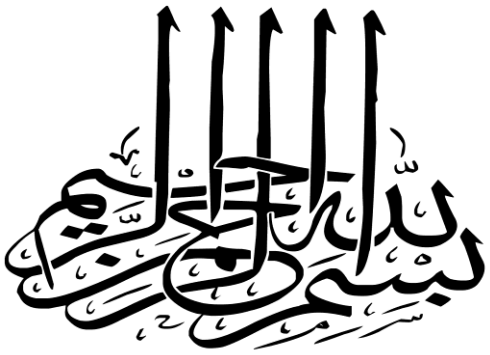
الى مجلس كلية العلوم قسم البيئة / جامعة القادسية وهو جزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم البيئة

بأشراف

أ. م.د. الآء فاهم عباس

1439هـ

2018 م



﴿وليعلم الذين اوتوا العلم انه الحق من ربك فيؤمنوا به فتخبت له قلوبهم وان

الله لهاد الذين ءامنوا الى صراط مستقيم ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة الحج

الاية (54)

الاهداء

الى من جرع الكأس فارغا ليسقيني قطرة حب .....

الى من كلت أنامله ليقدم لنا لحظة سعادة .....

الى من حصد الاشواك عن دربي ليمهد لي طريق العلم ....

الى القلب الكبير

(والدي العزيز)

الى من ارضعتني الحب والحنان ...

الى رمز الحب وبلسم الشفاء .....

الى القلب الناصع بالبياض ....

(والدتي الحبيبة)

الى القلوب الطاهرة والنفوس البريئة الى رياحين حياتي .....

(اخوتي واخواتي)

الان تفتح الاشرعة وترفع المرساة لتنطلق السفينة في عرض بحر واسع مظلم هو بحر الحياة وفي هذه الظلمة لا يضئ الا قنديل الذكريات الاخوة البعيدة والصداقة الجميلة

(صديقاتي وأصدقائي)

الشكر والتقدير

كلمة لدي تفضح عميق احساسي بأن احمد الله تعالى بوافي نعمته وبكافي الآءه وبفضله تعم الصالحات والصلاة والسلام على الفخر الكائنات الرسول مُحَمَّد (ص) وجميع من والاه ينابيع الحكم وهواة الامم.

الى واجب الوفاء يدعوني وانا انهي مشروع بحثي هذا بان اتقدم بجزيل الشكر الى الاستاذه (أ.م.د. الآء فاهم عباس) لاقتراحها موضوع البحث هذا ولكل ما قدمت من المساعده والتوجيه ولها لمسه فيها من الروح العلمية كان لها اكبر اثر في الوصول الى نتائج اعداد البحث فلها ثنائي ودعائي بطول العمر وعافية الروح والبدن وتبقى رمزاً علمياً شامخاً لكل المثقفين في مجال العلم والمعرفة.

وكذلك الشكر لكل اساتذتي الكرام.

المحتويات

المواضيع	رقم الصفحة
الفصل الاول:- المقدمة	
المقدمة	1
الفصل الثاني:- استعراض المراجع	
المكورات العنقودية الذهبية	2
الامراضية	5
الوبائية	6
الفصل الثالث:- المواد وطرق العمل	
(1-1) الاجهزة والادوات والمواد المختبرية	8
(1-2) الاوساط الزرعية	8
(1-3) جمع العينات	9
(1-4) الزرع المختبري	9
(1-5) التشخيص	10
(1-6) الخصائص المظهرية والزرعية	10
الاختبارات البايوكيميائية	10
الفصل الرابع:- النتائج والمناقشة	
النتائج والمناقشة	12
الاستنتاجات	19
التوصيات	20
المصادر	21

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة للفترة من 1-10-2017 ولغاية 1-3-2018 وتضمنت مجموعة من (80) شخص من الطلبة والعاملين في النادي الطلابي لكلية العلوم جامعة القادسية، ومن كلا الجنسين (ذكور واناث) تراوحت اعمارهم بين (20-24) سنة، تم خلالها جمع 240 مسحة بواقع ثلاث مسحات من كل شخص تمثلت بمسحات الانف Nose والاذن Ear والجلد Skin. تم الحصول على 39 عزلة فقط تعود لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* شكلت نسبة 16%. وكانت نسبة استعمار هذه البكتريا للانف 20% اعلى من نسبة استعمارها للاذن والجلد 15%، 14% على التوالي.

اظهرت النتائج ان نسبة عزل بكتريا *Staphylococcus aureus* من العاملين في النادي الطلابي (57%) اعلى من نسبة العزل عند الطلبة(37%) وكذلك اظهرت هذه الدراسة من خلال النتائج التي حصل عليها ان نسبة العزل عند الذكور (50%) اعلى من الاناث (47%)، كما كانت نسبة الاستعمار عند المصابين بامراض مزمنة (57%) اعلى منها عند غير المصابين (48%)، اما بالنسبة لتناول المضادات الحياتية فكانت نسبة الاستعمار اعلى عند المتناولين للمضادات الحياتية (83%) مقارنة بغير المتناولين للمضادات الحياتية (46%).

الفصل الأول

المقدمة

المقدمة Introduction:

حضيت جرثومة المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* بأهمية خاصة من بين جراثيم المكورات العنقودية لكونها سبباً مهما في اصابة الانسان بأمراض سريرية تتراوح في شدتها بين امراض جلدية بسيطة الى امراض جهازية خطيرة قد تؤدي بحياة المريض، كما تعد سبباً رئيسياً للعدوى المكتسبة في المستشفى وعدوى المجتمع[Novak et. al, 2000] . تستعمر هذه البكتريا بشكل طبيعي الاغشية المخاطية من الاجزاء الامامية للمنخرين حيث ان حوالي (10-50 %) من الناس يحملون المكورات العنقودية الذهبية، ويشكل الحمل الانفي لهذه البكتريا عامل خطورة مهم لاحداث عدوى العنقوديات، حيث وجد ان حوالي 80% من العزلات الممرضة اصلها من الانف ، وعملية علاج الاستعمار الانفي لهذه البكتريا يعتبر وسيلة فعالة لايقاف العدوى بهذه البكتريا خصوصا بعد اجراء العمليات الجراحية وغسيل الكلى [Vday Abdul et. al, 2017]. وكذلك تستعمر هذه البكتيريا الجلد والقناة التنفسية وايضاً تعد من اكثر الجراثيم انتشاراً في الطبيعة اذ توجد في الهواء والتربة. ان جرثومة المكورات العنقودية الذهبية من الجراثيم التي تسبب اصابات خطيرة عند حدوث خلل او اضطرابات في دفاعات جسم المضيف المناعية. حيث ان هذه البكتريا تصيب المرضى قليلي المناعة والضعفاء وهؤلاء الاشخاص يمكثون طويلاً في المستشفيات ويقابل ذلك وجود مرضى اخرين فمن الممكن ان تكون كل الفئات حاملة لتلك البكتريا [Nsofor et al., 2015: Brooks et. al, 2001].

