



جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة القادسية / كلية التربية
قسم علوم الحياة

دراسة بكتيرية وجزيئية مقارنة لعزلات المكورات العنقودية المعزولة من أجسام العاملين في وحدات المفراس والرئتين المغناطيسي وتلك المعزولة من حاملي الأغذية

رسالة مقدمة الى عمادة كلية التربية / جامعة القادسية
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير
في علوم الحياة / أحياء مجهرية

من قبل الطالب
سيف لطيف شاكر

بإشراف
أ.م. علي عبد رحيم الناشي

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

أَلَمْ تَرَوْا أَنَّ اللَّهَ سَخَّرَ لَكُمْ مَّا فِي السَّمَوَاتِ وَمَا فِي الْأَرْضِ وَأَسْبَغَ
عَلَيْكُمْ نِعْمَهُ وَظَاهَرَهُ بِطَانَةً وَمِنَ النَّاسِ مَن يُجَادِلُ فِي اللَّهِ بِغَيْرِ عِلْمٍ
وَلَا هُدًى وَلَا كِتَابٍ مُّنِيرٍ ﴿٢٠﴾

صَدَقَ اللَّهُ الْعَلِيُّ الْعَظِيمُ

سورة لقمان / الآية (20)

الإهداء

أهدي ثمرة جهدي المتواضع إلى:

من غرسَ في نفسيَّ حبَّ العلم والتعلم .. نور عيني ومثلي الأعلى .. والدي.

رمز الحنان والعطاء .. والدتي.

من أشدُّ بهم أزرِي .. أخوتي وأخواتي.

ملاذي وملجئي وعوني في السراء والضراء .. توأم روحي .. زوجتي.

برعمي الجميل وبشاشة مقلتي .. ولدي علي.

كلَّ من ساندني وتمنى لي الخير ..



الباحث

شُكْرٌ وَعِرْفَانٌ

بِسْمِ اللَّهِ الَّذِي لَا أَرْجُو إِلَّا فَضْلَهُ وَلَا أَخْشَى إِلَّا عَدْلَهُ وَلَا أَعْتَمِدُ إِلَّا قَوْلَهُ وَلَا أَمْسِكُ إِلَّا بِحَبْلِهِ،
وَالصَّلَاةَ وَالسَّلَامَ عَلَى سَيِّدِ الْأَنْبَاءِ نَبِيِّنَا الْمُصْطَفَى الْأَمِينِ وَعَلَى آلِهِ الْغُرِّ الْمِيَامِينَ وَصَحْبِهِ الْمُنْتَجِبِينَ.
فَالْحَمْدُ لِلَّهِ أَوْلَى وَأَخْرَأً عَلَى حُسْنِ تَوْفِيقِهِ، وَكَرِيمِ عَوْنِهِ، وَسَبُوحِ نِعْمَائِهِ عَلَيَّ فِي إِنْجَازِ رِسَالَتِي.

وَأَنَا أضعُ اللَّمَسَاتِ الْأَخِيرَةَ لِإِتْمَامِ هَذِهِ الرِّسَالَةِ أَنْتَقِمْ بِفَائِقِ شُكْرِي وَأَمْتِنَانِي إِلَى مُشْرِفِي الْأَسْتَاذِ
المُسَاعِدِ عَلِيِّ عَبْدِ رَحِيمِ النَّاشِي لِإِقْتِرَاحِهِ مَوْضُوعَ الرِّسَالَةِ وَإِشْرَافِهِ عَلَيْهَا وَتَقْدِيمِهِ النَّصَائِحَ الْعِلْمِيَّةَ
الْقِيَمَةَ طَيِّلَةَ فِتْرَةِ البَحْثِ وَالكِتَابَةِ فَجَزَاهُ اللَّهُ عَنِي خَيْرَ الْجَزَاءِ.

