جامعة القادسية
كلية العلوم
قسم البيئة

عزل وتشخيص البكتريا المتواجدة على الاجهزة النقالة لدى الاشخاص المتواجدين في جامعة القادسية

بحث مقدم إلى قسم البيئة – كلية العلوم - جامعة القادسية
وهو جزء من متطلبات نيل درجة البكالوريوس
في علوم البيئة

من قبل

سامر سمير مهدي حسين

إشراف
م. ثائر عبد دعيشيش

نيسان ـ 2019

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ وَيَسْـَٔلُونَكَ عَنِ ٱلرُّوحِ ۖ قُلِ ٱلرُّوحُ مِنْ أَمْرِ رَبِّى وَمَآ أُوتِيتُم مِّنَ ٱلْعِلْمِ إِلَّا قَلِيلًا ﴿٨٥﴾ ﴾

صدق الله العلي العظيم

سورة الإسراء

الآية : (85)

الإهداء

إلى من تعلمت على يديه حب العلم والتعلم

والدي

إلى رمز المحبة والحنان

والدتي

إلى سندي وأحبائي

أخوتي وأخواتي

أهدي ثمرة جهدي المتواضع.....

سامر

شكر و تقدير

الحمد لله رب العالمين وأفضل الصلاة والسلام على خير خلقه أجمعين محمدٍ وآله الطيبين الطاهرين.

إما بعد فإني أتقدم بخالص شكري وتقديري إلى أستاذي الفاضل المدرس **ثائر عبد دعيشيش** المشرف على بحثي لما قدمه لي من توجيهات سديدة ونصائح وإرشادات قيّمه خلال فترة الدراسة والبحث، ومساعدتي في توفير الكثير من مستلزمات البحث فجزآه الله عني خير الجزاء.

شكري وتقديري إلى عمادة كلية العلوم / جامعة القادسية ورئاسة وأساتذة قسم البيئة لرعايتهم الكريمة أثناء مدة دراستي في القسم.

ولا يفوتني أن أتقدم بالشكر والعرفان لجميع زملائي من طلبة المرحلة الرابعة – قسم البيئة لتوفيرهم جواً يسوده الاحترام والتفاهم والمودة.

وأخيراً أتقدم بالشكر الجزيل لكل من ساعدني في انجاز هذه البحث ولم تسنح الفرصة لذكره، وأسال الله أن يوفق الجميع.

سامر

الخلاصة

جمعت 80 عينة بصورة عشوائية من الاجهزة النقالة للأشخاص المتواجدين في جامعة القادسية، إذ تم اخذ العينات باستخدام مسحات رطبة معقمة Swab ومن اماكن مختلفة من الجامعة ومن شرائح مهنية مختلفة (أساتذة، موظفون، طلبة و عمال) وبواقع 20 عينة من كل شريحة و للمدة من 2018/11/25 إلى 2019/1/8.

أظهرت النتائج أن 71 عينة (88.75 %) كانت ملوثة بأنواع مختلفة من البكتريا، في حين كانت هناك 9 عينات (11.25 %) خالية من النمو البكتيري.

بينت النتائـــج ان الاجهزة النقالة ملوثة بـ 6 أنواع بكتيرية مختلفة، إذ احتلت بكتريا *Staphylococcus epidermidis* النسبة الأعلى 34.15 % (28 عزلة)، جاءت بعدها كل من بكتريا *Staphylococcus aureus* و بكتريا *Streptococcus* spp. بنسبة 21.95 % (18 عزلة)، ثم جاءت بعدها بكتريا *Bacillus* spp. بنسبة 15.85 % (13 عزلة)، كما تواجدت بكتريا *Escherichia coli* بنسبة 3.66 % (3 عزلات)، في حين كانت اقل نسبة تواجد تعود الى بكتريا *Pseudomonas* spp. وهي 2.44 % (2 عزلة).

كما اظهرت النتائج ان نسبة تواجد البكتريا على الاجهزة النقالة لدى شريحة العمال كانت هي الاعلى 34.15 %، في حين كانت اقل نسبة تواجد للبكتريا على الاجهزة النقالة للاساتذة 18.29 %، في حين كانت نسبة تواجد البكتريا على الاجهزة النقالة لشريحتي الموظفين والطلبة هي 20.73 % و 26.83 % وعلى التوالي.

المحتويات

الموضوع	التسلسل
المقدمة	2
الفصل الأول : استعراض المراجع	
1.2- بكتريا *Staphylococcus spp.*	4
2.2- بكتريا *Streptococcus* spp.	4
3.2- بكتريا *Bacillus* spp.	5
4.2- بكتريا *Escherichia coli*	6
5.2- بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*	6
الفصل الثاني : المواد و طرائق العمل	
1.3- الأجهزة والمواد	9
1.1.3- الأجهزة المستخدمة	9
2.1.3- المواد الكيميائية	9
3.1.3- الأوساط الزرعية	10
2.3- طرائق العمل Work methods	10
1.2.3- طرائق التعقيم	10
2.2.3 – تحضير المحاليل والكواشف والصبغات	11
1.2.2.3 – المحاليل Solutions	11
1.1.2.2.3- المحلول الملحي الفسلجي Normal Saline	11
2.2.2.3- الكواشف Reagents	11
1.2.2.2.3- كاشف الأوكسديز Oxidase Reagent	11
2.2.2.2.3- كاشف إنزيم الكاتليز Catalase Reagent	11
3.2.2.2.3- كاشف كوفاكس Kovac`s Reagent	11
4.2.2.2.3- كاشف فوكس بروسكاور Voges-Proskauer reagent	12
5.2.2.2.3- كاشف أحمر المثيل Methyl Red Reagent	12
3.2.3- الصبغات	12

الموضوع	التسلسل
4.2.3- تحضير الأوساط الزرعية	12
1.2.4.2.3- وسط أكار الدم Blood Agar Medium	13
2.2.4.2.3- وسط المثيل الأحمر – فوكس بروسكاور السائل MR-VP Broth Medium	13
3.2.4.2.3- وسط اختبار الحركة Motility test medium	13
5.2.3- جمع العينات Collection of samples	13
6.2.3- زراعة العينات	14
7.2.3- عزل وتشخيص البكتريا Isolation and Identification of Bacteria	14
1.7.2.3- الصفات الزرعية والفحص المجهري	14
2.7.2.3- الاختبارات الكيموحيوية Biochemical tests	14
1.2.7.2.3- اختبار إنزيم الأوكسديز Oxidase Test	14
2.2.7.2.3- اختبار إنتاج الكاتليز Catalase Test	14
3.2.7.2.3- اختبار إنتاج الأندول Indole Test	15
4.2.7.2.3- إختبار فوكس – بروسكاور وأحمر المثيل Voges Proskauer and Methyl Red Test	15
5.2.7.2.3- اختبار استهلاك السترات Citrate Utilization Test	15
6.2.7.2.3 - إختبار الحركة Motility Test	16
7.2.7.2.3- اختبار إنزيم مخثر البلازما بطريقة الأنبوب Tube Coagulase Test	16
8.2.7.2.3- النمو على أكار المانيتول الملحي Growth on Mannitol Salt Agar	16
8.2.3- حفظ وإدامة العزلات Storage and maintenance of isolates	16
9.2.3- التحليل الإحصائي	17
الفصل الثالث : النتائج و المناقشة	
1.4- العزل والتشخيص للعينات	19
1.1.4 - العزل	19
2.1.4- تشخيص العزلات البكتيرية	19
الاستنتاجات والتوصيات	
الاستنتاجات Conclusions	24
التوصيات Recommendations	25