وتعود امراضية هذه البكتريا وقدرتها في غزو نسيج المضيف وانتشارها فيه الى امتلاكها الكثير من عوامل الضراوة مثل انتاجها الذيفانات Toxins والانزيمات Enzymes التي تساعدها في احداث الاصابة [Brooks el. al, 1998]. ومن خلال الدراسات التي اجراها الباحثين وجد ان الاخماج التي تسببها بكتريا *Staphylococcus aureus* يصعب علاجها لمقاومتها العالية لاغلب انواع المضادات الحيوية.

كان الهدف من هذه الدراسة هو تحديد نسبة استعمار بكتريا المكورات العنقودية الذهبية عند مجموعة من البالغين الطلبة والعاملين في النادي الطلابي لكلية العلوم جامعة القادسية من خلال تحديد نسبة حمل هذه البكتريا في الانف والاذن والجلد.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

استعراض المراجع:

المكورات العنقودية الذهبية (*Staphylococcus aureus*):

المكورات العنقودية الذهبية هي من الكائنات التي ينتشر وجودها في الهواء والغبار والثياب والفراش [Professor et. al, 1968]. وتكون هذه المكورات بشكل خلايا كروية هذه الخلايا قطرها (0.5-5) مايكروميتر[Brooks et. al, 2001] وتأتي هذه المكورات العنقودية الذهبية بواسطة الانسان المريض او حامل لتلك الجراثيم carriers [Professor et. al, 1968]. ولهذه البكتريا القابلية على العيش في الظروف الرطبة والجافة، اي ان هذه البكتريا تقاوم عدد من العوامل الفيزيائية كتحملها لدرجات الحرارة العالية [Brooks et. al, 1998]. وايضاً هذه البكتريا لها قدرة على تحمل الملوحة، وقدرتها على النمو في الاوساط الزرعية [Talaro et. al, 1996]. المكورات العنقودية الذهبية تنتشر بشكل واسع اذ انها توجد في الاغشية المخاطية للانف والجلد والقناة التنفسية وفي بلاعيم العديد من الاشخاص، وايضاً توجد في الغائط ولكنها تتكاثر بكثرة في الانف والجلد [(Professor et. al, 1968),(Gill et. al, 2005),(Tortora et. al, 2004)]. وقد وجد ان هذه المكورات العنقودية الذهبية تكون ممرضة للانسان وتسبب له العديد من الالتهابات الجلدية مثل الدمامل والخراجات والالتهاب حيث وجد ان هذه المكورات العنقودية الذهبية من اكثر الاسباب في اصابة الانسان اي انها تصيب الجلد او لواحقه كما وجد ان اكثر الاشخاص اصابة بهذه البكتريا هم الاطفال المولودين في المستشفيات ويحملونه في انوفهم خلال اسبوعين من ولادة هؤلاء الاطفال وقد توصلوا من خلال الاختبارات التي اجروها والدراسات بأن الخراجات التي تكون تحت الجلد ناتجة من المكورات العنقودية الذهبية وان الاسباب التي تكون المكورات العنقودية الذهبية هي الخراجات والتهاب الجيوب الانفية والحساسية في الدم [Professor et. al, 1968].

اظهرت الدراسات بأن هذه المكورات العنقودية الذهبية موجبة لصبغة غرام وتكون اما هوائية او لا هوائية اختيارية [Holt et. al, 1990]. وايضاً وجد من خلال الاختبارات التي اجراها الباحثين ان هذه البكتريا غير متحركة ولا تحتوي على ابواغ ولكنها تحتوي على محفظة هذه المحفظة لاترى بالعين المجرده وتكون ايضاً رقيقة [Todar et. al, 2002]. تكون بكتريا المكورات العنقودية الذهبية دائرية قطرها يكون من (1-2) وتكون معتمة وملساء ومرتفعة [Davis et.al, 1990]. اظهرت الدراسات ان هناك صعوبة في تحديد الانواع اي السلالات التابعة لهذه البكتريا بسبب اختلاف النشاطات الكيموحيوية لذلك استخدمت انظمة في تشخيص المكورات العنقودية الذهبية [Collee et. al, 1996]. تنمو بكتيريا المكورات العنقودية نمواً جيداً على الاكار المغذي وكذلك على قسم من الاوساط الاخرى وتكون درجة الحرارة المثلى هي 37 مْ [Davis

[et. al, 1990. ان معدلات الحمل الانفي في المرضى والعاملين في المستشفيات اكثر ارتفاعاً من العاملين في المجتمع [Holt et. al, 1994]. وقد بينت هذه الدراسة ان التسمم الغذائي الميكروبي الاكثر شيوعاً تسببه سلالات معينة من المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* التي تنتقل عن طريق الاغذية، وبالتالي فان المصدر الشائع لتلوث الاغذية هو يد الانسان. هذا الكائن يكون مقاوم جدا لنشاط الماء المنخفض مما يعني انه يمكن ان ينمو على منتجات مملحة وجافة نسبياً، ولا ينمو في ضل ظروف الثلاجة، ودون نمو لا ينتج سم. وايضاً وجد ان لديها قدرة تنافسية منخفضة مقارنتةً ببكتيريا حامض اللاكتيك، ولهذا السبب يتم قبول كمية صغيرة من المكورات الذهبية عادة في الغذاء. يرتبط التسمم بعدد كبير من الاطعمة، وغالباً مايتم طهي الطعام للتخلص من الكائنات الحية الدقيقة المتنافسة والطعام الذي تتعامل معه الايدي البشرية (كالدجاج والسلطات والبيتزا والكباب)، وبالتالي قد يكون الغذاء الملوث مازال ساماً بعد اعادة التسخين عند قتل جميع الخلايا الخضرية [Martin et. al, 2008].

تمتلك بكتريا المكورات العنقودية الذهبية العديد من عوامل الضراوة ولهذه العوامل القدرة على احداث الخمج Infection وبالرغم من عدم وجود عوامل الضراوة في جميع العزلات الا انها تعتبر مصدر حيث يتم فيها الكشف عن خصائص امراضية جديدة [Koneman et. al, 1992]. ومن عوامل الضراوة هي المحفظة وتكون هذه المحفظة من ضمن جدار الخلية ويكون عمل هذه المحفظة Capsule هو تثبيط عملية البلعمة حيث يكون لبعض انواع هذه البكتريا القدرة على تكوين وانتاج طبقة من متعدد السكريات تمكن البكتريا من الالتساق بالسطوح الخارجية [Barn et. al, 1994]. كما وجد ان جدار الخلية للمكورات العنقودية الذهبية يحتوي على بروتين A حيث يعمل هذا البروتين على تثبيط الالية للبلعمة اي يعمل قناعاً مناعياً وذلك لحماية البكتريا وتحتوي على حامض التايكويك وقد وجد ان هذا المركب ذائب في الماء ومسؤول عن تكوين مستضدات ويحتوي ايضاً الببتيدوكلايكان الذي له دور في حمايتها من مهاجمة دفاعات المضيف [(Slobodnikova et. al, 1996),(Todar et. al, 2002),(Novak et. al, 2000)].