وَالوَفَاءُ يَقْتَضِي أَنْ أَتَوَجَّهَ بِالشُّكْرِ وَالْعِرْفَانِ إِلَى رِئَاسَةِ جَامِعَةِ القَادِسِيَّةِ، وَعِمَادَةِ كَلِيَّةِ التَّرْبِيَّةِ،
وَرِئَاسَةِ قِسْمِ عُلُومِ الْحَيَاةِ مَتَمَثِّلَةً بِشَخْصِهَا الْأَسْتَاذِ المُسَاعِدِ الدُّكْتُورِ أَحْمَدِ جَاسِمِ النَّائِلِي، وَإِلَى أَسَاتِذَتِي
الأَفْضَلِ وَمُنْتَسِبِي القِسْمِ كَافَةً لِمَا قَدَّمَهُ مِنْ دَعْمٍ وَمُسَاعَدَةٍ جَلِيلَةٍ طَوَالَ مَدَّةِ الدِّرَاسَةِ.

كَمَا أَقْدِمُ فَائِقَ شُكْرِي وَتَقْدِيرِي إِلَى إِخْوَتِي وَزَمَلَائِي الأَعْزَاءِ مُنْتَسِبِي مُخْتَبِرِ الأَحْيَاءِ المَجْهَرِيَّةِ
فِي مَسْتَشْفَى النِّسَائِيَّةِ وَالأَطْفَالِ التَّعْلِيمِي/الذِّيوانِيَّةِ، خَاصًّا بِالذِّكْرِ مِنْهُمُ الأَسْتَاذَ أُنْمَارَ حَمِيدِ الفُؤَادِي
وَالسَّتِ هَيْفَاءَ كَازِمٍ، وَالسَّتِ سَمِيرَةَ رَشِيدٍ، وَالسَّتِ أُسَيْلَ يَوْسُفَ لِمُسَاعَدَاتِهِمْ غَيْرِ المَحْدُودَةِ وَدَعْمِهِمْ
المُتَوَاصِلِ طَيِّلَةَ فِتْرَةِ البَحْثِ. وَلَا يَفُوتُنِي أَنْ أَقْدِمُ جَزِيلَ شُكْرِي إِلَى الإِخْوَةِ العَامِلِينَ فِي وَحْدَاتِ الرِّنِينَ
المَغْنَاطِيْسِيِّ وَالمُفْرَاسِ الحَلْزُونِيِّ وَالأَشْعَةِ السِّينِيَّةِ فِي مَسْتَشْفَىاتِ الذِّيوانِيَّةِ كَافَةً فَضلاً عَنِ العَامِلِينَ فِي
المَطَاعِمِ لِمَا قَدَّمَهُ مِنْ مَعُونَةٍ خَالِصَةٍ فِي الحِصُولِ عَلَى عَيِّنَاتِ البَحْثِ. وَأُجْزِلُ شُكْرِي وَتَقْدِيرِي إِلَى
مُنْتَسِبِي وَحْدَةِ الأَحْيَاءِ المَجْهَرِيَّةِ فِي كَلِيَّةِ الطَّبِّ البِيْطَرِيِّ/جَامِعَةِ القَادِسِيَّةِ لِمُسَاعَدَتِهِمْ فِي تَوْفِيرِ بَعْضِ
المَوَادِّ المَهْمَةِ لِلْبَحْثِ.

وَأخِيرًا أُخْلِصُ عِبَارَاتِ شُكْرِي وَتَقْدِيرِي إِلَى كُلِّ مَنْ رَافَقَ طَرِيقَ عَمَلِي وَأَمَدَّنِي بِالمُسَاعَدَةِ مِنْ
زَمَلَائِي طَلَبَةِ الدِّرَاسَاتِ العَلِيَا، وَلَا سَيِّمًا الصَّدِيقَ رَائِدَ رِزَاقِ عَجِيمِي، وَإِلَى كُلِّ يَدٍ مَدَّتْ لِي العَوْنَ،
فَأَسْتَحَقُّ مَنِّي شُكْرَهَا، وَلَمْ تَسْعَفْنِي الذَّاكِرَةُ عَلَى تَذَكُّرِهَا.. وَاللَّهُ وَلِي التَّوْفِيقِ.



الباحث

إقرار المشرف

أشهد أنّ إعداد الرسالة الموسومة بـ: (دراسة بكتيرية وجزئية مقارنة لعزلات المكورات العنقودية المعزولة من أجسام العاملين في وحدات المفراس والرنين المغناطيسي وتلك المعزولة من حاملي الأغذية) جرى تحت إشرافي في قسم علوم الحياة/ كلية التربية/ جامعة القادسية، وهي من متطلبات نيل شهادة الماجستير في علوم الحياة/ أحياء مجهرية.