الموضوع	التسلسل
المصادر	27

قائمــة بعناويــن الجداول

الرقم	العنـــوان	الصفحة
1-4	التلوث البكتيري للأجهزة النقالة	19
2-4	العزلات البكتيرية المعزولة من الاجهزة النقالة	20

قائمــة بعناويــن الاشكــال

الرقم	العنـــوان	الصفحة
1-4	النسبة المئوية للبكتريا الملوثة للأجهزة النقالة	21
2-4	النسبة المئوية لتواجد العزلات البكتيرية حسب الشريحة الاجتماعية	22

المقدمة

1- المقدمة : Introduction

أصبحت الهواتف النقالة مؤخرًا شائعة في جوانب الحياة اليومية في جميع أنحاء العالم ، والتي تتطلب اتصالًا بشريًا واسع النطاق. وعلى الرغم من أن الهواتف وسيلة اتصال مهمة إلا أن استخدامها على نطاق واسع يثير مخاوف تتعلق بالصحة العامة (Julian *et al.*, 2012).

فقد بينت العديد من الدراسات ان الهاتف النقال يعتبر اخطر من ارضية الحذاء ومن مقابض الابواب والمراحيض وذلك لما يحمله من بكتريا ضارة بناءاً على الاماكن التي قد يوضع فيها فقد يوضع على طاولة الطعام وفي جيوبنا واماكن العمل المختلفة وبالتالي يصبح حاملا للبكتريا التي قد تنتقل الى جسم الانسان دون وعي منه بذلك (Tagoe *et al.*, 2011). ان معظم البكتريا قد تنتقل من بشرتنا سواء من ايدينا او وجوهنا عند التحدث بالهاتف والتي قد تحدث اصابات بانواع مختلفة من البكتريا والتي اخطرها *Staphylococcus aureus* (Zakai *et al.*, 2016).

تمثل اليد عاملا مهماً في نقل الميكروبات من خلال تلامس اليد مع الاجسام الاخرى والتي تحمل العديد من الميكروبات مثل مقابض الابواب والكمبيوتر أو أي جسم آخر يحمل ميكروبات كذلك التصافح مع الآخرين كل هذه العوامل تمثل وسيلة لنقل الميكروبات الى اسطح الهواتف النقالة (Tagoe *et al.*, 2011).

ويكون المرضى في المستشفيات اكثر عرضة للإصابة بهذه البكتريا وان الاستعمال المستمر للهواتف من قبل الاطباء والممرضين وغيرهم من العاملين في مجال الرعاية الصحية، يشكل مصدر خطر لنقل الامراض بما في ذلك عائلة صاحب الهاتف نفسه. لتواجد الهواتف النقالة معنا طوال الوقت وبدون تنظيفها (Julian *et al.*, 2012).

ولكون الهواتف النقالة اكثر الممتلكات الشخصية التي يمتلكها العديد من الناس والتي تكون في متناولهم طوال الوقت ولإثبات أهمية الهواتف النقالة كأدوات محتملة لنقل البكتريا المرضية هدف البحث الى:

1. عزل وتشخيص بعض البكتريا المتواجدة على الهواتف النقالة.

2. التنبيه لمخاطر التلوث البكتيري للهواتف النقالة ورفع الوعي الصحي للناس حول الطرق السليمة للتعامل معها.

الفصل الاول

استعراض المراجع

2- استعراض المراجع Literature Review

1.2- بكتريا *Staphylococcus* spp.

ينتمي جنس المكورات العنقودية إلى عائلة Micrococcaceae ، وهي مكورات موجبة لصبغة غرام ، غير متحركة ، غير مكونة للسبورات ، تنمو بظروف هوائية ولا هوائية اختيارية وذات قطر يتراوح ما بين (0.5-1.5) مايكروميتر (Goldman and Green, 2009). تتجمع هذه البكتريا بشكل عناقيد وأن سبب هذا التجمع هو انقسامها بأكثر من مستوى وتبقى مرتبطة مع بعضها البعض ، ويمكن مشاهدتها على هيئة مكورات مفردة أو أزواج أو سلاسل قصيرة ولاسيما عند تنميتها في أوساط زرعيه سائلة (Jawetz *et al.*, 2004). تنمو على الأوساط الاعتيادية عند درجة حرارة 37مْ، تظهر المستعمرات دائرية رقيقة ولماعة يصل قطر المستعمرة 2–3 ملم، تنمو في مدى حراري (15–43) مْ، قادرة على تحمل تراكيز ملح NaCl تصل إلى 15% منتجة للصبغات الكاروتينية بتراكيز مختلفة يتراوح من الأصفر الذهبي إلى الأبيض اعتماداً على نوع السلالة وظروف النمو (Goldman and Green, 2009) .

يتضمن جنس العنقوديات ثلاثين نوعاً في الاقل ، منها ثلاثة انواع رئيسية ذات اهمية طبية وهي *Staph. aureus* ، *Staph. Epidermidis* و *Staph. saprophyticus* . ويتميز النوع *Staph. aureus* بإنتاجه للأنزيم المجلط للبلازما Coagulase لذا يمكن تفريقه عن النوعين الآخرين عند إجراء الاختبار الخاص بهذا الأنزيم (Goldman and Green, 2009) ، ويعد النوع *Staph. aureus* من اشد المكورات العنقودية امراضية فهو يمتلك قدرة كبيرة على إحداث الاخماج الانتهازية بالرغم من إنه غالباً ما يكون متعايش بصورة طبيعية في أجسام الحاملين له Carriers كالأنف والبلعوم والقناة الهضمية والتناسلية دون أن تظهر عليهم الأعراض المرضية للإصابة (الناصري ، 2002) .

2.2- بكتريا *Streptococcus* spp.

يعود هذا الجنس إلى عائلة Streptococcaceae وهي مكورات موجبة لصبغة غرام، سالبة لاختباري الكاتاليز Catalase والاوكسيديز Oxidase، تنمو بشكل أزواج أو سلاسل في المزارع السائلة واغلب أفرادها لا هوائية اختيارية Anaerobes Facultative (Koneman *et al.*, 1997). كما أنها غير متحركة، غير مكونة للابواغ وبعض أنواعها تمتلك المحفظة Capsule، وتقع بعض أفراد هذه المجموعة ضمن الفلورا الطبيعية للإنسان في حين البعض الآخر يرتبط ببعض الأمراض المهمة التي تصيب الإنسان، نموها ضعيف على

الأوساط الصلبة أو السائلة ما لم يتم إغناؤها بالدم أو السوائل النسيجية، فيتحدد نموها غالباً بدرجات حرارة تتراوح بين (25–45)مْ ودرجة الحرارة المثلى لها هي 37مْ (Brooks *et al*., 2001).

وضعت عدة تصنيفات للمسبحيات أقدمها التصنيف الذي وضعه Brown في عام 1919 الذي يعتمد على نوع تحلل الدم Haemolysis على أوساط آكار الدم الذي صنفت المسبحيات بموجبه إلى ثلاث مجاميع شملت المسبحيات الحالة للدم تحللاً تاماً (بيتا) β- haemolytic Streptococci وتتميز بظهور هالة شفافة ومحددة حول مستعمراتها مثل بكتريا *Streptococcus pyogenes* ، والمسبحيات الحالة للدم تحللاً جزئـــاً (الفا) α- haemolytic Streptococci وتتميز بمســتعمرات محاطة بهالة مخضرة مثـــل بكتريـــا *S. viridans* و *S. pneumoniae* والمسبحيات غير الحالـــة للدم (كاما) γ- haemolytic Streptococci مثـــل بكتريـــا *S. salivarius* (Ananthanarayan and Paniker, 1997).