وهناك عوامل ضراوة اخرى وهي الذيفانات Toxins هذه الذيفانات تعمل على مساعدة البكتريا على مقاومة البلعمة [(Hoffman et. al, 1982),(Von et. al, 2000)] وهناك نوعين من الذيفانات التي تنتجها المكورات العنقودية الذهبية هي الذيفانات الحالة للدم (Haemolysins) والذيفانات القاتلة لكريات الدم البيضاء (Ieucocidin) [Hoffman et. al, 1982].

كما تقوم بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بانتاج نوع من الذيفانات وهي الذيفانات المعوية Enterotoxin التي تسبب حدوث تهيج في بطانة الامعاء والمعدة وتكون هذه الذيفانات على شكل بروتين

مقاوم للحرارة، وهناك عدة انواع من هذه الذيفانات هي (C,B,A,D,E). [(Noble et. al, 1998),(Amagai et. al, 2000),(Al-Sulami et. al, 2001)]

تنتج بكتريا المكورات العنقودية الذهبية نوعين من الانزيمات ومن هذه الانزيمات هي:

1) الانزيم المخثر للبلازما Coagulase: يفرز الانزيم المخثر للبلازما من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية والذي يعتبر من الصفات التشخيصية لهذه البكتريا [(Leminor et. al, 1989),(Collee et. al, 1996),(Deepak et. al, 2000)]. ووجد ان هذا الانزيم يمتلك صفه مستضدية وهذا الانزيم هو بروتين قليل الكاربوهيدرات ويمتلك ميزة مهمة وهي قدرته على تثبيط عملية البلعمة ويساعد على تمركز البكتريا ضمن الانسجة المصابة [(Cruickshank et. al, 1974),(Madigan et. al, 1988),(Brooks et. al, 2001)]

وهذا الانزيم يوجد بنوعان:

1- الانزيم المخثر الحر Free Coagulase: يفرز هذا الانزيم خارج الخلية.
2- الانزيم المرتبط Bound Coagulase: يتم الكشف عن هذا الانزيم عن طريق فحص الشريحة [Collee et. al, 1996].

2) انزيم البيتالاكتاميز B-Lactamase: بكتريا المكورات العنقودية الذهبية تفرز هذا الانزيم بنسبة (90%) حيث يشكل هذا الانزيم (2%) من وزن الخلية الجافة [Murray et. al, 1999]. وقد وجد ان انتاج انزيمات البيتالاكتاميز من اهم الاليات التي تستطيع من خلالها بكتريا المكورات العنقودية الذهبية مقاومة البنسلينيات والسيفالوسبورينات وزيادة في انتاجها لانزيم البيتالاكتاميز تكون مترافقة بظهور مقاومة متعددة لمختلف انواع المضادات (مضادات البيتالاكتام) [Thomson et. al, 1995]. ومن خلال الدراسات تمكن Richmond من تصنيف هذه الانزيمات الى اربعة انماط (A,B,C,D) وان الاكثر شيوعا من هذه الاصناف هما (A,C) كما ذكر بان لهذين الصنفين الفعالية نفسها في تحليل حلقة البيتالاكتام للبنسلينات [Lyon et. al, 1987]. كما وجد ان هناك انزيمات اخرى تقوم بأنتاجها هذه البكتريا ومن هذه الانزيمات هي Hyaloridinase حيث يعمل هذا الانزيم على تحطيم حامض الهيالورتيك وكذلك Staphylococcus aureus هذا الانزيم يعمل على ازالة خثرة الليفين ويسهل انتشار الجرثومة [(Rose et. al, 1979),(Atlas et. al, 1995),(Collee et. al, 1996),(Humphreys et. al, 1997)].

ومن عوامل الضراوة الاخرى هي ذيفان تقشر الجلد. هذا الذيفان تنتجه بعض سلالات بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية حيث يعمل على فصل طبقات البشرة في اماكن الاصابة ويؤدي الى موتها. واظهرت بعض الدراسات التي اجريت من قبل الباحثين ووجدوا ان هناك انماط مصلية هي ETA و ETD و ETB وان الـ A وB فقط هي التي ترتبط بمتلازمة تقشر الجلد العنقودي [Amagai et. al, 2000].

الامراضية (Pathogenisity):

وجدت بكتريا او جرثومة المكورات العنقودية الذهبية انها من اكثر المكورات العنقودية في امراضيتها على الرغم من انها جزء من النبيت الطبيعي (Normal Flora) للجلد والانف والبلعوم [Tdar et. al, 2002]. واظهرت الدراسات بأن هذه الجرثومة المكورات العنقودية الذهبية لها القدرة على اصابة مختلف مناطق الجسم ولا يخلو أي عضو أو جزء من جسم الانسان الا وان يكون معرض للاصابة بهذه الجرثومة [Carpenter et. al, 1977]. وكذلك لها دور في التهاب الاذن الخارجية والوسطى والتهاب الجيوب الانفية [Scotts Brown et. al, 1997]. وايضاً تصيب جرثومة المكورات العنقودية الذهبية العين والحنجرة وكذلك المعدة، وتسبب هذه المكورات امراض اكثر خطورة عندما تدخل مجرى الدم مثل التهاب الجيوب الانفية [Collee et. al, 1996]. وكما وجد بأن هذه الجرثومة لها القدرة على احداث اخماج انتهازية وتحدث هذه الاخماج عند توفر الظروف المناسبة لها كأصابة الجلد بالجروح والخدوش والحروق او حدوث خلل في دفاعات المضيف [(Levinson et. al, 2000),(Noble et. al, 1981),(Melish et. al, 1992),(Suzuki et. al, 1997)].

وبعد التوسع في الدراسة والتحري عن هذه البكتريا اظهرت هذه الدراسات بأن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية تسبب التهاب اللوزتين هذا الالتهاب يحدث بصورة مفاجئة وتظهر فيه اعراض وهي ارتفاع درجة الحرارة وتورم اللوزتين وكذلك ينتج عن هذا النوع من الالتهابات مضاعفات والتي تؤدي الى التهاب البلعوم والتهاب الجيوب الانفية [(Ross et. al, 1985),(Jollt et. al, 1981)]. وتسبب هذه البكتريا التهاب جلدي حاد (الدمامل) وتظهر هذه الدمامل على شكل عقدة وتكون مؤلمة محمرة حيث تزداد في الحجم مسببة تحلل الانسجة داخلها [(Levinson et. al, 2000),(Hunter et. al, 1999)]. والمناطق التي تصيبها هي منطقة خلف الرقبة وتحت الابطين والوجه وسبب حدوث هذا المرض هو دخول الجرثومة من خلال الخدش الذي في الجلد نتيجة الاحتكاك والتعرق والحلاقة. كما وجد انها تسبب التهابات اخرى في جريبات الشعر وهذه الالتهابات تحدث في الذكور اكثر منها في الاناث وخصوصا بعد سن البلوغ [(Odom et. al, 2000),(Turbo et. al, 1997),(Champion et. al, 1998)]. ومن المسببات الاخرى لهذه البكتريا هو

