وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة القادسية

كلية العلوم- قسم علوم الحياة

دراسة تشخيصية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسيلين MRSA المعزولة من حالات سريرية مختلفة

بحث مقدم

إلى كلية العلوم / قسم علوم الحياة– جامعة القادسية

كجزء من متطلبات نيل شهادة البكالوريوس في علوم الحياة

من قِبل الطالبة

نور عواد هلوس

بإشراف

م.م.عباس ميان حزام

1440 هـ 2019 م

﴿ ذَلِكَ فَضْلُ اللَّهِ يُؤْتِيهِ مَنْ يَشَاءُ وَاللَّهُ ذُو الْفَضْلِ الْعَظِيمِ ﴾

سورة الجمعة الاية (4)

شكر وتقدير

الحمدلله رب العالمين والصلاة والسلام على سيد المرسلين محمد بن عبدالله الصادق الأمين وعلى اله الطيبين الطاهرين.

الحمدلله الذي انارلي دربي وأخذ بيدي لأكمل مشوارا طويلا ،لم أرجو به الأ قربه ولطفه ورحمته وسخر لي جمعا من خلقه أعانوني في خطواتي كلها ، وكانوا لي سندا ،لا املك الا شكرهم والدعاء لهم.

وأتقدم بجزيل الشكر والتقدير الى استاذي الفاضل **م.م. عباس ميار حزام** لأقتراحه موضوع البحث واشرافه المباشر علية طوال مدة البحث والكتابة وفقه الله لدوام الخير والعطاء.

وأقدم الشكر والامتنان الى عميد كلية العلوم **الدكتور نبيل عبد بد الرضا** ورئيس قسم علوم الحياة الدكتور **حبيب وسيل كاظم**

ومن باب العرفان الجميل اقدم شكري وامتناني الى الاخوة الاعزاء في قسم علوم الحياة **.....** لما ابدوه من مساعدة جزاهم الله عني خير الجزاء.

واتوجه بعظيم امتناني الى من غمرني بفيض محبتهم ودوام دعائهم فكانوا لي خير عون وسند لأكمال دراستي **امي وابي ....اخوتي واخواتي..**

ومن الله التوفيق

نور

الاهداء

الـى مـن بلـغ الرسـالة وادى الامانـة ..ونصـح الامـة..الـى نبـي الرحمـة ..ونـور العالمين..... **سيدنا محمد صلى الله عليه واله وسلم**

الى ملاكي في الحياة..الى معنى الحب والى معنى الحنان والتفـاني..الـى بسـمة الحياة .. الى من كان دعائها سر نجاحي وحنانها بلسم جراحي الى اغلى الحبايب

امي الغالية

الى سندي وقـوتي.. ومـلاذي بعـد الله..الـى مـن اثرونـي علـى انفسـهم..الـى مـن علموني علم الحياه.. الى من اظهروا لي ماهو اجمل من الحياة

اخوتي

اهدي ثمرة جهدي المتواضع

نور

الخلاصة Abstract

جمعت (64) عينة من حالات سريرية مختلفة للمرضى الراقدين والمراجعين لمستشفى الديوانية التعليمي من كلا الجنسين و بأعمار مختلفة للمدة من تشرين الثاني 2018 ولغاية شباط 2019 لغرض التحري عن المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* المقاومة للمثيسيلين ، شملت العينات 16 عينة من الحروق و 16عينة من الخراجات و 16 عينة من الجروح و16عينة من التهابات الاذن .

بينت نتائج الاختبارات المظهرية والكيموحيوية عائدية 18عزلة (28.1%) لبكتريا *S. aureus* حيث كانت أعلى نسبة عزل لبكتريا الـ *Staphylococcus aureus* من اخماج الحروق وبنسبة (14%) , تلتها اخماج الجلد (الخراج) بنسبة عزل (7.8%) بينما كانت أدنى نسبة عزل لبكتريا الـ *S. aureus* من الجروح وبنسبة عزل (6.25%) اما اخماج الأذن لم تسجل وجود إصابات ببكتريا *S. aureus* .

تم التحري عن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة لمضاد المثيسيلين Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) في عزلات *S. aureus* البالغة 18 عزلة بطريقة التخطيط على الوسط الزرعي CHROMagar MRSA ، اذ أظهرت 8 عزلات وبنسبة 44.4% قدرتها على مقاومة مضاد المثيسيلين والنمو على وسط CHROM agar MRSA باللون الوردي الخاص بعزلات الـ MRSA .

من جهة أخرى بينت النتائج ان اعلى نسبة عزل لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة لمضاد المثيسيلين كانت من الحروق وبنسبة (22.2 %) تليها الخراج والجروح وبنسب متساوية (11.1%) .

Abstract

A total of 64 different clinical cases were collected from the Diwaniyah Teaching Hospital from the period from November 2018 to February 2019, for the purpose of investigating the Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), The specimens included 16 specimens of burns, 16 specimens of abscess, 16 specimens of wounds and 16 specimens of ear infections.

The results of biochemical tests revealed 18 isolates (28.1%) were the *S. aureus*. The highest isolation rate for *Staphylococcus aureus* was from burns (14%), followed by abscess (7.8%) while ear infections did not record S. aureus infection.

Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) was detected in all of *Staphylococcus aureus* isolates(18 isolates) by using streaking method on CHROMagar MRSA, 8 isolates (44.4%) showed their ability to resist Methicillin and growth on CHROM agar medium MRSA in pink colonies.

On the other hand, the highest percentage of MRSA was from burns (22.2%) followed by abscesses and wounds (11.1%).

المحتويات

رقم الفقرة	العنوان
1	المقدمة
2	استعراض المراجع
1.2	المكورات العنقودية الذهبية
2.2	عوامل الضراوة
1.2.2	المحفظة
2.2.2	الببتيدوكلايكان
3.2.3	بروتين A
4.2.3	الانزيم المخثر للبلازما
5.2.3	انزيمات البيتالاكتاميز
6.2.3	الذيفان القاتل لكريات الدم البيض
3.2	الأمراضية
4.2	مقاومة بكتريا *S. aureus* لمضاد الـ Methicillin
3	المواد وطرائق العمل
1.3	الأجهـــزة والصبغات والأدوات والمواد الكيميائية
2.3	تحضير الأوساط الزرعية
3.3	التعقيم
4.3	جمع العينات
5.3	تشخيص البكتريا المعزولة
1.5.3	الفحص المظهري والمجهري
2.5.3	الفحوصات الكيموحيوية
6.3	حفظ العزلات البكتيرية
7.3	التحري عن بكتريا الـ MRSA
4	النتائج والمناقشة
1.4	عزل وتشخيص بكتريا الـ *S. aureus*
2.4	الاعداد والنسب المئوية لعزل بكتريا الـ *S. aureus*
3.4	التحري عن المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسيلين MRSA
4.4	النسب المئوية لعزل MRSA من حالات سريية مختلفة
	الاستنتاجات والتوصيات

1.المـــقـــدمة Introduction

تعد *S. aureus* من أهم الأنواع الممرضة للإنسان وأكثرها شيوعاً وهي مسؤولة عن مدى واسع من الأمراض مثل الدمامل ، والخراجات المختلفة وخراجات الجروح الناتجة عن العمليات الجراحية ، والتهاب الجلد والأنسجة الرخوة ، والتهاب العظام ، والمفاصل ، والتهاب الرئة القصبي (Omoe *et al*., 2002) .