3.2– بكتريا .*Bacillus* spp

ينتمي جنس Bacillus إلى عائلة Bacillccae ، ويتصف بخلايا عصوية الشكل، مستقيمة أو منحنية قليلاً و تظهر بشكل مفردة او أزواج وبعض مستعمراتها بشكل سلاسل وأحياناً تشبه الخيوط الطويلة، موجبة لصبغة غرام، مكونة للسبورات الداخلية، متحركة بوساطة الأسواط المحيطية peritrichous flagella أو غير متحركة، تنمو بظروف هوائية ولا هوائية اختيارية يتراوح قطرها ما بين (0.5–2) مايكروميتر. معظم أنواعها لا تحتاج إلى أوساط معقدة للنمو وتنمو على الأوساط الاعتيادية مثل الوسط المغذي الصلب Nutrient agar وآكار الدم Blood agar (Goldman and Green, 2009).

معظم أنواعها تنتج أنزيم الكاتاليز في حين تكون بعض أنواعها موجبة لإنتاج أنزيم الاوكسيديز والأخرى تكون سالبة له، غالباً ما تعزل هذه البكتريا من التربة وبعض البيئات الأخرى مثل الماء والغذاء والعينات الطبية ، تكون سبوراتها مقاومة للحرارة والأشعة والجفاف والمواد المطهرة ويعود سبب هذه المقاومة لاحتوائها على dipicolinic acid بنسبة % 15 - 5 من الوزن الجاف (Logan and DeVos, 2009).

4.2- بكتريا *Escherichia coli*

تنتمي هذه البكتريا ايضا إلى العائلة المعوية Enterobacteriaceae ، وهي عصيات سالبة الصبغة لكرام يبلغ طولها (2-3) مايكروميتر وعرضها 0.6 مايكروميتر غير مكونة للابواغ ، معظم السلالات متحركة وتمتلك اسواطا محيطية ، بعض العتر تكون محفظة وتكون مستعمرات مخاطية عندما تنمو على وسط حاوي على السكر بدرجة (18–20)°م. وهي جراثيم هوائية أو لا هوائية اختيارية تنمو على الاوساط الزرعية الاعتيادية بدرجة 37°م وتتمكن من النمو بدرجات حرارية تتراوح بين (18–44)°م (Colle *et al*., 1996) . المستعمرات على آكار الماكونكي تكون ملساء، لماعة وردية وعلى وسط اكار الدم تحاط المستعمرات الرمادية لبعض السلالات بنطاق من التحلل الدموي نوع الفا، كما تنتج ظاهرة البريق المعدني عند نموها على الوسط التفريقي Eosien Methylene Blue (EMB) اما النمو في الاوساط السائلة يكون عتمة متجانسة خلال 18 ساعة الاولى ثم يتكون راسب كثيف ، وتتميز جميع سلالات جراثيم *E. coli* بإنتاجها للاندول وتكون موجبة لاختبار المثيل الأحمر، سالبة لاختبار الفوكس بروسكاور والسترات ، غير منتجة لأنزيم اليوريز Urease ولا تميع الجيلاتين (Brooks *et al*., 2001) .

5.2- بكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

تقع هذه البكتريا ضمن عائلة Pseudomonadaceae، هي عصيات سالبة لصبغة غرام، هوائية مجبرة Obligatory aerobic تظهر الخلايا منفردة أو على هيئة أزواج أو سلاسل قصيرة، غير مكونة للسبورات ولا للكبسولة، متحركة بسوط قطبي واحد أو أكثر (Rehm , 2008)، موجبة لأنزيمي Oxidase و Catalase (Forbes *et al*., 1998)، كما تعمل على تحليل الجيلاتين، لا تنتج غاز H_2S وغير مخمرة لسكر اللاكتوز وبقية الكاربوهيدرات الاخرى اذ تستخدم الكلوكوز والكاربوهيدرات الاخرى بالأكسدة مثل Arabinose ، Melibiose ، Sucrose و mannitol (Holt *et al*., 1994)، كما انها تكون سالبة لاختبار المثيل الاحمر وفوكس بروسكاور ومتغيرة في اختبار السترات وتحلل الدم من نوع β-hemolytic على أطباق وسط آكار الدم (Rehm , 2008).

يمكن ان تنمو بكتريا الزوائف الزنجارية على الاوساط الزرعية الاساسية فتظهر المستعمرات على هذه الاوساط خشنة يقارب قطرها (3) مليمتر محاطة بحزام معدني Metallic Sheen ومن خواصها انها تبعث رائحة عفنة مميزة Mustyodor . فضلاً عن إنتاجها الصبغة

الزنجارية الخضراء المزرقة في الوسط الزرعي، التي هي عبارة عن صبغتي Pyocyanin الزنجارية وصبغة Fluorescin. اما على وسط الماكونكي MacConcky Agar والوسط المغذي Nutrient Agar فتكون مستعمرات شاحبة وذات صبغة خضراء ، وأفضل وسط زرعي لعزلها هو وسط الزوائف الانتخابي Pseudomonas Selective Agar (Govan *et al.*, 1993).

الفصل الثاني
المواد وطرائق العمل

3 - المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1.3- الأجهزة والمواد

1.1.3- الأجهزة المستخدمة

ت	اسم الجهـاز		المنشأ
1	غرفة الابخرة	Hood	Korea
2	مجهر ضوئي	Light microscope	Korea
	مازج دوار	Vortex mixer	Korea
3	فرن كهربائي	Electric Oven	Korea
4	حاضنة	Incubator	Korea
5	صفيحة ساخنة	Hot Plate	England
6	ميزان كهربائي حساس	Sensitive Electric balance	Switzerland
7	مقياس الأس الهيدروجيني	pH-meter	USA
8	ماصات دقيقة	Micropipettes	Germany
9	المعقم البخاري	Autoclave	Korea
10	جهاز طرد مركزي	Centrifuge	China
11	جهاز التقطير	Distillator	Italy
12	مرشحات غشائية	Millipore filter	Difco (England)

2.1.3- المواد الكيميائية

ت	اسم المـادة		الشركة المصنعة
1	أكار – أكار	Agar-Agar	BDH (England)
2	ألفا – نفثول	α -naphthol	BDH (England)
3	بيبتون	Peptone	Oxoid (England)
4	بيروكسيد الهيدروجين	Hydrogen peroxide H_2O_2	Thomas Baker (India)
5	حامض الهيدروكلوريك	Hydrochloric acid	BDH (England)
6	صبغة أحمر المثيل	Methyl red	BDH (England)
7	فوسفات الصوديوم أحادي الهيدروجين	Disodium phosphate	Ajax (Australia)
8	كحول أثيلي	Ethyl alcohol	BDH (England)
9	كحول أيزوبروبيلي	Isopropyl alcohol	BDH (England)
10	كلوريد الصوديوم	Sodium chloride	BDH (England)
11	هيدروكسيد البوتاسيوم	Potassium hydroxide	BDH (England)
12	Para-dimethyl amino benzaldehyde		BDH (England)
13	dimethyl-P-phenylene diamine dihydro chloride		BDH (England)