الاصابة بالحصف الذي هو خمج جلدي تسببه المكورات العنقودية الذهبية، ووجد ان هذا الحصف من الامراض المعدية وينتقل عن طريق الملامسة ويصيب هذا المرض الجلد في اي مكان او أي منطقة من الجسم وتكون بشكل نقط [Todar et. al, 2002]. يعتبر النقل الانفي للمكورات العنقودية الذهبية من بين مقدمي الاغذية العاملين في المطاعم والكافتريات المصدر الرئيسي لتلوث الطعام والغذاء، لذلك فهو يسمم الطعام بالمكورات العنقودية نتيجة لابتلاع امراض هامة من الاغذية التي تحتوي على السموم المعويه التي تنتجها بعض انواع المكورات العنقودية حيث تسبب الاسهال والتقيح البطني والغثيان [Vday Abdul et. al, 2017].

الوبائية (Epidemiology):

تستعمر المكورات العنقودية الذهبية بصورة طبيعية الجلد والسطوح المخاطية وتحدث الاصابة عن طريق انتقال السلالات المستعمرة الى المواقع الخالية من البكتريا اثناء حدوث خدش او جرح او تآكل للجلد وتستطيع المكورات العنقودية الانتقال من شخص الى آخر عن طريق الخدوش او الجروح الحاصلة في الجسم [Bett et. al, 1998]. ان المصدر الرئيسي للاصابة بالمكورات العنقودية الذهبية هو اصابة القناة التنفسية والجلد وايضاً تنتقل بواسطة الجراح الذي يقوم باجراء العملية [(Brooks et. al, 1998),(Williams et. al, 1968)].

تستعمر هذه البكتريا بشكل طبيعي الاغشية المخاطية من الاجزاء الامامية للمنخرين حيث ان حوالي (10-50 %) من الناس يحملون المكورات العنقودية الذهبية، ويشكل الحمل الانفي لهذه البكتريا عامل خطورة مهم لاحداث عدوى العنقوديات، حيث وجد ان حوالي 80% من العزلات الممرضة اصلها من الانف ، وعملية علاج الاستعمار الانفي لهذه البكتريا يعتبر وسيلة فعالة لايقاف العدوى بهذه البكتريا خصوصا بعد اجراء العمليات الجراحية وغسيل الكلى [Vday Abdul et. al, 2017].

اظهرت الدراسات ان السلالات الممرضة للانسان هي اغلبها الموجبة لفحص Coagulase، وكذلك يكون الانتقال عن طريق التماس المباشر او بواسطة الغبار او الهواء الملوث، واكثر الاصابات هي تلك التي تحدث في المستشفيات نتيجة التلوث الناتج من تلوث الاسرة او الغبار الذي يتكون بعد التنظيف مسبباً تلوث للجرح [Chopra et. al, 1985]. ان الاسباب التي جعلت المكورات العنقودية الذهبية اكثر وبائاً هو قدرتها على العيش في ظروف مختلفة كقدرتها على العيش في القيح والجفاف ومقاومتها العالية للمطهرات [Joklik et. al, 1984].

ومن خلال الدراسات المتعددة التي اجراها الباحثون وجد ان المكورات العنقودية الذهبية لها القدرة على احداث الامراضية لانها مكورات منتجة للسموم المعوية وتهاجم الدم مسببة تعفن الدم وتعد من مسببات التهاب المجاري البولية والدمامل والتهاب الجروح [Vday Abdul et. al, 2017].

وكذلك اظهرت الدراسات انه عندما يتعرض الانسان لامراض اخرى او الى ضعف المناعة تصبح هذه الجراثيم انتهازية لها القابلية على اصابة الانسان المعدي أي ان بكتريا Staphylococcus aureus تصبح سائدة في هذا المرض [Higaki et. al, 1999]. ووجد ان سبب سيادة المكورات العنقودية الذهبية كونها تشكل النبيت الطبيعي للجسم ولا سيما على الجلد ومقدمة المنخرين.

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

المواد وطرق العمل Materials and Methods:

(1-1) الاجهزة والادوات والمواد المختبرية Apparatus Equipment and Laboratory Materiais:

1- حاظنة Incubator.
2- مؤصده Autoclav .
3- حمام مائي Water Bath.
4- فرن كهربائي Oven.
5- ميزان حساس Sensitive Belame.
6- مجهر ضوئي Light Microscope.
7- ماصة Pipetta.
8- مسخن حراري Hot Plat and Stir.
9- منبذة Centvifuge.
10- جهاز قياس الحموضة PH-Meter .
11- مسحات قطنية Cotton Swaps.
12- ثلاجة Refrigerator.
13- اطباق بتري Petridishes.
14- لوب Loop.
15- زجاجي Flask.
16- كحول لتعقيم الاجهزة والاسطح في المختبر.

(1-2) الاوساط الزرعية والكواشف والصبغات:

1- **وسط المرق المغذي Nutrient Bvoth (NB):** يستعمل هذا الوسط لتنمية العزلات البكتيرية وتنشيطها.
2- **وسط اكار المانيتول الملحي Mannitol Salt Agar (MSA):** يستعمل هذا الوسط في عزل البكتيريا وكذلك يستعمل في التشخيص لتنمية هذه البكتيريا.
3- **وسط الاكار المغذي Nutrient Agar (NA):** يستعمل هذا الوسط في حفظ العزلات.

4- **وسط اكار الدم Blood Agar:** استعمل هذا الوسط لمعرفة قابلية البكتيريا على تحليل الدم ومعرفة نوع التحليل.

5- **كاشف الكاتليز Catalase reagent:** استعمل للتحري عن قابلية البكتيريا على انتاج انزيم الكاتليز. استخدم الكاشف جاهزا.

6- **صبغة كرام Gram stain:** استعملت لصبغة العزلات البكتيرية لدراسة تفاعل الخلايا مع الصبغة ومعرفة خصائصها المضهرية. استخدمت الصبغة جاهزة.

تحضير الاوساط الزرعية:

1- بعد تعقيم جميع السطوح في المختبر حضرت جميع الاوساط الزرعية، ثم عقمت هذه الاوساط بالمؤصده Auto calve بدرجة حرارة 121مْ وضغط 15 باوند/انج ولمدة 15 دقيقة .

2- بعد تعقيم بـ Auto calve نترك الوسط يبرد لدرجة 45مْ، ثم نقوم بصب الاطباق في داخل الـ Hood حتى لايحصل تلوث. اما بالنسبة لوسط اكار الدم فبعد ان يبرد الوسط الاساس Blood Agar Base يضاف الدم بنسبة 5%. وبعد تصلب الوسط في الاطباق تقلب الاطباق وتوضع في الحاضنه للتأكد من خلوها من التلوث ثم تحفظ في اليوم الثاني في الثلاجة Refrigerator الى حين استعمالها.