التوقيع:

المشرف: علي عبد رحيم الناشي

اللقب العلمي: أستاذ مساعد

العنوان: كلية التربية/ جامعة القادسية

التاريخ: 2018 / 1 / 24

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة المتوافرة، أُرشح هذه الرسالة للمناقشة.



التوقيع:

الأسم: د. أحمد جاسم حسن

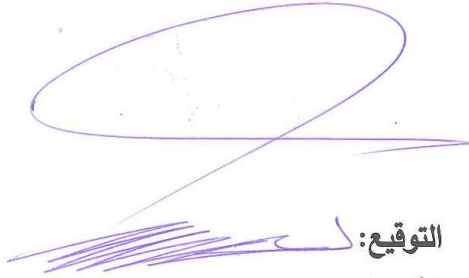
اللقب العلمي: أستاذ مساعد

التاريخ: 2018 / 1 / 24



إقرار المقوم اللغوي

أشهد أنّ الرسالة الموسومة بـ: (دراسة بكتيرية وجزئية مقارنة لعزلات المكورات العنقودية المعزولة من أجسام العاملين في وحدات المفراس والرنين المغناطيسي وتلك المعزولة من حاملي الأغذية) تمّت مراجعتها لغوياً وأسلوبياً، فأصبحت بذلك مؤهلة للمناقشة على قدر تعلق الأمر بالسلامة اللغوية.



التوقيع: د. كامل عبد ربه حمدان

اللقب العلمي: أستاذ

التاريخ: 24 / 1 / 2018

إقرار لجنة المناقشة

نشهد نحن أعضاء لجنة المناقشة الموقعين في أدناه بأننا أطلعنا على الرسالة الموسومة بـ: (دراسة بكتيرية وجزيئية مقارنة لعزلات المكورات العنقودية المعزولة من أجسام العاملين في وحدات المفراس والرنين المغناطيسي وتلك المعزولة من حاملي الأغذية)، وناقشنا الطالب (سيف لطيف شاكر) في محتوياتها وفيما له علاقة بها، بتاريخ 9 / 1 / 2018 فوجدناها جديرة بالقبول لنيل شهادة الماجستير في علوم الحياة/ أحياء المجهرية وبتقدير أمتياز .

عضو اللجنة
التوقيع:
الأسم: أ. د. أزهار نوري حسين
العنوان: جامعة القادسية/ كلية الصيدلة
التاريخ: 2018 / 1 / 23

رئيس اللجنة
التوقيع:
الأسم: أ. د. قاسم نجم ثويني
العنوان: جامعة القاسم الخضراء/ كلية التقانات الأحيائية
التاريخ: 2018 / 1 / 23

عضو اللجنة والمشرف
التوقيع:
الأسم: أ. م. علي عبد رحيم الناوشي
العنوان: جامعة القادسية/ كلية التربية
التاريخ: 2018 / 1 / 24

عضو اللجنة
التوقيع:
الأسم: أ. م. د. وفاء عبد الواحد جحيل
العنوان: جامعة القادسية/ كلية التقانات الأحيائية
التاريخ: 2018 / 1 / 23

التوقيع:
الأسم: خالد جواد العادلي
المنصب: عميد كلية التربية
اللقب العلمي: أستاذ دكتور
التاريخ: 2018 / 1 / 25

مصادقة عمادة كلية التربية - جامعة القادسية

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية إلى عزل وتشخيص بكتريا *Staphylococcus spp.* من مناطق مختلفة من أجسام العاملين ولكلا الجنسين (الذكور والإناث) في وحدات الرنين المغناطيسي، والمفراس الحزوني، والأشعة السينية، فضلاً عن حاملي الأغذية، بإستعمال بعض طرق الكشف المظهري والجزئي إلى جانب الكشف عن بعض عوامل ضراوتها مظهرياً ووراثياً؛ إذ جُمعت هذه العزلات ضمن نطاق المستشفيات الواقعة في محافظة الديوانية للفترة من 1 / 11 / 2016 وحتى 1 / 4 / 2017 وبمجموع 200 عينة توزعت على 50 عينة لكل وحدة.