3.1.3 - الأوساط الزرعية

ت	اسم الوسط	الشركة المصنعة	الغرض من الاستخدام
1	وسط المرق المغذي Nutrient broth	Mast (England)	حفظ العزلات وإدامتها
2	وسط الأكار المغذي Nutrient agar	Mast (England)	تنمية البكتريا لغرض التشخيص
3	وسط أكار الماكونكي MaConky agar	Difco (USA)	تنمية البكتريا المخمرة لسكر اللاكتوز
4	قاعدة الدم الأساس Blood agar base	Himedia (India)	تنمية البكتريا لغرض التشخيص
5	وسط سترات سايمون Simmon citrate	Mast (England)	فحص استهلاك السترات
6	وسط اكار المانيتول الملحي Mannitol Salt Agar	Mast (England)	تمييز المكورات العنقودية المخمرة وغير المخمرة للمانيتول
7	وسط ماء الببتون Peptone water broth	Himedia (India)	فحص الاندول

2.3- طرائق العمل Work methods

1.2.3- طرائق التعقيم

– التعقيم بالحرارة الجافة

عقمت جميع الزجاجيات والأدوات التي تحتاج إلى التعقيم الجاف بالفرن الكهربائي Oven في درجة حرارة 180 مْ لمدة ساعتين .

– التعقيم بالحرارة الرطبة

عقمت الأوساط الزرعية المستخدمة في هذه الدراسة بجهاز الموصدة Autoclave عند درجة حرارة 121 مْ وتحت ضغط 1 جو ولمدة 15 دقيقة .

– التعقيم بالترشيح

تم تعقيم المواد والمحاليل التي تتأثر بالحرارة باستعمال مرشحات دقيقة Millipore Filters بقطر 0.22 مايكرومتر (Benson, 2002).

2.2.3 – تحضير المحاليل والكواشف والصبغات

حضرت مجموعة من المحاليل والكواشف والصبغات المختلفة في هذه الدراسة وعلى النحو التالي :-

1.2.2.3 – المحاليل Solutions

1.1.2.2.3- المحلول الملحي الفسلجي Normal Saline

حضر هذا المحلول حسب ما أورده Benson (2002) ، وذلك بإذابة 0.85 غم من كلوريد الصوديوم في 90 ملليلتر ماء مقطر ثم أكمل الحجم إلى 100 ملليلتر . عقم بالموصدة ، وحفظ بدرجة حرارة 4°م لحين الاستعمال .

2.2.2.3- الكواشف Reagents

حُضرت الكواشف التالية على وفق ما جاء به Benson (2002) واستخدمت لغرض تشخيص البكتريا وكما يلي :

1.2.2.2.3- كاشف الأوكسديز Oxidase Reagent

حُضر بإذابة 1 غم من مادة dimethyl-P-phenylene diamine dihydro chloride في 90 ملليلتر من الماء المقطر المعقم ثم أُكمل الحجم إلى 100 ملليلتر. يُحضر آنياً عند الاستعمال.

2.2.2.2.3- كاشف إنزيم الكاتليز Catalase Reagent

حُضر بتركيز 3% من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 واستعمل في الكشف عن قدرة العزلات البكتيرية على إنتاج إنزيم الكاتليز.

3.2.2.2.3- كاشف كوفاكس Kovac`s Reagent

حُضر بإذابة 5 غم من Para-dimethylamine - benzaldehyde في 75 ملليلتر كحول إيزوبروبيلي باستخدام حمام مائي ثم أُكمل الحجم إلى 100 ملليلتر بحامض HCl المركز ببطيء ليصبح لون الكاشف أصفر شاحب. حُفظَ في قنينة معتمة في الثلاجة ، واستخدم في اختبار الأندول.

4.2.2.2.3- كاشف فوكس بروسكاور Voges-Proskauer reagent

حُضر على وفق ما أورده Collee وجماعته(1996) ، وتضمن تحضير محلولين هما:

* **محلول A** : أُذيبَ 5 غم من مادة ألفا– نفثول في 90 ملليلتر كحول أثيلي 99% ثم أُكمل الحجم بالكحول إلى 100 ملليلتر.

* **محلول B** : أُذيبَ 40 غم من هيدروكسيد البوتاسيوم في 90 ملليلتر ماء مقطر ثم أُكملَ الحجم إلى 100 ملليلتر بإضافة الماء المقطر.

5.2.2.2.3- كاشف أحمر المثيل Methyl Red Reagent

حُضر بإذابة 0.1 غم من المثيل الأحمر في 250 ملليلتر من الكحول الأثيلي بتركيز 95% ثم أُكمل الحجم إلى 500 ملليلتر بإضافة الماء المقطر.

3.2.3- الصبغات

حضرت صبغة غرام Gram's Stain على وفق ما جاء به Benson (2002)، إذ تكونت من صبغة البلورات البنفسجية Crystal Violet ، صبغة السفرانين Safranine ، محاول اليود Gram's Iodine فضلاً عن الكحول الأثيلي المطلق ، استخدمت في الفحص المورفولوجي عن البكتريا الموجبة و السالبة للصبغة .

4.2.3- تحضير الأوساط الزرعية

1.4.2.3- الأوساط الزرعية الجاهزة

حضرت الأوساط الزرعية المستخدمة في هذه الدراسة (فقرة:3.1.2) حسب تعليمات الشركة المصنعة والمثبتة على العبوة وبعد أن ضبط الأُس الهيدروجيني عقمت بجهاز الموصدة Autoclave عند درجة حرارة 121 م وتحت ضغط 1 جو ولمدة 15 دقيقة ، حُضنت الأوساط الزرعية بعد صبها في الأطباق أو الأنابيب حسب متطلبات التجربة في درجة حرارة 37ْ م لمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها.

2.4.2.3- الأوساط الزرعية التركيبية

تم تحضير الأوساط التالية بالاعتماد على ما ورده Atlas (2004) وكما يلي :-

1.2.4.2.3- وسط أكار الدم Blood Agar Medium

حُضر أكار الدم الأساس حسب تعليمات الشركة المصنعة، عُقم بالموصدة بعدها تُرك ليبرد إلى درجة 45-50 ْم، أُضيف إليه الدم بنسبة (5%) ، مُزج جيداً وتركت الاطباق بعد تصلبها في الحاضنة إلى اليوم التالي للتأكد من خلوها من التلوث. استخدم الوسط لتنمية وعزل البكتريا وكذلك للكشف عن قدرة العزلات على إنتاج الإنزيم الحال للدم Haemolysin .

2.2.4.2.3- وسط المثيل الأحمر – فوكس بروسكاور السائل MR-VP Broth Medium

حُضر الوسط بإذابة 5 غم ببتون ، 5 غم فوسفات البوتاسيوم أُحادي الهيدروجين K_2HPO_4 في الماء المقطر. عُدلَ الرقم الهيدروجيني إلى 7.6 ثم أُكمل الحجم إلى 950 ملليلتر ثم عُقم بالموصدة . وبعد تبريده أُضيفَ 50 ملليلتر من محلول 10% كلوكوز معقم بالترشيح. صُبَّ في أنابيب معقمة بواقع 5 ملليلتر لكل أنبوب . استخدم الوسط لغرض اختبار قابلية البكتريا على تخمير سكر الكلوكوز و تكوين الأسيتون. فقرة :2.4.2.3

3.2.4.2.3- وسط اختبار الحركة Motility test medium

استخدم لهذا الغرض وسط Nutrient broth ذو القوام النصف صلب Semisolid ، إذ حُضر بإضافة مادة الأكار، وبنسبة 0.3-0.5% إلى وسط المرق المغذي Nutrient broth قبل التعقيم .