(1-3) جمع العينات:

شملت هذه الدراسة (80) شخص من الطلبة والعاملين في النادي الطلابي لكلية العلوم جامعة القادسية. حيث تم جمع ثلاث عينات من كل شخص ومن كلا الجنسين (ذكور واناث) تراوحت اعمارهم من (20-24) سنة والاماكن التي اخذت منها العينات هي الانف والجلد والاذن واستعملت في عملية جمع العينات مسحة قطنية معقمة Swabs حيث دورت هذه في الثقب الامامي للانف وتدور ايضاً في الاذن والجلد لمدة (5) ثواني بعد غمرها بالمحلول الملحي الفسيولوجي المعقم ثم نقوم بأعادة هذه المسحات الى المختبر وبفترة زمنية قليلة حتى لا تتلف تلك العينات.

(1-4) الزرع المختبرى Culturing:

زرعت العينات التي تم جمعها وبالقرب من النار في Hood بطريقة التخطيط على وسط الاكار المغذي Nutrient Agar ووسط اكار المانيتول الملحي Mannitol Salt Agar ثم حضنت الاطباق في الحاضنه بدرجة 37مْ لمدة (24-48) ساعة بعد فترة الحضانة تم فحص الاطباق حيث اهملت جميع الاطباق التي

ظهرت فيها مستعمرات بلون وردي او احمر في حين اختير فقط المستعمرات التي ظهرت بلون اصفر (والذي يدل على تخميرها سكر Mannitol).

(1-5) التشخيص Diagnosis:

تم تشخيص العزلات البكتيرية المستحصل عليها بالاعتماد على [Macfaddin et. al ., 2000: Braon et. al, 1994].

(1-6) الخصائص المظهرية والزرعية Morphological and Culture Characteristic:

تم دراسة الخصائص المظهرية للنموات البكتيرية من خلال ملاحظة شكل المستعمرات وخصائصها كاللون والقطر وشكل الحواف والنمو او عدم النمو على على وسط اغار المانيتول الملحي.

(1-7)الاختبارات البايو كيميائية Biochemical Tests:

1- **اختبار الكاتليز Catalase Test:** تم وضع قطرة من (3%) محلول بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) على سطح شريحة زجاجية نظيفة، ثم نقلت كمية قليلة من النمو البكتيري النقي المزروع على الوسط المغذي الصلب بعمر (18-24) ساعة بأستعمال اعواد خشبية ووضعت في المحلول.

2- **اختبار التجلط Coagulase Test:** نميت البكتيريا المراد اختبارها في وسط المرق المغذي وحضنت بدرجة حرارة 37مْ لمدة (24) ساعة، ثم نقل (0.1) مل من هذا المزروع الى انبوب اختبار نظيف ومعقم واضيف اليه (0.5) مل من بلازما انسان او ارنب غير مخفف، وضع (0.1) مل من المرق المغذي غير المزروع في انبوب اخر واظيفت اليه (0.5) مل من بلازما انسان او ارنب واستعمل كسيطرة، حضنت الانابيب بدرجة حرارة 37مْ لمدة (4) ساعات في حمام مائي Water Bath (مع مراعات فحص الانابيب لكل ساعة لملاحظة الخثرة لانها قد تتحلل مرة اخرى عند تكوينها) وترك الانبوب ذو النتيجة السالبة في درجة حرارة الغرفة مدة ليلة كاملة لملاحظة البكتيريا المنتجة للخثرة ببطئ [Macfaddin et. al, 2000].

3- **النمو على وسط اغار المانيتول الملحي Growth on Mannitol Salt Agar:** خطط وسط اكار المانيتول الملحي بالمزروع البكتيري المراد اختباره ثم حضن بدرجة حرارة 37مْ لمدة (24-48) ساعة، ان تحول لون الوسطى الى الاصفر يدل على النتيجة الموجبة التي تشير الى تخمر سكر المانيتول استعمل هذه الوسط لتشخيص بكتيريا Staphylococcus aureus [Macfaddin et. al, 2000].

4- **انتاج الهيمولايسين Haemolysin production:** خطط وسط اكار الدم بالمزروع البكتيري ثم اختباره ثم حضن بدرجة حرارة 37مْ لمدة (24-48) ساعة، تلاحظ منطقة التحلل حول المستعمرات لتحديد انتاجها للهيمولايسين [Macfaddin et. al, 2000].

الفصل الرابع

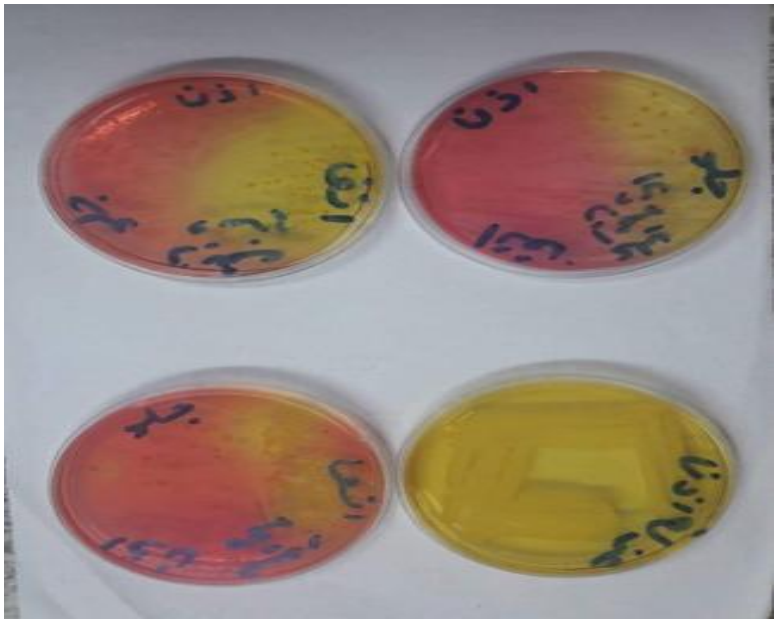
النتائج والمناقشة

النتائج والمناقشة:

اظهرت نتائج الفحص الزرعي بأن هذه البكتيريا كونت مستعمرات دائرية لماعه غير شفافة ذات لون اصفر ذهبي او برتقالي على وسط الاغار المغذي، انتجت مناطق حل الدم نمط بيتا على وسط اغار الدم وان العزلات جميعها كانت مخمرة لسكر الماتيتول على وسط اغار الماتيتول الملحي، نمت في ظروف هوائية. واظهرت نتائج الفحص المجهري بان هذه البكتريا مكورات موجبة لصبغة كرام كانت في بعض الاحيان بشكل مفرد او سلاسل قصيرة ذات عناقيد غير منتظمة وغير مكونة للابواغ. اما نتائج الاختبارات البايوكيميائية فقد اثبتت ان هذه البكتريا منتجة لانزيم الكاتليز وانزيم التجلط . وقد اتفقت هذه الصفات مع الوصف النظامي لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية Baron et. al, 1994:Macfaddin et. al, 2000: Holt et. al, 1994.