تعود امراضية هذه البكتريا وقدرتها على غزو نسيج المضيف وانتشارها فيه الى امتلاكها الكثير من عوامل الضراوة مثل انتاجها الذيفانات Toxins والانزيمات Enzymes التي تساعد البكتريا على احداث الاصابة (Brooks *et al*., 1998) . إذ تمتلك البكتريا القابلية على إنتاج الأنزيمات خارج خلوية مثل الأنزيم المخثر لبلازما الدم الذي يمتلك القدرة على تثبيط عملية البلعمة والبروتينيز ، واللايبيز التي تسهم في غزو البكتريا للأنسجة ، وانتشار الخمج ، وتعمل على إنتاج ذيفانات محللة للدم نوع ألفا وبيتا وكاما ودلتا ، كما إنها تمتلك قدرة على إنتاج ذيفانات خارجية (Ryan and Ray, 2004) . فضلاً عن امتلاكها المحفظة التي تساعد في مقاومة البكتريا لعملية البلعمة (O'Riodan and Lee, 2004) ، بالإضافة إلى امتلاكها جدار الخلية الذي يعد تركيباً انتجينياً لاحتوائه على التراكيب الأنتجينية (الببتايدوكلايكان ، وحامض التكويك ، وبروتين A) ، ويعمل جدار الخلية على مقاومة الجهاز المناعي للمضيف ، ويشكل حماية أوزموزية للخلية البكتيرية (McKinney *et al*., 2001) .

تمتاز المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين MRSA بتوطنها بشكل أساس في المستشفيات وتعرف بـ Hospital acquired-MRSA (HA-MRSA) وعند استيطان الـ MRSA في بيئة المجتمع تعرف عندئذ بـ Community acquired-MRSA (CA-MRSA) ، وجاءت أهميتها من خلال مقاومتها العديد من المضادات الحيوية مثل مقاومتها لجميع أنواع مضادات البيتالاكتام ، والعديد من المضادات الحيوية الأخرى (Al-Rawahi *et al*., 2008) . إن لهذه السلالات البكتيرية أهمية كبيرة في الاصابات المرتبطة بالمستشفيات وخاصة في ردهات العناية المركزة وردهات الأطفال والحروق وصالات العمليات مسببة اصابات مختلفة هددت حياة المرضى الراقدين في المستشفيات وخاصة ضعاف المناعة (Falcao *et al*., 1999) .

الهدف من الدراسة

نظرا لأهمية MRSA في إحداث إصابات مختلفة من الجسم ، وصعوبة علاجها والسيطرة عليها ، فقد هدفت الدراسة الحالية الى التحري عن هذه البكتريا باستخدام وسط الـ CHROM Agar

2. استعراض المراجع Literatures review

1.2:المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus*

تعـد بكتريا *S. aureus* من أوسع أنـواع المكورات العنقوديـة أمراضـية للإنسـان وتتميز بكتريـا الـ*S. aureus* عـن بقيـة أنـواع المكـورات العنقوديـة بكونهـا موجبـة لإنـزيم مختـر بلازمـا الـدم (Collee *et al.*, 1996) وتعرف بكتريـا *S.aureus* علـى إنهـا خلايـا كرويـة الشـكل قطرهـا 1مايكروميتر تقريبآ ، موجبة لصبغة غرام ، غير متحركة Nonmotil) ، غير مكونـة للسبورات Non sporforming وعـادة مكونـة للمحفظـة (Kenneth,2002) وذات مسـتعمرات كبيـرة صـفراء علـى وسـط المـانيتول الملحـي حيث تظهـر مستعمراتها دائريـة رقيقـة ذات سـطوح لماعـة يصل قطر المستعمرة الواحدة (2-3) مليمتر وتصطبغ بلون ذهبـي مصـفر،ولها القابليـة علـى تحلل الدم في وسط أكار الدم Blood agar ومعيشة هذه البكتريا هوائية او لاهوائيـة اختياريـة تعطـي بكتريـا *S. aureus* نتـائج موجبـة لاختبـار إنـزيم مختـر البلازمـا الحـر(، وإنـزيم محلـل الـدنا DNase ، والفوسفاتيز، والجيلاتينيز ، وسالبة لفحص الاوكسيديز (Macffaddin, 2000) .

2.2: عوامل الضراوة Virulence factors

تكمن الاهمية السريرية لبكتريا *S. aureus* في كونها تمتـلك العديـد من عـوامـل الضراوة (Virulence factors) التي تعطيها القدرة على النمو والتكاثر وغزو انسجة المضيف وبذلك فهي تسهم بصورة كبيرة في امراضيتها (Zadik *et al.*, 2001) وفيما يلي اهم تلك العوامل :

1.2.2: المحفظة Capsule

تمتلك بعض سلالات *S. aureus* محفظة ضمن جدار الخلية ، التي تعمل علـى تثبيط عمليـة البلعمـة الناتجـة عـن خلايـا الـدم البيضـاء ذات الأنويـة متعـددة الأشـكال و تتكـون مـن عديـد السـكريدات (Prevost *et al* .,2003)، كمـا ان السـلالات المحفظـة تعد أكثـر ضـراوة مـن السـلالات غيـر المحفظة والسبب فـي ذلك لامتلاكها المحفظـة التـي تجعلها مقاومـة لعمليـة البلعمـة ، وتتـأثر ضـراوة البكتريا بحجم المحفظة إذ وجد إن السلالات ذات المحفظة الكبيرة أكثر ضراوة مـن السـلالات ذات المحفظة الدقيقة (Lee *et al.*, 2004) .

2.2.2: الببتيدوكلايكان Peptidoglycan

تمتلك *S. aureus* بعض التراكيب الأنتجينية مثل جدار الخلية البكتيرية الذي بدوره يتكون من الببتايدوكلايكان المحتوي على سلسلة خطية من الكلايكان المتكون من نوعين من السكريات الأنتيجينية المتعاقبة ، والمتبادلة وهما الأستيل كلوكوزأمين N-acetylglucosamine (NAG) , والأستيل حامض الميورامك N-acetylmuramic acid (Ryan and Ray, 2004).