5.2.3- جمع العينات Collection of samples

جمعت 80 عينة بصورة عشوائية من الاجهزة النقالة للاشخاص المتواجدين في جامعة القادسية، إذ تم اخذ العينات باستخدام مسحات رطبة معقمة Swab ومن اماكن مختلفة من الجامعة ومن شرائح مهنية مختلفة (أساتذة، موظفون، طلاب و عمال) وبواقع 20 عينة من كل فئة و للمدة من 2017/11/25 إلى 2018/1/8. وقد سجل على كل مسحة المعلومات الخاصة بها، ونقلت العينات مباشرة الى المختبر لاجراء الفحوصات البكتيرولوجية عليها.

6.2.3- زراعة العينات

تم زراعة المسحات بطريقة التخطيط على الوسط التفريقي MacConky agar والأغنائي Blood agar لعزل البكتريا السالبة والموجبة لصبغة غرام، ثم حضنت الاطباق الملقحة بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24–48 ساعة. بعدها تم زرع كل مستعمرة على وسط MacConky agar او Blood agar للحصول على مزارع نقية.

7.2.3- عزل وتشخيص البكتريا Isolation and Identification of Bacteria

شُخصت العزلات البكتيرية اعتماداً على ما جاء في Benson (2002) و Alexander وجماعته (2004) وعلى النحو التالي :

1.7.2.3- الصفات الزرعية والفحص المجهري Cultural Characteristics and Microscopic Examination

أُجري التشخيص الأولي للعزلات بالاعتماد على الصفات المظهرية المتضمنة شكل ولون وقوام المستعمرات النامية على الوسط الزرعي وأُخضعت العزلات إلى الفحص المجهري إذ تمَّ تحضير مسحات من المستعمرات النقية وصبغت بصبغة غرام وفحصت تحت العدسة الزيتية للتمييز الخلايا السالبة للصبغة وشكل البكتريا وطرق تجمعها.

2.7.2.3- الاختبارات الكيموحيوية Biochemical tests

أُجريت عدد من الاختبارات الكيموحيوية التالية لتشخيص البكتريا اعتماداً على ما أورده كل من Benson (2002) و Alexander وجماعته (2004) .

1.2.7.2.3- اختبار إنزيم الأوكسديز Oxidase Test

نُقلت مستعمرات بكتيرية بعمر 18-24 ساعة بوساطة عود خشبي إلى ورقة ترشيح مرطبة بكاشف إنزيم الأوكسديز (فقرة :1.2.2.2.3) ، يعد تغير اللون إلى البنفسجي الغامق بعد مرور 30 ثانية دليل على إيجابية الفحص .

2.2.7.2.3- اختبار إنتاج الكاتليز Catalase Test

تمَّ مزج مزروع بكتريا بعمر 18-24 ساعة مع قطرة من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 (فقرة :2.2.2.2.3) على شريحة زجاجية نظيفة ، إذ أن ظهور الفقاعات الهوائية دلالة على

إيجابية الفحص بإنتاج إنزيم الكاتليز الذي يعمل على تحلل مركب الـ H_2O_2 إلى الماء وغاز الأوكسجين.

3.2.7.2.3- اختبار إنتاج الأندول Indole Test

لُقح وسط ماء الببتون بمستعمرات للعزلات وحُضن بدرجة حرارة 37ْ م ولمدة 24 ساعة ثم أُضيف إليه 0.5 ملليلتر من كاشف كوفاكس Kovacs reagent (فقرة :3.2.2.2.3)، ومُزج جيداً . تم الاستدلال على النتيجة الموجبة للتفاعل من تكون حلقة حمراء في طبقة الكحول الأيزوميلي Isoamyl alcohol العليا نتيجة لتحلل الحامض الأميني التربتوفان وتحوله إلى الإندول .

4.2.7.2.3- إختبار فوكس – بروسكاور وأحمر المثيل Voges Proskauer and Methyl Red Test

لُقح وسط MR-VP (فقرة :2.2.4.2.3) بالبكتريا وبواقع مكررين لكل عزلة بكتيرية . حُضنت الانابيب بدرجة حرارة 37ْ م ولمدة 24–48 ساعة وبعد اكتمال مدة الحضن أُضيف لأحد المكررات 3 ملليلتر من محلول الفا – نفثول و 1 ملليلتر من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم (فقرة :4.2.2.2.3) ومُزجت جيداً لمدة 3-5 دقائق . تعتبر النتيجة موجبة عند ظهور اللون الأحمر الوردي الذي يدل على تكوين المركب المتعادل Acetyl-Methyl Carbinol أو مركب Butylene Glycol واختزالهما إلى مركب Diacetyl . أما المكرر الثاني للعزلة البكتيرية فقد أُضيف إليه 0.5 ملليلتر من كاشف المثيل الأحمر (فقرة :5.2.2.2.3) . إنَّ ظهور اللون الأحمر الغامق دليل على قابلية البكتريا لإنتاج بعض الأحماض العضوية من سكر الكلوكوز التي تسهم في خفض الدالة الحامضية للوسط إلى 4.5 أو أقل ، أما ظهور اللون الأصفر فيدل على النتيجة السالبة للتفاعل.

5.2.7.2.3- اختبار استهلاك السترات Citrate Utilization Test

لغرض اختبار قدرة البكتريا المعزولة على استخدام السترات كمصدر وحيد للكاربون والطاقة تم تلقيح وسط السترات المائل بالبكتريا وحُضن بدرجة حرارة 37ْ م ولمدة 24-48 ساعة ، إذ يُعد تغير لون البروموثايمول من اللون الأخضر إلى اللون الأزرق نتيجة زيادة الأُس الهيدروجيني دليلاً على إيجابية التفاعل.

6.2.7.2.3 - إختبار الحركة Motility Test

تم تلقيح أنابيب الاختبار الحاوية على وسط الأكار المغذي شبه الصلب Semi solid agar (فقرة :3.4.2.3) بالبكتريا بطريقة الطعن ثم حُضنت الأنابيب لمدة 24-48 ساعة في درجة حرارة 37 مْ . تم ملاحظة النمو بانتشار البكتريا حول خط الطعن دليل على أن البكتريا لها قابلية الحركة وهذا دليلٌ على إيجابية الاختبار أما عدم انتشار البكتريا حول خط الطعن فيدل على أن البكتريا غير متحركة.

7.2.7.2.3- اختبار إنزيم مخثر البلازما بطريقة الأنبوب Tube Coagulase Test

استعمل هذا الفحص في الكشف عن الإنزيم المخثر للبلازما Coagulase والذي يعد صفة تشخيصية لبكتريا العنقوديات الذهبية ، فقد زرعت المكورات العنقودية في أنابيب اختبار حاوية على 5 ملليلتر من مرق نقيع القلب والدماغ ، ثم حُضنت لمدة 24 ساعة في درجة حرارة 37ْ م ، بعدها نُقل 0.1 ملليلتر من المزروع البكتيري إلى أنابيب صغيرة ثم أُضيف إليها 0.5 ملليلتر من بلازما دم الأرنب ، حُضنت الأنابيب في درجة حرارة 37ْ م ولمدة 4 ساعات ، مع مراقبة الفحص كل 30 دقيقة . إنَّ تكون الخثرة clot تعد دليلاً على إيجابية الفحص أما الأنابيب ذات النتيجة السالبة فتترك في درجة حرارة الغرفة ولمدة 24 ساعة إضافية للتأكد من نتيجة الفحص.