جدول (1) الاختبارات المستخدمة في تشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

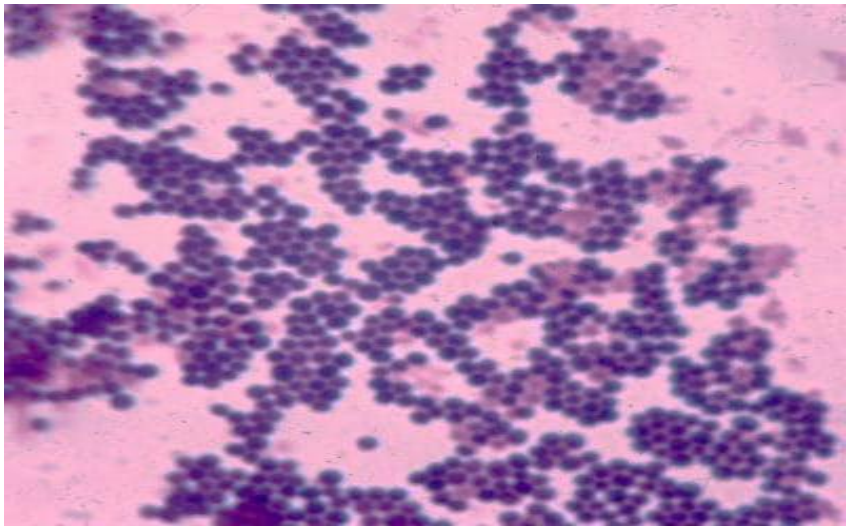
الاختبارات	Staphylococcus aureus
1- النمو على وسط اغار المانيتول الملحي.	+
2- انتاج الهيمولايسين	
3- انتاج الكاتليز	+
4- انتاج انزيم التجلط	+



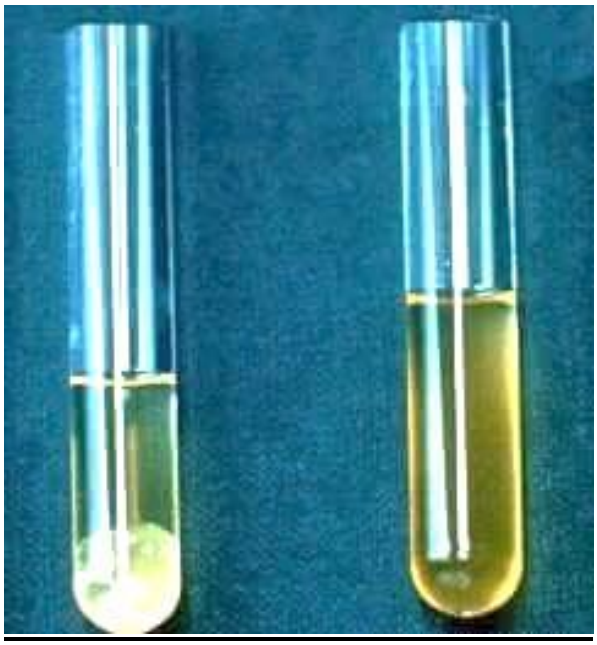
شكل (1): يوضح بكتيريا *Staphylococcus aureus* الناميه على وسط Mannitol Salt Agar المعزولة من اماكن مختلفة.

شكل (2): يوضح بكتيريا *Staphylococcus aureus* الناميه على وسط Mannitol Salt Agar .

شكل (3):يوضح انتاج الهيمولايسين نوع بيتا من بكتريا *Staphylococcus aureus*



شكل (4): يبين خلايا بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus المصبغة بصبغة غرام تحت العدسة الزيتية.



Positive Negative

الشكل (5): يوضح انتاج انزيم التجلط من بكتيريا *Staphylococcus aureus*

وجد في هذه الدراسة ان نسبة الحمل الانفي لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية اكبر من نسبة حمل هذه البكتريا على الجلد والاذن وكما موضح في جدول (2). وهذا يتفق مع الكثير من الدراسات التي تشير الى ان الموقع الرئيسي لاستعمار بكتريا المكورات العنقودية الذهبية عند الاطفال والبالغين هو المنخر الامامي وان ايقاف استعمار هذه البكتريا للانف يحد من استعمارها و اصابتها لمواقع الجسم المختلفة (جاسم وجماعته، 2012). كذلك سبب سيادة بكتيريا المكورات العنقودية كونها شكلت النبيت الطبيعي للجسم ولا سيما مقدمة المنخرين والجلد اذ تحمل هذه البكتيريا بنسبة (20-30%) في خيشوم الاصحاء الذين يشكلون اهم واخطر مصدر مسبب للاصابة فضلاً عن قابلية هذه البكتيريا لمقاومة الجفاف، وقدرتها على الانتشار عن طريق الهواء[Dowell et. al, 2001]. اما الاذن فيعود وجود المكورات العنقودية في الاذن هو كثرة الافرازات الدهنية وهوما يؤدي الى حدوث تلوث في الاذن[الرماحي 2002].

جدول (2): يوضح العدد والنسبة المئوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من طلبة والعاملين في النادي الطلابي

موقع عزل العينات	العدد الكلي	العينات الموجبة	النسبة المئوية
الانف	80	16	%20
الاذن	80	12	%15
الجلد	80	11	%14
المجموع	240	39	%16

من مجموع (80) شخص اخذت منهم عزلات الانف والاذن والجلد تم الحصول على (39) عزلة فقط تعود لبكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وفقاً لنتائج الاختبارات التشخيصية. وكانت نسبة الحمل الجرثومي عند العاملين في النادي الطلابي اكبر من نسبة الحمل لدى الطلبة. ان المشاكل الصحية الرئيسية في العالم تحدث بشكل رئيسي في البلدان النامية بسبب قلة النظافة واهمال الاحتياطات الصحية، ويعتبر العاملين في مجال الاغذية وخاصةً العاملين في المطاعم والكافتريات المصادر الرئيسية للتسمم الغذائي بالعنقوديات الذهبية لانها تلوث الاطعمة بأيديهم مع بكتيريا *Staphylococcus aureus* وخاصةً المقاومة للمضاد الحيوي Vancomycin والتي يتم حملها في تجاويف الانف، وان العلاج من العدوى صعب بسبب المقاومة العالية لهذه البكتيريا لاغلب المضادات الحيوية، وفي دراسة سابقة وجد ان من بين (69) عزلة كانت (48) عزلة فقط تعود الى المكورات العنقودية الذهبية. ويعزى هذا الى الاختلاف في الفترة الزمنية التي جمعت فيها العينات اضافة الى اختلاف التقنيات الزرعية المستخدمة او اختلاف العينة المدروسة من المجتمع [Vday Abdul et. al, 2017]. وفي هذه الدراسة وجد ان نسبة العزل لدى الذكور اكبر من الاناث لانه عمال المطاعم جميعهم ذكور رغم ان الفرق بين نسب العزل كانت غير معنوية. في دراسات اخرى لم تحدد علاقة بين جنس الحامل لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية ونسبة الحمل(جاسم وجماعته، 2012).