3.2.2: بروتين A

هو عبارة عن مستضد يقع على سطح الخلية البكتيرية يمثل حوالي 7% من جدار البكتريا، يرتبط تساهمياً مع الطبقة الخارجية لجدار الخلية المكونة من الـ Peptidoglycan لوحظ ان هذا البروتين يثبط آلية الطهاية Opsonization ، والبلعمة Phagocytosisمختبريا (Wann *et al.*,1999)

4.2.2: الانزيم المخثر للبلازما Coagulase

يفرَزُ الانزيم المخثر للبلازما من بكتريا *S. aureus* ويعد من الصفات التشخيصية المهمة لهذه البكتريا ، والانزيم عبارة عن بروتين قليل الكاربوهيدرات يفرز في الطور اللوغاريتمي من النمو البكتيري (Deepak *et al.*, 2000; Collee *et al.*, 1996) . الذي يؤدي وجوده إلى تجميع الفايبرونجين الموجود ضمن التركيب الكيمياوي لبلازما الدم ومن ثم ترسيبه على سطح خلايا بكتريا الـ *S. aureus* على شكل شبكة من الألياف الدقيقة مكونة بذلك الخثرة ، ومن المميزات المهمة لهذا الإنزيم تكوينه للأضداد ، إذ يمتلك صفة مستضدية ، والقدرة على تثبيط عملية البلعمة Phagocytosis (Nair *et al.*, 2000) .

5.2.2: انزيمات البيتالاكتاميز β-Lactamase

تعرف إنزيمات البيتالاكتاميز بأنها إنزيمات تعمل على تثبيط فعالية مضادات البيتالاكتام وهي متواجدة في كل أنواع البكتريا سواء كانت موجبة أو سالبة لصبغة غرام ، ويوجد أكثر من 200 نوع من أنواع إنزيمات البيتالاكتاميز ، وتأتي أهميتها من خلال قدرتها على فتح حلقة البيتالاكتام لكل من البنسيلينات والسيفالوسبورينات ، وبذلك تكون تلك الأدوية غير فعالة ضد البكتريا (Koneman *et al.*, 1992) .

6.2.2: الذيفان القاتل لكريات الدم البيض Panton –Valentine Leukocidin PVL

وهو عبارة عن سموم بروتينية متعددة المكونات تؤدي الى تحطم الأغشية ويعد عاملاً مهماً في تأثيراته الحيوية وخاصة في قابليته على تحطيم غشاء البلعمة الكبيرة Macrophagocytes والخلايا الحبيبية Granulocyte. وقد لوحظ ان لهذا السم علاقة بالأخماج الجلدية وحصول الأصابات التنخرية للجلد ، ويعد من عوامل الضراوة للبكتريا من خلال تأثيره على كريات الدم متعددة الأنوية . ويعدّ هذا السم من اهم عوامل الضراوة في بكتريا الـ MRSA المكتسبة من المجتمع(Brasel and Weigelt, 2007) .

3.2: الامراضية Pathogenesis of *S. aureus*

تعد جرثومة *S. aureus* من اشد انواع المكورات العنقودية في امراضيتها على الرغم من كونها جزءاً من النبيت الطبيعي للجلد والانف والبلعوم والقناة الهضمية والتناسلية للانسان (Todar,2002) . وتمتلك ايضاً القدرة على احداث اخماج انتهازية Opportunistic infections تتفاوت بين اخماج الجلد البسيطة نسبيا الى الامراض الجهازية المهددة للحياة (Levinson and Jawetz, 2000) . وبسبب امتلاكها العديد من المستضدات السطحية والانزيمات والذيفانات تستطيع هذه البكتريا اختراق انسجة الجسم بقوة .

من الأمراض التي تسببها هي الأخماج الأولية مثل الدمامل الموضعية Furunclesوهي عبارة عن خمج جلدي سطحي يحدث في حويصلات الشعر ، أو في الغدد الشحمة ، أو الغدد العرقية ، وهذا الخمج يؤدي إلى إغلاق قناة الغدة مصحوباً بحكة ، وتنتهي الإصابة عادة بتصريف القيح ، ومن الممكن أن تمتد الحويصلة بين الأنسجة الجلدية المتجاورة وتكون سلسلة من الإصابات التي قد تصل إلى مجرى الدم (Diep *et al.*, 2004) ، كما تنتج *S. aureus* الدمامل المزمنة (Chronic furuncles) نتيجة لتكرار الإصابة وهذه الإصابات عادة تكون مصحوبة بعدة عوامل كأن يكون الشخص مصاباً بداء السكري ، أو مصاباً بأحد أمراض الدم الأخرى ، وغالباً ما تظهر الإصابة ببكتريا *S. aureus* كإصابة ثانوية مصاحبة للإصابة الأولية بالمكورات المسبحية (Ryan and Ray, 2004). ومن الامراض الجلدية الاخرى التي تسببها بكتريا *S. aureus* هي الخراجات Abscesses والتهاب حويصلة الشعر (Johnson *et al.*, 2002)

تنتج بكتريـا الـ *S. aureus* الذيـفان المقـشر Exfoliative toxin مسبباً متلازمـة تقشر الجلد حيث يسبب هذا الذيفان تقشرات وانسلاخات Scalded اذ يصيب الاطفال بعمر اربع سنوات وحديثي الولادة كما يصيب كبار السن ضعيفي المناعة وتدعى ايضًا بالمتلازمة المحللة للبشرة (Prevost *et al.*, 2003) . كما تسبب التهاب المفاصل Arthritis والتهاب اغشية الدماغ Meningitis وخراج الكبد Liver abscess وخراجات البروستات Prostatic abscess والتهاب المجاري البولية والبلعوم والتهاب الجيوب الانفية وللجرثومة دور في احداث التهاب شغاف القلب

4.2: مقاومة بكتريا *S. aureus* لمضاد الـ Methicillin

ظهرت مقاومة العنقوديات الذهبية للمثيسيلين بعد مدة قصيرة من ادخاله الى حيز الأستعمال الطبي واطلق على هذا النوع من المقاومة بالمقاومة الداخلية (Jones *et* al., 1997) . تعدَ MRSA إحدى أهم مسببات الإصابات والأمراض في العالم وتأتي أهمية هذه السلالات نتيجة لمقاومتها لجميع أنواع مضادات البيتالاكتام بالإضافة إلى مقاومتها للعديد من أنواع المضادات الحيوية الأخرى (NCCLS, 2003c) .