8.2.7.2.3- النمو على أكار المانيتول الملحي Growth on Mannitol Salt Agar

أُجري هذا الاختبار للتفريق بين أنواع المكورات العنقودية المخمرة وغير المخمرة لسكر المانيتول، زُرعت عزلات البكتريا على وسط أكار المانيتول وحُضنت بدرجة حرارة 37مْ ولمدة 24 ساعة. يعد تغير لون الوسط إلى الأصفر دلالة على تخمر سكر المانيتول.

8.2.3- حفظ وإدامة العزلات Storage and maintenance of isolates

1.8.2.3- الحفظ قصير الأمد

لُقح وسط الأكار المغذي بالعزلات المشخصة وحضنت عند درجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة ثم أحيطت الأطباق بشريط شمعي لاصق (Parafilm) . جمعت الأطباق داخل أكياس معلمة وحفظت في الثلاجة عند درجة حرارة 4 م° لمدة شهر واحد.

2.8.2.3- الحفظ متوسط الأمد

لُقح وسط الأكار المغذي المائل بالعزلات المراد حفظها ثم حضن عند درجةحرارة 37 م° لمدة 24 ساعة بعد ذلك أحيطت سدادات الأنابيب بشريط شمعي لاصق وحفظت في الثلاجة عند درجة حرارة 4 م° ولمدة تتراوح بين 1−4 أشهر.

9.2.3- التحليل الإحصائي

استخدم اختبار مربع كاي Chi-Square test وبمستوى أهمية P= 0.05 و P= 0.01 لمقارنة التغيرات الحاصلة بين المجاميع المشمولة بالدراسة.

الفصل الثالث
النتائج و المناقشة

4- النتائج و المناقشة Results and Discussion

1.4- العزل والتشخيص للعينات

1.1.4 - العزل

أظهرت النتائج وكما في الجدول (4–1) أن 71 عينة من العينات الكلية البالغة 80 عينة كانت ملوثة بأنواع مختلفة من البكتريا وبنسبة 88.75 %، في حين كانت هناك 9 عينات (11.25 %) خالية من النمو البكتيري.

جدول (4– 1) : التلوث البكتيري للأجهزة النقالة

ت	الشريحة الاجتماعية	عدد الاجهزة النقالة المختبرة	عدد الاجهزة النقالة الملوثة	النسبة المئوية
1	اساتذة	20	16	% 80
2	موظفين	20	18	% 90
3	طلبة	20	17	% 85
4	عمال	20	20	% 100
المجموع		80	71	% 88.75

نلاحظ من الجدول (4–1) ارتفاع نسبة التلوث للأجهزة النقالة وقد يرجع ذلك لكونها تعتبر من الاجهزة الشخصية وتواجدها المستمر وقربها من اجسامنا وتعرضها لاماكن تواجد الميكروبات مثل الوجوه والاذنين والشفتين وايدي المستخدمين لذا اصبحت وسائل ناقلة للمسببات المرضية التي قد تؤدي لامراض مختلفة (Kilic *et al*., 2009).

بينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية بين الشرائح الاجتماعية من حيث وجود وعدم وجود النمو البكتيري عند مستوى معنوية 0.05 حيث كانت قيمة مستوى الدلالة 0.223 وهو اكبر من 0.05. (ملحق: 1)

2.1.4- تشخيص العزلات البكتيرية

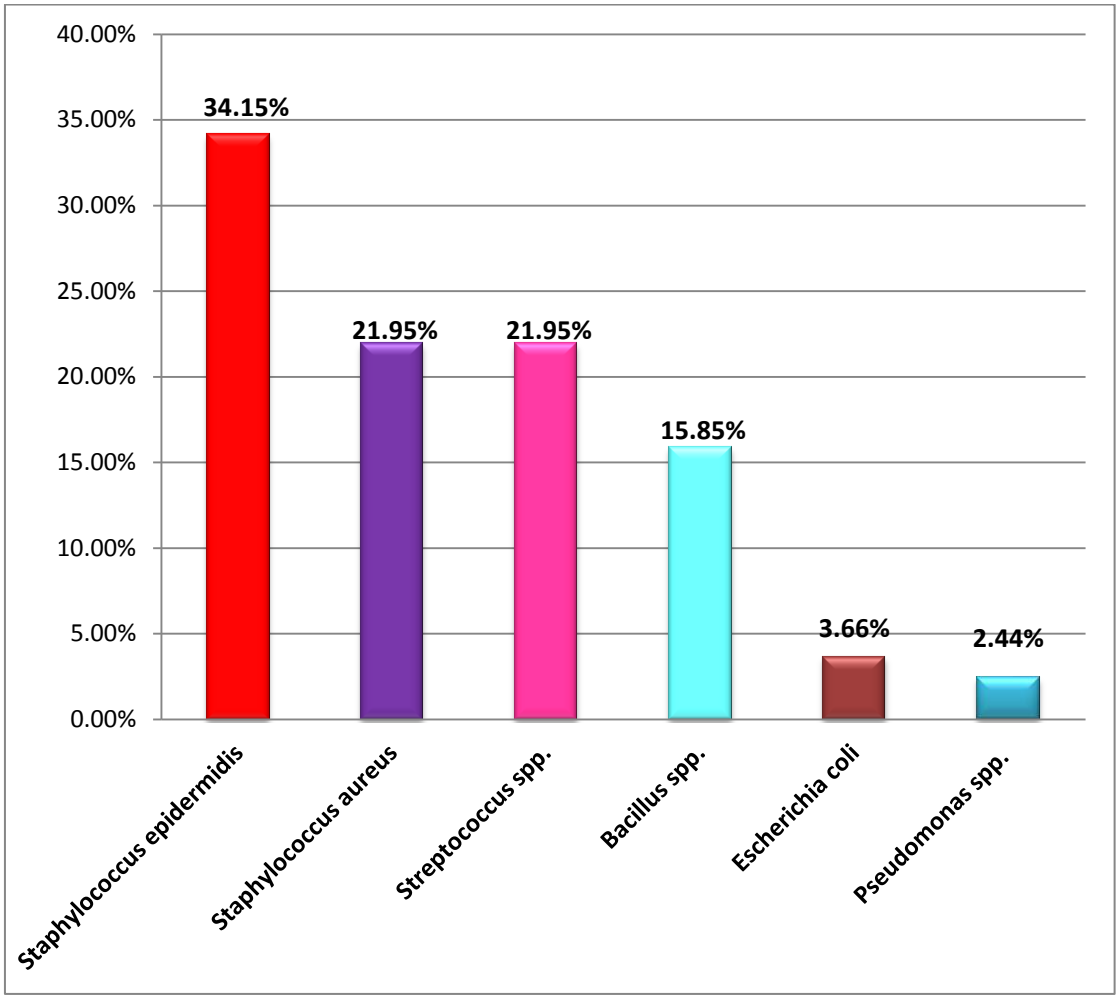
تم تشخيص البكتريا اعتماداً على الصفات المظهرية والاختبارات الكيموحيوية التي أوردها كل من Benson (2002) و Alexander وجماعته (2004).