شُخِّصت العزلات البكتيرية بعد زراعتها على الأوساط الزرعية وفحصها مجهرياً فضلاً عن إستعمال بعض الإختبارات الكيموحيوية عليها؛ إذ تصدَّرت بكتريا المكورات العنقودية *Staphylococcus spp.* أعلى نسبة بلغت 34.50% من المجموع الكلي للعينات (200 عينة) تلتها بكتريا *Micrococcus spp.* بنسبة 17.50%، ثمَّ *Streptococcus pyogenes* بنسبة 6.50%، وتوالت بعدها بعض الأنواع البكتيرية التي أحرزت نسباً قليلةً مقارنةً بالمذكورة منها، كما أحرزت الأنواع التابعة لجنس المكورات العنقودية (*Staph. epidermidis* و *Staph. aureus* و *Staph. haemolyticus*) أعلى تردداً في عدد العزلات (57 عزلة) التي توزَّعت على 23 و 21 و 13 عزلة على التوالي، إلى جانب تأكيد تشخيصها بواسطة نظام API-20، وأختُبرت قدرتها جميعاً على أنتاج بعض عوامل الضراوة، فأنتجت الهيموليسين بكلا نوعيه α و β من مصادر عزلها المختلفة وكانت جميع عزلات *Staph. epidermidis* مُنتجة لـ α -haemolysin مقابل أشترك 10 عزلات منها في أنتاج β -haemolysin، وأنتاج 19 عزلة من *Staph. haemolyticus* لـ α -haemolysin، وأشترك 17 عزلة منها في أنتاج β -haemolysin، بينما كانت 10 عزلات من *Staph. aureus* مُنتجة لـ α -haemolysin والباقي مُنتجة لـ β -haemolysin. كما أختُبرت قدرة العزلات على تكوين المحفظة فكانت 10 عزلات من *Staph. epidermidis* و 12 عزلة من *Staph. haemolyticus* و 7 عزلات من *Staph. aureus* مكوّنة للمحفظة. وتضمَّنت العزلات المكوّنة للغشاء الحيوي 13 عزلة من *Staph. epidermidis* و 16 عزلة من *Staph. haemolyticus* و 10 عزلات من *Staph. aureus*.

أختبرت مقاومة العزلات البكتيرية اتجاه 20 مضاداً حياتياً بإستعمال طريقة الإنتشار بالأقراص التي أوضحت أنّ حساسية العزلات للمضادات الحيوية كانت أعلى من مقاومتها لها بإختلاف مناطق العزل؛ إذ أعطت جميع العزلات حساسيتها التامة لمضادات Amikacin و Amoxicillin - Clavulanic acid و Gentamicin و Imipenem و Vancomycin رغم بعض المقاومة التي أبدتها عزلات *Staph. aureus* من وحدات الرنين المغناطيسي والمفراس الحزوني اتجاه مضاد Amikacin بنسبة 33.33 % و 100.00%، على التوالي وكذلك من وحدة الرنين المغناطيسي اتجاه مضاد Gentamicin بنسبة 33.33%، كما تميّزت جميع العزلات بمقاومتها التامة لمضادات Amoxicillin و Ampicillin و Penicillin G على الرغم من بعض التفاوت الحاصل في المقاومة من قبل عزلات *Staph. epidermidis*. فضلاً عن المقاومة المتفاوتة بحسب مصدر العزل والنوع البكتيري التي سجلتها العزلات البكتيرية اتجاه المضادات الأخرى (Azithromycin و Cefoxitin و Ceftriaxone و Chloramphenicol و Ciprofloxacin و Clindamycin و Doxycyclin و Nitrofurantoin و Oxacillin و Penicillin G و Rifampin و Tetracycline و Trimethoprim).