تعزى مقاومة MRSA لمضادات البيتالاكتام إلى إنتاج بروتينات جديدة وهي البروتينات الرابطة للبنسيلين (PBPs) وتعرف بـ (PBP2a) أو (PBP2') وهي عادة لا تشبه أيا من المجموعة الداخلة ضمن أنواع البروتينات الرابطة للبنسيلين (PBPs) ، أما آلية عمل (PBP2a) فهو تقليل الألفة أو التجانس مع مضادات البيتالاكتام ، وعلى الرغم من وجود التراكيز المثبطة لمضادات البيتالاكتام فان MRSA تستطيع أن تكمل بناء جدار الخلية بالاعتماد على الفعالية غير المثبطة لـ (PBP2a) فقط (Ito *et al.*, 2004).

ويعتقد إن مجموعة البنسيلينات الثابتة التي تضم عدة مضادات حيوية مثل المثيسيلين والأوكزاسيلين والنافسيلين (Macfaddin ., 2000) ، تمتلك تأثيرات محفزة لبكتريا *S. aureus* على المقاومة ، إلا أنَ بعض الدراسات الأخيرة أظهرت بان هذه المجموعة تمتلك تأثيرا يسيراً على تحفيز المقاومة للمثيسيلين ، وان مقاومة *S. aureus* لهذه المضادات لم تنشأ نتيجة التحفيز وإنما تم اكتسابها عن طريق انتقالها من الأنواع البكتيرية السالبة لإنزيم مخثر البلازما (CoNS) إلى *S. aureus* بوساطة آليات الانتقال الوراثي مثل (الاقتران البكتيري ، والتحول الوراثي والعاثي البكتيري) ((Waldron and Lindsay, 2006) .

3. المواد وطرائق العملMaterials and method

1.3: الأجهــزة والأدوات المختبرية والصبغات والمواد الكيميائية

جدول(3-1) الأجهزة والمعدات المختبرية والصبغات والمواد الكيميائية

ت	أســـــــم الجـــهـاز	
1	مؤصده	Autoclave
2	ميزان حساس	Sensitive balance
3	مجهر ضوئي	light microscope
4	مسخن حراري	Hot plate
5	حمام مائي	Water bath
6	جهاز تقطير	Distiller
7	منبذة عالية السرعة	High speed centrifuge
8	حاضنة	Incubator
9	مازج	Vortex mixer
10	كابينة الزرع المجهري	Laminar flow cabinet
11	الناقل الزرعي القياسي	Standard wire loop (1µ)
12	دورق مخروطي	Conical flasks
13	اطبــاق بتــري بلاســتكية وأنابيــب إختبار	Disposable Petri dishes and Test tube
14	شرائح زجاجيه وغطاء شريحة	Slides and cover slides
15	كليسيرول	Glycerol
16	المثيل الأحمر	Methylred ($C_{15}H_{15}N_3O_2$)
17	الاكار	Agar- Agar
18	كاشف كوفاكس	Kovac' s reagent
19	صبغة گرام	Gram stain

2.3: تحضير الأوساط الزرعية Preparation of culture media

حُضِّرت الأوساط الزرعية الجاهزة حسب تعليمات الشركة المُصنِّعة ما عدا الأوساط التركيبية التي شمِلت وسطي أگار الدم والحركة .

جدول (3-2):الأوساط الزرعية

ت	اسم الوسط	الغرض من الاستخدام
.1	Blood agar	استعمل هذا الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على تحليل الدم
.2	Nutrient agar	وسط تنمية عام
.3	Nutrient broth	استعمل لتنشيط وادامة العزلات
.4	Mannitol salt agar	التفريق بين المكورات العنقودية الذهبية عن بقية الانواع
.5	Motility media	استخدم لاختبار حركة البكتريا
.6	CHROMagar MRSA	وسط أختياري للتحري عن عزلات المكورات العنقودية المقاومة لمضاد المثيسيلين (MRSA).

3.3: طرائق التعقيمmethodes Sterilization

عقمت جميع الأوساط الزرعية الجاهزة، والتركيبية، وأغلب المحاليل المستخدمة التي لاتتأثر بالحرارة بجهاز Autoclave عند درجة حرارة 121 مº وتحت ضغط 15 باوند / انج^2 لمدة 15 دقيقة، أما الزجاجيات فقد تم تعقيمها بالفرن الكهربائي عند درجة حرارة 168 مْ لمدة ساعتين (MacFaddin, 2000).

4.3: جمع العينات Samples collection

جُمعت 64 عينة من مستشفى الديوانية التعليمي للمدة من تشرين الثاني 2018 ولغاية شباط 2019. إستُخدمت المسحات القطنية في عملية جمع العينات ، اذ شملت الدراسة عينات سريرية مختلفة تم جمعها من مناطق مختلفة من جسم المرضى (16 عينة من الحروق ، 16عينة من الخراجات ، 16 عينة من الجروح و16عينة من التهابات الاذن) . بعدها نقلت العينات الى المختبر وزرعت على وسط Mannitol salt agar وحضنت الاطباق بدرجة 37 م ولمدة 24ساعة لغرض تشخيص البكتريا النامية (MacFaddin, 2004) .

5.3: تشخيص البكتريا المعزولة

1.5.3: التشخيص المظهري والمجهري

تم عمل مسحات مباشرة ثم صبغت بصبغة كرام لدراسة الخصائص المجهرية للبكتريا المعزولة التي شملت شكل الخلية البكتيرية، وانتظام الخلايا البكتيرية مع بعضها , وطبيعة تفاعلها مع صبغة كرام. كذلك درست الصفات المظهرية لكل من المستعمرات والخلايا البكتيرية النامية على Mannitol salt agar ، شملت دراسة المستعمرات البكتيرية من حيث اللون والشكل و القوام والحواف والنمو أو عدم النمو على الأوساط التفريقية Differential media والانتقائية Selective media.

2.5.3: الفحوصات الكيموحيوية Biochemical tests

وتشمل :-

الكشف عن إنزيم الكاتيليز Catalase test

تم إجراء الفحص بنقل كمية قليلة من النمو البكتيري النامـي على الوسط الزرعي بعمر 24 ساعة بواسطة العيدان الخشبية المعقمة إلى سطح شريحة زجاجية نظيفة ثم أضيف لها قطرة من 3% بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ، إن ظهور الفقاعات الغازية يدل على النتيجة الموجبة (Collee *et al*., 1996).

الكشف عن انزيم الاوكسيدز Oxidase test

تم إجراء الفحص بنقل كمية من النمو البكتيري بواسطة العيدان الخشبية معقمة الى ورقة ترشيح مشبعة بالكاشف المحضر آنياً، تلون المستعمرات البكتيرية باللون البنفسجي يدل على النتيجة الموجبة للكشف (Collee *et al*., 1996).