بينت نتائج الدراسة الحصول على 82 عزلة بكتيرية مختلفة من الحالات المشمولة بالدراسة ، وأظهرت نتائج التشخيص أن تلك العزلات توزعت على ستة انواع بكتيرية وبنسب مختلفة وكما يظهر الجدول (4-2).

جدول (4-2) : العزلات البكتيرية المعزولة من الأجهزة النقالة

العزلات البكتيرية	الشريحة الاجتماعية				العدد الكلي (%)
	اساتذة العدد (%)	موظفين العدد (%)	طلبة العدد (%)	عمال العدد (%)	
Staphylococcus epidermidis	**5** (17.86)	**7** (25)	**7** (25)	**9** (32.14)	**28** (34.15)
Staphylococcus aureus	**3** (16.67)	**4** (22.22)	**4** (22.22)	**7** (38.89)	**18** (21.95)
***Streptococcus* spp.**	**5** (27.78)	**5** (27.78)	**5** (27.78)	**3** (16.67)	**18** (21.95)
***Bacillus* spp.**	**2** (15.38)	**3** (23.08)	**3** (23.08)	**5** (38.46)	**13** (15.85)
Escherichia coli	**1** (33.33)	**0** (0)	**1** (33.33)	**1** (33.33)	**3** (3.66)
***Pseudomonas* spp.**	**1** (50)	**0** (0)	**0** (0)	**1** (50)	**2** (2.44)
العدد الكلي (%)	**17** (18.29)	**19** (20.73)	**20** (26.83)	**26** (34.15)	**82 (100)**

شكل (4-1) : النسبة المئوية للعزلات البكتيرية الملوثة للأجهزة النقالة



يتضح من الجدول (4-2) و الشكل (4-1) أن الاجهزة النقالة ملوثة بـ 6 أنواع بكتيرية مختلفة، إذ احتلت بكتريا *Staphylococcus epidermidis* النسبة الأعلى 34.15 % (28 عزلة)، جاءت بعدها كل من بكتريا *Staphylococcus aureus* و بكتريا *Streptococcus* spp. بنسبة 21.95 % (18 عزلة)، ثم جاءت بعدها بكتريا *Bacillus* spp. بنسبة 15.85 % (13 عزلة)، كما تواجدت بكتريا *Escherichia coli* بنسبة 3.66 % (3 عزلات)، في حين كانت اقل نسبة تواجد تعود الى بكتريا *Pseudomonas* spp. وهي 2.44 % (2 عزلة).

من الجدول (4-2) و الشكل (4-1) نلاحظ أن بكتريا *Staph. epidermidis* جاءت في المرتبة الأولى من ناحية العزل34.15 % (28 عزلة)، وهذا يتفق مع (Sepehri *et al.*,

2009) في دراستهم التي اجريت في ايران حيث كانت بكتريا *Staph. epidermidis* هي السائدة من بين الجراثيم المعزولة.

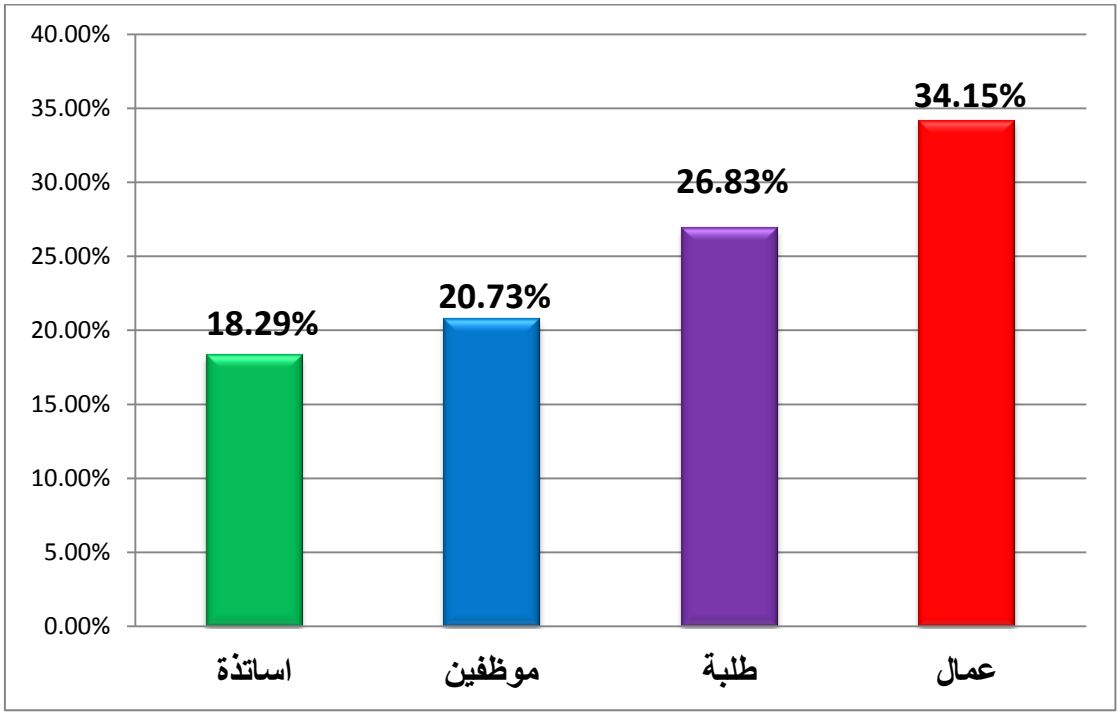
جنس الـ Staphylococci ساكن طبيعي لجسم الإنسان Normal flora فهي تتواجد على الجلد، الأنف، الفم والأمعاء كما أنها تتواجد في الهواء والماء والمجاري، ويمكن أن تنتقل إلى الاجهزة النقالة عن طريق الايدي او الرذاذ المتطاير من الفم أو الأنف خلال السعال أو العطاس أو التحدث (Goktas and Oktay, 1992).

إن تواجد بكتريا *Bacillus* spp. بنسبة عالية أمر متوقع كون هذه البكتريا واسعة الانتشار بيئياً فهي تعيش في التربة وتعتبر ملوث سطحي ويمكن أن تنتقل إلى الاجهزة النقالة عن طريق تلوثها بالتراب أو الغبار أو وضعها في الأماكن الملوثة أو تماسها مع الأيدي القذرة (Tartora and Funke, 2003).

بينت نتائج البحث في الجدول (4–2) و الشكل (4–1) ان نسبة تلوث العملات الورقية بالبكتريا المعوية *E. coli* و *Pseudomonas* spp. كانت 3.66 % و 2.67 % (3 و2) عزلات على التوالي، تواجد هذه البكتريا على الاجهزة النقالة دليل على التلوث البرازي للأيدي بسبب عدم غسل اليدين جيدا بعد استعمال دورات المياه مما يعتبر عامل مهم في تلوث الاجهزة النقالة بهذه البكتريا وبأنواع أخرى تعود إلى العائلة المعوية والتي تتواجد بصورة طبيعية في أمعاء الإنسان (Goktas and Oktay, 1992).