جدول (3): يوضح العدد والنسبة المئوية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من طلبة والعاملين في النادي الطلابي لكلية العلوم .

جنس الحاملين / نوع الحاملين	ذكور		اناث		الكلي	
	كلي	عينات موجبة	كلي	عينات موجبة		عينات موجبة
الطلبة	18	5	15	7	33	12 (%37)
العاملين	47	27	0	0	47	27 (%57)
الكلي	65	32 (%50)	15	7 (%47)	80	39 (%49)

ووجدت هذه الدراسة ان نسبة الحمل الجرثومي عند الاشخاص المصابين بامراض مزمنة (داء السكري وامراض الحساسية) والاشخاص المتناولين لمضادات حياتية كانت اكبر من نسبة عزلها من الاشخاص الاصحاء وكما مبين في جدول 4و جدول 5. على الرغم من ان بعض الدراسات اعزت نسب العزل القليلة لتناول الاشخاص المضادات الحياتية (Hussein, 2017).

على الرغم من توفر الكثير من المعلومات حول عوامل ضراوة بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وقابليتها على الاستعمار لكن لم تحدد لحد الان لماذا يكون بعض الاشخاص حاملين مزمنين لهذه البكتريا والاخرين يحملون البكتريا لفترة محدودة في حين يصنف الاخرين على انهم غير حاملين، حيث يشكل الحامل المزمن عامل خطورة لاحداث العدوى بهذه البكتريا فضلا عن نقل هذه العدوى الى المجتمع.

جدول (4): يوضح العدد والنسبة المئوية للمكورات العنقودية المعزولة من الاشخاص المصابين بأمراض مزمنة وغير المصابين.

الحالة الصحية	العدد الكلي	العينات الموجبة	النسبة المئوية
مصابين بأمراض مزمنة	7	4	%57
غير مصابين بأمراض مزمنة	73	35	%48
المجموع	80	39	%49

جدول (5): يوضح العدد والنسبة المئوية للمكورات العنقودية المعزولة من الاشخاص المتناولين للمضادات الحياتية وغير المتناولين.

طبيعة الاشخاص	العدد الكلي	العينات الموجبة	النسبة
متناولين للمضادات الحياتية	6	5	%83
غير متناولين للمضادات الحياتية	74	34	%46
المجموع	80	39	%49

الاستنتاجات

نستنتج من الدراسة الحالية ما يلي:

1- عزلت بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بنسبة 16%.

2- ان نسبة الحمل الانفي لهذه البكتريا اكثر من نسبة حملها على الجلد والاذن.

3- ان نسبة الحمل الجرثومي ببكتريا المكورات العنقودية الذهبية عند العاملين في النادي الطلابي اكثر من نسبة الحاملين الطلبة .

4- الحمل الجرثومي للذكور اكثر من الاناث.

5- الحمل الجرثومي لهذه البكتريا اعلى عند الاشخاص المصابين بامراض مزمنة والذين يتناولون مضادات حياتية مقارنة بالاشخاص الاصحاء وغير المتناولين للمضادات الحياتية.

التوصيات

Recommendations

1- دراسة مقامة البكتيريا المعزولة من الانف والجلد والاذن للمضادات الحيوية وخاصة الفانكومايسين والميثيسيلين.

2- محاولة عزل بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية من مصادر مختلفة (بيئية ، غذائية) وخصوصا حالات التسمم الغذائي بالمكورات العنقودية الذهبية واجراء مقارنة لعوامل الضراوة التي تمتلكها مع عوامل الضراوة للبكتيريا المعزولة من الحاملين الاصحاء.

المصادر

1) AL-Sulami, A. A.; AL-Rubiay K. K. & Affat, A. M. (2001). An inhibitor of Staphylococcus aureus exfoliative Toxin. Eastern Mediterranean Health-dournal, 7:35-36.

2) Amagai, M.; Matsuyoshi, N.; Wang, Z. H., Andel, C. & Stanley, R. (2000). Toxin inbullous impetigo & Staphylococca Sculded. Skin Syndrome Targetes desmoglein 1. Nature Medicine. 6: 10-11.

3) Atlas, R. M. (1995). Laboratory manual of experimental Microbiology. Mosby. Year Book, Inc., USA.

4) Baron, E. J.; Deterson, L. R. Finegoldo S. M. (1994) Bailey Scoffs Diagnostic Micobiology. 9th ed. The C. V. Mosby., USA.

5) Bett, A.F; Saham, D. F; Weissfeld, A. (1998). Diagnostic Microbiology. 10th mosby. Jawtze.

6) Brooks, G. F.; Butel, J. S. & Morse S. A. (2001). Jawetz, Melnick, Adelberg's Medical Microbiology.

7) Brooks G. F; Butel, J. s. & Morse. S. A. (1998). Dawelz, Melink & Adelberg's Medical Microbiology. 21st ed. Appleton & lany, Asino & Schuster Co. California.

8) Brooks, G. F.; Butel, S. & Morse, S. A. (2001). Jawetz, Melinck & Adelberg's Medical Microbiology. 22ed A Division of the Me Graw. Hill Companies.

9) Callee, J. G.; Fraser A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A. (1996). Macking and Me Carteny "Practical Medical Microbiology" 14th ed, Churchill Living Ston, New York.

10) Carpenter, P. L. (1977). " Microbiology". 4th ed, W. B. Saunders Company, Philadelphia.

11) Champion, R. H.; Burton, J. L.; Burns, D. A & Breathnach, S. M. (1998). Rook/ WILKN so NIEBLING, Text book of Dermatology. 6th ed. Black well Science.

12) Chopra; H. L. (1985). A text book of Medical Microbiology. 1st ed. Seema Publications, Delh.

13) Collee, J. G.; Fraser A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A. (1996). Macking and Me Carteny " Practical Medical Microbiology" 14th ed. Churchill Living Ston, Fnc., New York.

14) Cruickshank, R.; Duguid, J. P; Morrnion, B, Swain, R. H. A(1974) Medical Microbiology. 20th ed., vol. 1 Churchill living Ston, London.

15) Davis, B. D., Dulbecco.; Eisen, H. N. & Ginsbery, H.S (1990) Microbiology. 4th ed., d. B. lippincott Co. London.

16) Deepak, S.; Samant S. A. & urhekar A. D., (2000). Study of coagulase positive & negative Staphylococci inclincal Sumples. Indian. J., Med. Scl., 53: 425-8.

17) Dowell, E. B. & James, J. F. (2001). Speciation of Coagulase Negative Staphylococci, Contagious Comments Department of Epidemiology The children's Hospital Association Is: 102-104.

18) Gill SR, founts DE & Archer GI. (2005). Microbial Gemonics, The Intitute for Genomic Research, 9712 Medical Center Dr., Rockville, MD 20850, USA.