إختبار انتاج الهيمولايسين Hemolysin production test:

استُخدم وسط أگار الدم؛ إذ تم تلقيح الوسط بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد إختبارها , وحُضنت الأطباق بدرجة حرارة37°م لمدة 18–24 ساعة. لوحظت النتيجة الموجبة عند حدوث تحلل دموي حول المستعمرة , اذ كان التحلل من نوع التحلل الكامل β- hemolysis، (Levinson and Jawetz, 2000).

اختبار إنتاج مخثر البلازما Coagulase test

تم التحري عن إنزيم مخثر البلازما بالاعتماد على طريقة أنبوبة الاختبار (Tube Test) ، إذ تم إضافة 0.5 ملي لتر من بلازما دم الإنسان غير المخفف إلى أنابيب اختبار حاوية على 0.5 ملي لتر من وسط تربتون الصويا السائل الملقحة بالعزلات البكتيرية المراد التحري عنها وحضنت أنابيب الاختبار في حمام مائي في درجة حرارة 37 °م مدة أربع ساعات ، تم خلالها مراقبة تكون الخثرة لكونها دليلاً على ايجابية الفحص ، أما الأنابيب التي لم تظهر استجابة للاختبار تركت في الحاضنة مدة 24 ساعة وفي درجة حرارة 35 °م للتأكد من النتائج (MacFaddin, 2000) .

اختبار التحري عن المحفظة Capsule

اتبعت طريقة المسحة الرطبة اوالتصبيغ السالب (Negative staining) ، إذ تم إضافة قطرة من صبغة النيكروسين او الحبر الهندي على شريحة زجاجية معقمة ، وأخذ مليء ناقل من مزروع بكتيري فتي بعمر(18-24) ساعة النامي في وسط نقيع القلب- الدماغ الصلب ، ومزج المزروع مع الصبغة مزجاً جيداً ، تم تغطية العينة بغطاء الشريحة الزجاجية ، وتم فحص الشريحة تحت العدسة الزيتية للمجهر الضوئي . أن وجود هالة شفافة غير مصطبغة حول الخلية البكتيرية يعد دليلاً على وجود المحفظة (Stukus, 1997) .

اختبار قابلية الحركة Motility test

اجري الفحص بتلقيح الانابيب الحاوية على وسط الحركة بالمزروع البكتيري وحضن بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 – 48 ساعة، انتشار النمو خارج حدود الطعنة يدل على النتيجة الموجبة .

6.3: حفظ العزلات البكتيرية

الحفظ قصير الأمد

لقحت الأنابيب الحاوية على الوسط المغذي الصلب المائل بالبكتريا المراد حفظها وحضنت في درجة حرارة 37 مº لمدة 24 ساعة، ثم حفظت في درجة 4 مº، وكررت عملية الحفظ لتجديد حيوية العزلات كل شهر، (Forbes *et al.*, 2007).

وسط الحفظ طويل الأمد

حضر هذا الوسط بإضافة 15% من الكليسيرول إلى المرق المغذي المحضر بإذابة 1.5غرام من الوسط في 50 ملي لتر من الماء المقطر، وأكمل الحجم إلى 100 ملي لتر، وعقم بالمؤصدة، وترك ليبرد في درجة حرارة 56 مْ باستعمال الحمام المائي، ووزع على أنابيب اختبار معقمة وذات سدادات محكمة وحفظ في 4 مْ لحين الاستعمال. استعمل هذا الوسط لحفظ البكتريا المعزولة والمشخصة لعدة أشهر في درجة حرارة - 20 مْ (Forbes *et al.*, 2007) .

7.3: التحري عن بكتريا الـ MRSA

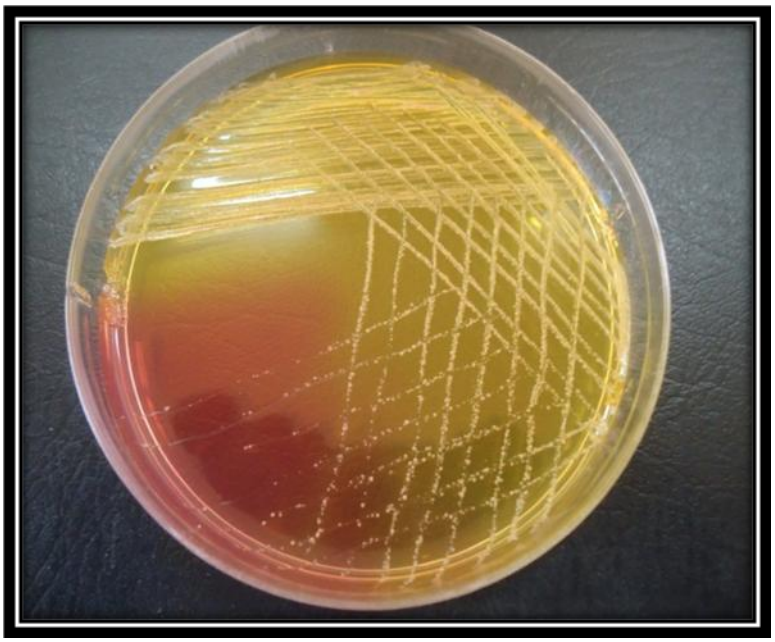
تم التحري عن عزلات MRSA بطريقة التخطيط على الوسط كروم أكار CHROMagar MRSA المجهز من شركة CHROMagar الفرنسية والذي يعدّ وسطاً أختيارياً لعزل وتفريق سلالات المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسيلين (MRSA) بالأعتماد على اللون .

4. النتائج والمناقشة

1.4: عزل وتشخيص بكتريا الـ *S. aureus*

أثبتت الدراسة عائديه 18 عزلة إلى بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* من خلال دراسة بعض الصفات الزرعية والمجهرية والفحوصات الكيموحيوية ، **إذ** إن الصفة التشخيصية المميزة لبكتريا ***S. aureus*** على وسط Mannitol Salt Agar هو ظهورها بمستعمرات صفراء ذهبية وكما مبين بالشكل (1) .كما أظهرت نتائج الفحص المجهري إن خلايا البكتريا المعزولة كروية الشكل ، عنقودية الترتيب ، موجبة لصبغة غرام, ومكونة للمحفظة .

ثم شخصت العزلات النامية على الوسط الانتقائي بالاعتماد على الفحوصات الكيموحيوية ، إذ أظهرت النتائج استجابة 18 عزلة بنسبة (100%) لكل من اختبار الكتاليز وCoagulase test وتخمر المانيتول , بينما اظهرت جميع العزلات نتيجة سالبة لاختبار الاوكسيديز كما موضح في الجدول (1) .