بينت نتائج التحليل الإحصائي وجود فروق معنوية في نسبة تواجد الأنواع البكتيرية المعزولة عند مستوى معنوية 0.05 حيث كانت قيمة مستوى الدلالة 0.000 وهو اقل من 0.05. (ملحق: 2)

شكل (4-2) : النسبة المئوية لتواجد العزلات البكتيرية حسب الشريحة الاجتماعية



يتضح من الشكل (4-2) ان نسبة تواجد البكتريا كانت عالية في شريحة العمال 34.15 %، وقد يعود سبب ذلك الى ان هذه الشريحة كثيرة التعرض للملوثات بسبب طبيعة عملهم فضلا عن المستوى الثقافي والوعي الصحي. وبينت نتائج التحليل الإحصائي عدم وجود فروق معنوية في نسبة تواجد الأنواع البكتيرية المعزولة بالنسبة للشريحة الاجتماعية عند مستوى معنوية 0.05 حيث كانت قيمة مستوى الدلالة 0.533 وهي اكبر من 0.05.

الأستنتاجات

و

التوصيات

الاستنتاجات

1. أظهرت النتائج أن 71 عينة من العينات الكلية البالغة 80 عينة كانت ملوثة بأنواع مختلفة من البكتريا وبنسبة 88.75 %.
2. بينت النتائج ان أن الاجهزة النقالة ملوثة بـ 6 أنواع بكتيرية مختلفة، إذ احتلت بكتريا *Staphylococcus epidermidis* النسبة الأعلى 34.15 % (28 عزلة)، جاءت بعدها كل من بكتريا *Staphylococcus aureus* و بكتريا *Streptococcus* spp. بنسبة 21.95 % (18 عزلة)، ثم جاءت بعدها بكتريا *Bacillus* spp. بنسبة 15.85 % (13 عزلة)، كما تواجدت بكتريا *Escherichia coli* بنسبة 3.66 % (3 عزلات)، في حين كانت اقل نسبة تواجد تعود الى بكتريا *Pseudomonas* spp. وهي 2.44 % (2 عزلة).
3. كما اظهرت النتائج ان نسبة تواجد البكتريا على الاجهزة النقالة لدى شريحة العمال كانت هي الاعلى 34.15 %، في حين كانت اقل نسبة تواجد للبكتريا على الاجهزة النقالة للاساتذة 18.29 %، بينما كانت نسبة تواجد البكتريا على الاجهزة النقالة لشريحتي الموظفين والطلبة هي 20.73 % و 26.83 % وعلى التوالي..

التوصيات

1. إجراء فحص الحساسية الدوائية للبكتريا المعزولة من الأجهزة النقالة لمعرفة مدى تلوثها بالعزلات المقاومة للمضادات الحيوية.
2. إجراء دراسة موسعة على تواجد الأحياء المجهرية الأخرى كالفطريات ، الفيروسات والطفيليات على الأجهزة النقالة.
3. تجنب إعطاء الاجهزة النقالة للأطفال بأعمار صغيرة لان الطفل الصغير يعمل على لعقها مما يشكل خطراً صحيا عليه.
4. ضرورة الاهتمام بعملية تعقيم اجهزتنا النقالة باستخدام الكحول الاثيلي مرة واحدة على الاقل يوميا لتقليل الكائنات المجهرية المتواجدة عليها.
5. يجب الحذر من مسألة وضع اجهزتنا النقالة في اماكن ملوثة كالحمامات او المختبرات وغيرها لتجنب تلوثها بالبكتريا المرضية.

المصادر

المصادر العربية

الناصري ، اسامة ناظم نجرس. (2002). دراسة بكتيرية وكيموحيوية وجزيئية للمكورات العنقودية الذهبية ***Staphylococcus aureus***. اطروحة دكتوراه ، كلية العلوم، الجامعة المستنصرية.

المصادر الأجنبية

Alexander, S. K.; Strete, D. and Niles, M. J. (2004). Laboratory Exercises in Organismal and Molecular Microbiology. The McGraw−Hill Companies. USA.

Ananthanarayan, R. & Paniker, C. K. (1997). Textbook of Microbiology. 5th ed., Orient Longman. pp. 187-197.

Atlas, R. M. (2004). Handbook of Microbiological Media . 3ed ed . CRC Press LLC . USA .

Benson, H. J. (2002). Microbiological Applications Laboratory Manual in General Microbiolology. 8th ed. The McGraw−Hill Companies. USA .

Brooks, G.F., Butel, J.S. and Morse, S.A. (2001). Jawetz, Melnick and Adelberg's Medical Microbiology. 22nd ed . Middle east Beirut Company. London.

Collee, G. J.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A. (1996). Practical Medical Microbiology. 14th ed. Churchill Livingstone. pp. 449-455.

Forbes, B. A.; Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. (1998). Biley and Scott's Diagnostic Microbiology. 10th ed., Mosby. A Times Mirror Company Inc., New York, pp. 449-469.

Goktas, P. and Oktay, G. (1992). Bacteriological examination of paper money. *Mikrobiyol. Bull*., 26: 344- 438.

Goldman, E. and Green, L. H. (2009). Practical Handbook of Microbiology . 2nd ed . CRC Press is an imprint of the Taylor and Francis Group . New York.

Govan, J. R.; Brown, P. H. and Maddison, J. (1993). Evidence for transmission of pseudomonas cepacia by social contact in cytic fibrosis Lancet. 342: 15-19.

Holt, J. G.; Kreig, N. R.; Sheath, P. H.; Staley, J. T. and Williams, S. T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th ed. Williams and Wilkins. USA., pp: 532-553.

Jawetz, E. J.; Melnick, J. L.; Adelberg, E. A.; Brooks, G. F.; Butel, J. S. and Morse, S. A. (2004). Medical Microbiology. 23rd ed. Appelton and Longe. USA.

Julian T, Singh A, Rousseau J, Weese JS (2012). Methicillin-resistant staphylococcal contamination of cellular phones of personnel in a veterinary teaching hospital. *BMC Res*. Notes 5:193.

Kilic IH, Ozaslan M, Karagoz ID, Zer Y, Davutoglu V (2009). The microbial colonisation of mobile phone used by healthcare staffs. *Pak. J. Biol. Sci.* 12:882-884.

Koneman, E. W.; Allen, S. D. ; Dowell, V. R.; Janda, W. M.; Sommer, H. M. and Winn, W. C. (1997). Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 4thed . Lippincott Company , Philadelphia.

Logan, N. A. and DeVos, P. (2009). Genus *Bacillus* **In:** Bergey's manual of systematic bacteriology , Second Edition, Vol.3, Springer Dordrecht Heidelberg London New York . pp:21-128.

Rehm, B. H. (2008). Pseudomoas. Model Organism, Pathogen, Cell Factory. WILEY-VCH Verlag GmbH and Co. KGaA, Weinheim

Tagoe DN, Gyande VK, Ansah EO (2011). Bacterial contamination of mobile phones: When your mobile phone could transmit more than just a call. Webmed. Central Microbiol. 2(10):1-9.

Tartora, G. J.; and Funke, B. R. (2003). *Microbiology: An introduction*. 8th ed. San Francisco: Benjamin/ Cummings Publishing.

Zakai S, Mashat A, Abumohssin A, Samarkandi A, Almaghrabi B, Barradah H, Jiman-Fatani A (2016). Bacterial contamination of cell phones of medical students at King Abdulaziz University, Jeddah, Saudi Arabia. *J. Microsc. Ultrastruct.* 4(3):143-146.