19) Higaki, S.; Morohash.; M.; Yamagishi, T. and Hasegawa, T. (1999). Comparative Study of Staphylococci from th Skin of atopic Dermatitis Patients and from.

20) Holt J. G.; Krieg. N. R.; Sneath, P. H. A; Staley G. T. and Williams, S. T. (1994). Bergey's Manual of determinative baclerology. 9th ed. Baltmore, Williams and wilkins company, USA. PP: 175-181.

21) Hoffman, H., (1982) Staphylococci in No He W. A.; (ed); Oral Microbiology & immunology. 263-287. C. V. Moshy Compeny. London.

22) Humphreys, H. (1997). Staphylococcus: Skin infection: Osteomylitis food Poisoning, Foreign body infections Medical Microbiology. 5th ed., Churchil Living Ston, USA.

23) Hunter, J. A. A.; Savin, J. A & Dahl, M. V., (1999). Clinical Dermatology. 2 ed Blak well Science New York. 161-166.

24) Hussein, U. A.R (2017). Evaluation of antibacterial activity of cinnamon and ginger extracts against vancomycin-resistant Staphylococcus aureus isolated from nose of food handlers in restaurants and cafeterias. Thi-Qar Medical Journal : Vol.(14), No.(2).

25) Jollt, Hough. (1981). Diseases of Children. 4th ed. ELBS and Blackwall Scientific Publication, Oxford.

26) Koneman, E. W.; Allen S. D.; Janda, W. M.; Schreekenborger, P. C. and winn, W. C. (1992). Color Atlas and ltext book of diagnostic Microbiology. 4th ed. D. B. Lippincott Company, Washington.

27) Leminor & Veron, M, (1989). Bacteriology Medical. 2nd ed., Flammation, Paris. Cit ed. By Ja'a Be. Alah S. M. F (1999).

28) Levinson, W. & Jawetz, E. (2000). Medical Microbiology & Immunology. Examination. Board Review. 6th ed, Me Graw. Hill, International Editions. Health Professions series.

29) Lyon, B. R. & Shurray, R. (1987). Antimicrobial resistance of Staphylococcus aureuse: Gentics. Microbiol. Rev. 51: 88-134.

30) Macfaddin, J. F. (2000). Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria. The Williams & Wilkins Co., USA.

31) Madigan, M. T., (1988). Biology of Micvoorganisms. 5th ed. Prentice-Hall, Inc., New Jersey.

32) Matin R.Adams and Maurice O.Moss.(2008). Food Microbiology. The Royal Society of chemistry.3th.pp.254.

33) Melish, M. E. (1992). Staphylococcus infection. In Feigiu, R. D. & Cherry, J. D., (ed): Test book of Pediatric infections diseases, 3rd. ed. Vol. 2. W. B. Saunders Philadephia.

34) Murray, P. R.; Baron E. J.; F. C., & yolken R. H., (1999): Manual of Clinical Microbiology. 7th American Society for Microbiology ASM Press. Washington. D. C.

35) Noble, W. C.; Path, F. R. and Biol, F. I. (1981). Noble and Somerville "Microbiology of human Skin". 2nd ed. LLOYD-LUKE (Medical Books) LTD. London.

36) Noble, W. C. (1998) Skin bacteriology & the role of staphylococcus aureus in infection Br. J Dermatology, 139. Suppl. 53: 9-12.

37) Novak, F. R.; Dasilva, A. V. Hagler, A. N. and Figueiredo, A. M. S., (2000) Contamination of Expressed human breast Milk with an epidemic Multivesistant Staphylococcus aureus Clone. J. Microbiol. 49: 1109-1117.

38) Nsofor C, Nwokenkwo VN, Nwaokpa C (2015) Nasal Carriage of Staphylococcus Aureus among Apparently Healthy School Children in Owerri Metropolis, Nigeria. MOJ Cell Sci Rep 2(5): 00038. DOI: 10.15406/mojcsr.2015.02.00038

39) Odom, R. B.; James, W. D & Berger, T. G. (2000). Andrew's Diseases of the skin Clincal dermatology. 9th ed., W. B. Saunders Company New York.

40) Rose, A. H. (1979). Secondary Products of Metabolism. Vol. 3, Academic Press Inc. London.

41) Ross, K. (1985). The diagnostic Value of Symptoms and Signs acute tonsilitisin Children Over age 10 and adults. Scand J. Infected Dis, 17: 295-267.

42) Scotts Brown's, Otolaryngology, Otology (1997). Edited by Michael Gleeon 6th ed. Vol. 5.

43) Slobodnikova, L.; Kotulove D. Zahradinikova I. (1996). Staphylococcus aureus inchronic & recurrent infection folia Microbiol-Praha 40: 655-8.

44) Suzuki; Komatsuzawu, H.; Sngai; Suzuki, Kozai, K.; Miyake, Y. Suginaka. H. & Nagasaka, N. (1997). Along. Termsarvey of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus in the oral Cavity of Childern. Microbiol. Immunol., 41: 681-686.

45) Todar, K. (2002). Staphylococcus J. Med. Microbiol, 1-9.

46) Thomson, K. S. (1995). B. lactamase: New Challenges the Clinical Iaboratory in Fection Diseases in Clinical Practice. Am. J. Med. 3(6): 436-471.

47) Talaro k. Talaro. A. (1996). Microbiology Basic principles 2nd ed. WMC Brown publishers Printed in The unitedstates of America by Times mirror Higher Eduction group. Murray, P. R.; Baron. E. J.; Tenover, & Yolken F. C, Rolken R. H., (1999). Monual of Clinical Microbiology. ASM press. Washington D. C.

48) Todar, K. (2002). Staphylococcus. J. Microbiol, 1-9.

49) Tortora G. J. Funke B. R. and Casec. L., " Microbiology an introduction" 8th Ed., New York. U.S.A., 2004.

50) Turbo, R. B.; AL-Hacker, S. M and Roaten, S. P. (1997). Today's Strategies for bacterial Skin infection Patient Care. J., 31(6): 78-94.

51) Williams, R. E. (1968). Health Carriage of ataphylococcus aureus; Its Prevalence and Importance. Bacteriol. Rev. 27: 56-71.

52) Von, E. C.; Proctor R. A.; Peters, G (2000). Staphylococcus aureus small Colony Varints. Formation & Clinical impact Int. J., Clin-Pract-Suppl. 44-49.

53) الرماحي، سيوف خومان علوان (2002) عزل وتشخيص بعض البكتيريا الهوائية المسببة لالتهاب الاذن الوسطى وحساسيتها لبعض المضادات الحياتية في مدينة القادسية. رسالة ماجستير. كلية التربية جامعة القادسية.

54) جاسم، امنة نصيف، عبد، هدى سهيل وعبد، شيماء عواد(2012) الحمل الانفي للعنقوديات الذهبية المقاومة للميثيسيلين (MRSA) Methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus* في الطلاب الجامعيين الاصحاء. مجلة جامعة النهرين. 15(4).