الشكل (1) مستعمرات بكتريا *S. aureus* النامية على وسط Mannitol Salt Agar

جدول (1) الفحوصات التشخيصية لـ (18) عـــــزلة *S. aureus*

نوع الاختبار	عدد البكتريا الموجبة	النسبة المئوية (%)
Gram stain	18	%100
اختبار الكتاليز	18	%100
اختبار الأوكسيديز	0	%0
اختبار مخثر البلازما الحر	18	%100
تخمرالمانيتول	18	%100
التحلل الدموي	18	%100

2.4: الاعداد والنسب المئوية لعزل بكتريا الـ *S. aureus*

شخصت 18 عزلة (28.1 %) من مجموع العينات 64 وكانت أعلى نسبة عزل لبكتريا الـ *S. aureus* من اخماج الحروق وبنسبة (**14%**) كما مبين في الجدول (2), يليها الخراج بنسبة عزل (7.8%) بينما كانت أدنى نسبة عزل لبكتريا الـ *S. aureus* من الجروح وبنسبة عزل (6.25%) اما اخماج الأذن لم تسجل وجود إصابات ببكتريا *S. aureus* . من جهة أخرى تم توزيع عزلات الـ *S. aureus* حسب الفئات العمرية ،اذ أظهرت النتائج المبينة في جدول (3) ان الفئة العمرية من 1- 10 سنوات اكثرعرضة للاصابة ببكتريا *S. aureus* واقل فئة تتواجد فيها بكتريا *S. aureus* هي فئة الشباب 20-30 سنة.

جدول (2) الاعداد والنسب المئوية لعزل بكتريا الـ *S. aureus* من عينات سريرية مختلفة

مصدر العينات	عدد العينات	العزلات الموجبة	النسبة المئوية (%)
***مسحات الأذن**	12	0	%0
مسحات الجروح	12	4	%6.25
الخراجات	12	5	%7.8
مسحات الحروق	12	9	%14
المجموع	64	18	%28.1

جدول (3) : توزيع عزلات ***S. aureus*** حسب الفئات العمرية .

الفئة العمرية	مسحات الاذن	الجروح	الخراج	الحروق
1-10 سنة	(%0.0)0	(%11.1) 2	(%0.0)0	(%22.2)4
10-20 سنة	(%0.0)0	(%5.5)1	(%11.1) 2	(%11.1) 2
20-30 سنة	(%0.0)0	(%0.0)0	(%0.0)0	(%5.5)1
30 سنة وأكثر	(%0.0)0	(%5.5)1	(%16.6) 3	(%11.1) 2
المجموع	(%0.0)0	(%22.2)4	(%27.8) 5	(%50)9

يمكن الاستنتاج بان نسبة العزل في الدراسة الحالية مرتفعة مقارنة بنسب العزل للدراسات الإخرى اذ كانت نسبة عزل *S. aureus* من الحروق في الدراسة الحالية أعلى من نسبة العزل في دراسة Al-Hassnawi (2012) التي بلغت (4.3%) ودراسة Al-Fu'adi (2010) التي بلغت (0.0%) , وكانت النسبة اقل من نسبة في دراسة حموشي (2004) ودراسة الخضيري (2008) التي بلغت (40%) و (41.7%) على التوالي , ولكون الحروق هي حالات اختراق للحواجز المناعية فان أي تواجد لبكتريا *S. aureus* المنتجة للذيفانات يعد مؤشرا خطرا وبارتفاع نسبة الاستعمار ترتفع معها درجات الخطورة .

تعــد *S. aureus* أحد أهم الأسباب الرئيسية في إنتاج وتكوين أخماج الجروح وبسبب قدرتها الكامنة على الغزو والهجوم تحصل عملية إحداث المرض ومن ثم التسبب في إحداث أخماج في مناطق واسعة من الجسم (Murphy *et al*., 2001) ، وتحدث الأخماج العنقودية عندما تخترق الحواجز المناعية مثل الجلد والحواجز المخاطية أو عند دخول أجسام غريبة ، وقد يكون الشــخص المخمج يعاني أصلا من ضعفٍ في المناعية (CDC, 2001).

ويعد الجلد منبتا طبيعياً للبكتريا التعايشية إلا أن ارتفاع نسب الاستيطان والاستعمار يزيد من احتمالية تواجد السلالات ذات الطبيعة الانتهازية التي يظهر أثرها الواضح عند انخفاض القدرة المناعية للمريض وهذا ما أكده Murphy وجماعته (2001) ، وبذلك تكون نسب حدوث الإصابات والأخماج الجلدية في مناطق الجسم المختلفة تتأثر بشكل أو بآخر مع نسب الاستيطان والاستعمار وتتأثر تأثرا مباشراً بمقدار ما تمتلكه البكتريا من عوامل الضراوة ومستوى الحالة المناعية للأشخاص الأصحاء والمخمجين ، ويمكن عد نسبة العزل البكتيري من الجلد نسبة مشروطة اعتمادا على مدى ضراوة العزلات والحالة الصحية للأشخاص ومقدار تأثير الظروف المحيطة ولايمكن العزل بين النسب المأخوذة من الجلد والنسب الأخرى ذات العلاقة مثل نسبة العزل من الجروح أو الحروق لما لذلك من ارتباط شديد . تتحكم بعملية الاستيطان في مناطق الجلد المختلفة عدة عوامل مثل عوامل الالتصاق المصاحبة للسطح مثل التركيب المحفظي والإنزيمات الخارج خلوية والذيفانات الخارجية ، وهذه النواتج تسمح لبكتريا *S. aureus* بالالتصاق مع أغشية الخلايا حقيقية النواة وبذلك تقاوم عملية البلعمة ، وبالتالي تحصــل عمــلية تحــلل للخلايا حقيــقية النـــواة (Lyse eukaryotic cells) وبسبب تكرار عملية الالتصاق لبكتريا *S. aureus* وتكرار إنتاج البروتينات الخارجية مما يجعل من الصعوبة معرفة العامل الفردي الذي يؤدي دوراً في تحديد عملية الاستيطان أو العامل المساهم بشكل رئيسي في إحداث المرض (Murphy *et al*., 2001).

3.4: التحري عن المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسيلين MRSA

تم استخدام وسط كروم أكار CHROM agar MRSA للتحري عن المكورات العنقوددية الذهبية ، نميت جميع عزلات *S .aureus* قيد الدراسة البالغة (18) عزلة على وسط CHROM agar MRSA اذ أظهرت (8) عزلات وبنسبة (44.4%) قدرتها على مقاومة مضاد المثيسيلين والنمو على وسط CHROM agar MRSA وظهورها باللون الوردي الخاص ب (MRSA) وكما مبين في الشكل (4) .

يعمل وسط CHROMagar MRSA على تثبيط نمو المكورات العنقودية الحساسة للمثيسيلين Methicillin Susceptible *Staphylococcus aureus* لذلك يعّد وسط أختياري لعزل وتفريق سلالات MRSA وحتى ضمن المستويات القليلة ، ويمتاز بسهولة الأستعمال والسرعة في أعطاء النتائج بالأعتماد على اللون بعد فترة حضن من 18-24 ساعة ولايتأثر بظروف معينة مقارنةً مع طريقة التخطيط على الوسط الزرعي المدعم بالمضاد الحيوي المثيسيلين أو الأوكزاسيلين التي تترافق معها شروط خاصة مثل خفض درجة الحرارة واستعمال لقاح مباشـــر (غير كثيف) ، ومدة حضن لا تتجاوز 24 ساعة (NCCLS, 2003a) لكون درجة الحرارة الواطئة 30 مْ غـير المتطــرفة تســمح للعزلات المقاومة بالنمو جيداً ، فضلاً عن أن هذه المدة كافية لتمكين MSSA من النمو ولو بمقدار ضئيل جداً مما يؤثر على التشخيص والتي قد تؤدي إلى إعطاء نتائج خاطئة ، كما أن اللقاح المباشر (غير الكثيف) يشجع البكتريا المقاومة للمثيسيلين بالنمو ، ويقلل من فرص نمو البكتريا الحساسة (Brown, 2001).

الشكل (4) : مستعمرات بكتريا MRSA النامية على وسط CHROM agar MRSA

4.4: النسب المئوية لعزل MRSA من حالات سريية مختلفة

بينت النتائج الموضحة في جدول رقم (4) ان اعلى نسبة عزل لبكتريا **MRSA** كانت من الحروق وبنسبة22.2 % تليها الخراج والجروح وبنسب متساوية 11.1% .

جدول (4) النسب المئوية لعزل **MRSA** من عينات سريرية مختلفة.

مصدر العينات	عدد عزلات الـ MRSA	النسبة المئوية (%)
مسحات الجروح	2	%11.1
الخراجات	2	%11.1
مسحات الحروق	4	%22.2
المجموع	8	%44.4

إن نسبة عزل MRSA في الدراسة الحالية المشخصة بأستعمال وسط كروم أكار MRSA أعلى من النسب المسجلة في دراسة Nguyen وجماعته (2006) ودراسة Cesur وجماعته (2010) التي بلغت (9.3%) و (35.7%) على التوالي , أن أرتفاع عزلات MRSA مقارنة بالدراسات الأخرى تشكل خطورة عالية في الحـــالات المرضية ذات التعقيدات العلاجية ، اذ تمتاز عزلات MRSA المتوطنة في المستشفيات بمقدار تحكمها بالعلاج المقدم إذ تشكل ضغطاً لانتقاء علاجات نوعية ومـــحددة لان العلاقة بين المقاومة للمثيسيلين ومضادات البيتالاكتام والمقاومة المتعددة للمضادات الحيوية الأخرى علاقة مترابطة وطردية اذ تؤثر على سلسلة المضادات الحيوية المقدمة للشخص الذي يعاني مسبقاً من اصابات خطرة ، وبالتالي فان الإصابة بـ MRSA المتوطنة يشكل عبئاً آخر على جدول المضادات الحيوية المقدمة إليه (Griffiths *et al*., 2004) .

الاستنتاجات والتوصيات

الاستنتاجات Conclusions :

1. ان اعلى نسبة عزل لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية كانت من الحروق
2. انتشار السلالات المقاومة للمثيسلين MRSA بشكل متزايد داخل المستشفيات من بين بكتريا العنقوديات الذهبية المسببة لعدوى المستشفيات

التوصيات Recommendations

1 -ضرورة اعتماد طريقة التخطيط على الوسط الزرعي CHROMagar MRSA في العمل المختبري وذلك لسهولة الأستعمال والسرعة في اعطاء النتائج .

2 -استعمال تقنية Real-Time PCRو تقنية الـ PCR للتحري عن جينات المسؤولة عن عوامل الضراوة في بكتريا الـ MRSA.

المصادر العربية :

حموشي , رواء محمود داؤد (2004) . التأثير التثبيطي لعدد من النباتات الطبية على جرثومة *Staphylococcus aureus* المعزولة من أخماج جلدية مختلفة . رسالة ماجستير. كلية التربية . جامعة الموصل .

الخضيري , ميعاد كاظم علي (2008) . دراسة بكتريولوجية ووراثية للمكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسيلين المعزولة من مستشفيات مدينة النجف . رسالة ماجستير. كلية التربية للبنات . جامعة الكوفة .

المصادر الأجنبية :

Al-Fu'adi, A.H.H. (2010). Phenotypic and Genotypic (*mecA* gene) of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolates in Dewaniya City . M.Sc thesis. Babylon university . College of medicine .

Al-hassnawi, H.H. (2012) . Molecular Characterization of Antibiotic Resistance and Virulence Factors of Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* (MRSA) Isolated from Clinical Cases in Babylon Province . PhD. thesis. College of Medicine.University of Babylon..

Al-Rawahi, G. N.; Schreader, A. G.; Porter, S. D.; Roscoe, D. L.; Gustafson, R.; and Bryce, E. A. (2008). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* nasal carriage among injection drug users: six years later. J. Clin. Microbiol. **46**: 477-479.

Brasel, K.J. and J.A. Weigelt. (2007) . Community-Acquired MRSA as a Pathogen.P.43-54. In, J.A. Weigelt (ed.). MRSA. Informa Healthcare, New York.

Brooks, G.F., Butel, J.S. & Morse. S.A. (1998). Jawetz, Melinck and Adelberg's Medical Microbiology .21st ed. Appleton and lange, Asimon and Schuster Co., California.

Brown, D. F. (2001). Detection of methicillin/oxacillin resistance in staphylococci. J. Antimicrob. Chemother. **48** (1): 65-70.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2001). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* skin of soft tissue infections in a state prison-Mississippi, 2000. Morb. Mortal. Wkly. Rep. **50**: 919-922.

Cesur S, Yildiz E, Irmak H, Aygün Z, Karakoç E, Kinikli S, Demiröz AP. (2010). Evaluation of oxacillin resistance screening agar and chromogenic MRSA agar media for the detection of methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* clinical isolates. Mikrobiyol Bul. **44**(2):279-284.

Chambers, H. F.; and Neu, H. C. (1995). Principles and practice of infectious diseases. Churchill Livingstone, N.Y. **1**: 233-246.

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

Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmiom, B. P.; and Simmon, A. (1996). Mackie and McCarteny, Practical Medical Microbiology. 4th ed. Churchill Livingstone inc., USA.

Cox , R .; Mellaghan , C.; Conquest , C . and King , J .(1995).Epidemic methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* :controlling the spread outside the hospital . J . Hosp. Infect . **29** : 107 - 119 .

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

Diep, B. A.; Sensabaugh, G. F.; Somboona, N. S.; Carleton, H. A.; and Perdreau-Remington, F. (2004). Widespread skin and soft-tissue infections due to two methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains harboring the genes for Panton-Valentine leucocidin. J. Clin. Microbiol. **42**: 2080-2084.

Entenza, J. M., Foster, T. J., Ni Eidhin,D., Vaudaux, P., Francioli, P. and Moreillon, P.(2000). Contribution of clumping factor B to pathogenesis of experimental endocarditis due to *Staphylococcus aureus*. Infect. Immun. **68**:5443-5446.

Falcao, M.H.L.; Texeira, L.A.; Ferreira-Carvalho, B.T.; Burges–Neto, A.A. and Figueiredo, A.M.S. (1999). Occurrence of Methicillin–Resistant and Susceptibile *Staphylococcus aureus* with a single colony contributing to MRSA mis–identification. J. Med. Microbiol. **48**:515-521.

Forbes, B.A., Sahm, D.F., and Weissfeild, A.S. (2007). Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed. Mosby, USA. pp: 323.

Griffiths, C.; Lamagni, T. L.; Crowcroft, N. S.; Duckworth, G.; and Rooney, C. (2004). Trends in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in England and Wales: analysis of morbidity and mortality data for 1993-2002. Health Stat. Q. 15-22.

Ito, T. X.; Ma, X.; Takeuchi, F.; Okuma, K.; Yuzawa, H.; and Hiramatsu, K. (2004). Novel type V staphylococcal cassette chromosome *mec* driven by a novel cassette chromosome recombines, *ccrC*. Antimicrob. Agents Chemother. **48**: 2637-2651.

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

Jones , R .; Barret , M . and Erwin , M . (1997) . Invitro activity and spectrum of Ly 333228 anovel glycopeptide derivative antimicrob. agent . Chemoth . **41** : 488 - 493 .

Kenneth, T . (2002) . The bacterial flora of Human , University of Wisconsin – Madison . Department of bacteriology .

Koneman, E. W.; Allen, S. D.; and Janda, W. M. (1992). Color atlas and textbook of diagnostic microbiology, 4ed. J. B. Lippincott.

Philadelphia, USA.

Lee, E.; Ulrich, R.; Goldmann, Y.; and Wang, D. A. (2004). *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharide/adhesion. Infect. Immun. **34**: 432-438.

Levinson, W. and Jawetz, E. (2000). Medical Microbiology and Immunology. Examination and Board Review. 6th ed., McGraw-Hill, International Editions. Health Professions Series.

MacFaddin, J. F. (2000). Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria 3rd ed. Lippincott Williams and Wilkins, USA.

McKinney, T. K.; Sharma, V. K.; Craig, W. A.; and Archer, G. L. (2001) . Transcription of the gene mediating methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* (*mecA*) is co repressed but not co induced by cognate *mecA* and ß-lactamase regulators. J. Bacteriol. **183**: 6862-6868.

Munoz, A.; Alvanez, O.; Alonso, B. & Liovo, J. (1999). Lectin tuping of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J. Med. Microbiol, **48**: 495-499.

Murphy, G. J.; Pararajasingam, R.; and Nasim, A. (2001). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in vascular surgery patients. Ann. R. Coll. Surg. Engl. **83**: 158-163.

Murray, P. R.; Rosenthal, K. S.; and Pfaller, M. A. (2009) . John, F. K. Kennedy. Medical microbiology. 6th edition. Mosby Elsevier. U.K.

Murray,P. R.; Baron, E. J.; Tenover, F. C., and Yolken, R. H. (1999). Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for microbiology. ASM Press. Washington. D. C.

Nair, S. P.; Williams, R. J.; and Henderson, B. (2000). Advances in our understanding of the bone and joint pathology caused by *Staphylococcus aureus* infection. Rheumatol. **39** :131-138.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) . (2003a) . Performance standards for disk susceptibility testing; approved standard, 6th ed. M 100-S13. NCCLS, Wayne, Pa.

Nguyen Van JC, Kitzis MD, Ly A, Chalfine A, Carlet J, Ben Ali A, Goldstein F. (2006) . Detection of nasal colonization methicillin-resistant Staphylococcus aureus: a prospective study comparing real-time genic amplification assay vs selective chromogenic media . Pathol Biol (Paris). **54**(5):285-292.

Omoe, K.; Ishikawa, M.; Shimoda, Y.; Hu, D. L.; Ueda, S.; and Shinagawa, K. (2002). Detection of *seg*, *seh*, or *sei* genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S. aureus* isolates harboring *seg*, *seh*, or *sei* genes. J. Clin. Microbiol. **40**: 857-862.

O'Riodan, K.; and Lee, J. C. (2004). *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. **17** (1): 218-234.

Prevost,G.; Couppie,P.; and Monteil,H. (2003). Staphylococcal epidermolysins carrapin .J.infect. Dis., **16** (2) :71 -76.

Roder,B. L. ; Wandall, D. A. ; Moller, N. F. ; Espersen, F. ; Skinhoj, P. and Rosdahl, V. T. (1999). Clinical features of staphylococcus aureus endocarditic. Arch. Intern. Med. **159** : 462-469.

Ryan, K. J.; and Ray, C. G. (2004). Sherris Medical Microbiology 4th ed. McGraw-Hill-NewYork.

Taguchi *et al* . (2004) . The Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases, 54-58.

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

Waldron, D. E.; and Lindsay, J. A. (2006). Sau1: a novel lineage-specific type I restriction-modification system that blocks horizontal gene

transfer into *Staphylococcus aureus* and between *S. aureus* isolates of Different Lineages. J. Bacteriol. **188**: 5578-5585.

Wann,E.R; Fehringer,A.P.; Ezepchuk,Y.V.; Schlievert,P. M. ; Bina,P .; Reiser,R.F.; Hook,M.M.; and Leug,D.Y. (1999) . *Staphylococcus aureus* isolates from patients with kawasaki disease express high levels of protein A. J.Infect.Immun., **67**: 4737- 4743.

World Health Organization (WHO). (2001b) . Prevention and control of *Staphylococcus aureus* infections . Geneva, Switzerland.

Zadik, P.M.; Davies, S.; Wttittaker, S. and Muson, C. (2001). Evaluation of new selective medium for methicillin-resistance *Staphylococcus aureus.* J. Med. Microbial. **50**:476-479.