تمّ اختبار مقاومة عزلات المكورات العنقودية للمثيسيلين والمتكوّنة من 17 عزلة من *Staph. epidermidis* و 15 عزلة من *Staph. haemolyticus* و 11 عزلة من *Staph. aureus* مقاومة للمثيسيلين. كما تمّ التحري وراثياً عن عوامل الضراوة المحددة مظهرياً فضلاً عن التشخيص لجميع العزلات بواسطة مورثة 16S rRNA؛ إذ جاءت نتائج التحري المظهري مطابقة لنتائج التحري الوراثي بإستعمال تقنية تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة من حيث إمتلاك العزلات المنتجة للهيمولاييسين بكلاً نوعيه (α و β) على مورثي *hla* المُشفّرة لإنتاج النوع α و *hly* المُشفّرة لإنتاج النوع β ، والعزلات المقاومة للمثيسيلين على مورثة *mecA* المُشفّرة لمقاومته، فضلاً عن أمتلاك العزلات المُنتجة لإنزيمات البيبتالاكتام على مورثة *blaZ* وكذلك العزلات المكوّنة للأغشية الحيوية على مورثة *icaA*.

المحتويات

الصفحة	العنوان
أ - ب	الخلاصة
ج - ط	قائمة المحتويات
و	قائمة الجداول
ز	قائمة الأشكال
ح	قائمة الصور
ح	قائمة الملاحق
ط	قائمة المختصرات
4 - 1	1: المقدمة Introduction
4	1-1: الهدف من الدراسة
30 - 5	2: استعراض المراجع Literatures Review
5	1-2: النبيت الطبيعي لجسم الإنسان
6	1-1-2: النبيت الطبيعي للمسالك الأنفية والحجرة
7	2-1-2: النبيت الطبيعي لأذن الإنسان
7	2-2: المكورات العنقودية
9	1-2-2: جنس المكورات العنقودية
10	1-1-2-2: المكورات العنقودية الموجبة لإنزيم مخثر البلازما
11	2-1-2-2: المكورات العنقودية السالبة لإنزيم مخثر البلازما
12	2-2-2: وبائية المكورات العنقودية
13	3-2-2: أمراضية المكورات العنقودية
15	4-2-2: عوامل الضراوة لبكتريا المكورات العنقودية
15	1-4-2-2: إنتاج المحفظة الدقيقة
16	2-4-2-2: إنتاج إنزيم مخثر البلازما
17	3-4-2-2: تكوين الأغشية الحيوية
18	4-4-2-2: إنتاج الهيموليسين
22	5-4-2-2: إنتاج إنزيمات البيبتالاكتام
23	6-4-2-2: عوامل ضراوة أخرى
24	3-2: المضادات الحيوية
24	1-3-2: البناء الحيوي للمضادات الحيوية
24	2-3-2: آلية عمل المضادات الحيوية
26	3-3-2: مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية

26	4-3-2: مقاومة بكتريا المكورات العنقودية للمضاد الحياتي المثيسيلين
28	4-2: التأثيرات الحيوية للإشعاع المؤين على الخلية البكتيرية
29	1-4-2: التأثير الحيوي للأشعة السينية على الخلية البكتيرية
55 - 31	3: المواد وطرائق العمل Materials and Methods
31	1-3: المواد
31	1-1-3: الأجهزة والأدوات المختبرية
32	2-1-3: المواد المختبرية
32	1-2-1-3: الأوساط الزرعية الجاهزة
33	2-2-1-3: الصبغات والكواشف الجاهزة
34	3-2-1-3: المواد الكيميائية
35	4-2-1-3: المواد المتفرقة
35	5-2-1-3: أقراص المضادات الحياتية
36	6-2-1-3: العدد الجاهزة
37	7-2-1-3: البادئات
39	2-3: طرائق العمل
39	1-2-3: التعقيم
39	2-2-3: تحضير الكواشف والمحاليل
39	1-2-2-3: الكواشف
40	2-2-2-3: المحاليل
41	3-2-3: تحضير الأوساط الزرعية والمحاليل
41	1-3-2-3: الأوساط الزرعية الجاهزة
41	2-3-2-3: الأوساط الزرعية التركيبية
41	4-2-3: جمع العينات
42	5-2-3: زرع العينات
42	6-2-3: تشخيص العزلات البكتيرية
42	1-6-2-3: الصفات الزرعية
43	2-6-2-3: الفحص المجهرى
43	3-6-2-3: الإختبارات الكيموحيوية
46	4-6-2-3: التشخيص بنظام API-20 Staph.
48	7-2-3: حفظ وأدامة العزلات البكتيرية
48	8-2-3: الكشف المظهري عن بعض عوامل الضراوة البكتيرية
49	9-2-3: الكشف عن مقاومة بكتريا المكورات العنقودية للمضادات الحياتية
50	10-2-3: الكشف المظهري عن قابلية بكتريا المكورات العنقودية على أنتاج أنزيمات البيبتالاكتام
50	11-2-3: الكشف المظهري عن بكتريا المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين

51	3-2-12: فحص تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة
55	3-2-13: التحليل الإحصائي
90 - 56	4: النتائج والمناقشة Results and Discussion
56	4-1: العزل والتشخيص
63	4-2: الكشف المظهري عن بعض عوامل الضراوة
63	4-2-1: إنتاج الهيمولايسين
65	4-2-2: تكوين المحفظة
66	4-2-3: تكوين الغشاء الحيوي
68	4-3: الكشف عن مقاومة بكتريا المكورات العنقودية للمضادات الحياتية
78	4-4: الكشف المظهري عن قابلية بكتريا المكورات العنقودية على أنتاج أنزيمات البيبتالاكتام
79	4-5: الكشف المظهري عن المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين
81	4-6: الكشف الوراثي عن هوية المكورات العنقودية وبعض عوامل ضراوتها ومقاومتها للمضادات الحياتية المحددة مظهرياً
91	5: الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations
91	5-1: الاستنتاجات
91	5-2: التوصيات
118 - 92	6: المصادر References
92	6-1: المصادر العربية
93	6-2: المصادر الأجنبية
A - B	Summary

قائمة الجداول

الصفحة	العنوان
6	جدول 2-1: توزيع البكتريا الشائعة على سطح جسم الإنسان
15	جدول 2-2: الأمراض التي تسببها بكتريا العنقوديات الذهبية <i>Staphylococcus spp.</i>
25	جدول 2-3: مجاميع المضادات الحياتية الموزعة بحسب موقع الهدف ومستوى الفعالية
31	جدول 3-1: الأجهزة والأدوات المختبرية المستعملة قيد الدراسة ومناقشتها
32	جدول 3-2: الأوساط الزرعية الجاهزة المستعملة قيد الدراسة ومناقشتها
32	جدول 3-3: الصبغات والكواشف الجاهزة المستعملة قيد الدراسة ومناقشتها
33	جدول 3-4: المواد الكيميائية المستعملة قيد الدراسة ومناقشتها
34	جدول 3-5: المواد المتفرقة المستعملة قيد الدراسة ومصدرها
34	جدول 3-6: أقرص المضادات الحياتية ورموزها وتراكيزها المستعملة قيد الدراسة، المُجهزة من شركة Bioanalyse التركيبية
35	جدول 3-7: الغُدد الجاهزة المستعملة قيد الدراسة ومكوناتها ومناقشتها
36	جدول 3-8: البادئات المستعملة قيد الدراسة وتسلسل قواعدها النتروجينية وحجوم نواتج التضخيم
52	جدول 3-9: مكونات وحجوم مزيج تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة (PCR Master Mix)
52	جدول 3-10: الظروف المثلى لتضخيم DNA بواسطة المضخم الحراري حسب نوع البادئ لبكتريا المكورات العنقودية
58	جدول 4-1: الإختبارات المجهرية والكيموحيوية للبكتريا المعزولة
60	جدول 4-2: توزيع العينات البكتيرية بحسب مناطق عزلها من الجسم
64	جدول 4-3: قابلية عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر عزلها على إنتاج الهيموليسين α و β مظهرياً
66	جدول 4-4: قابلية عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر عزلها على تكوين المحفظة مظهرياً
67	جدول 4-5: قابلية عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر عزلها على تكوين الغشاء الحيوي مظهرياً
79	جدول 4-6: قابلية عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر عزلها على إنتاج أنزيمات البيتالاكتام مظهرياً
80	جدول 4-7: الكشف المظهري عن المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين

قائمة الأشكال

الصفحة	العنوان
37	شكل 3-1: مخطط توضيحي لخطوات العمل المتبّعة قيد الدراسة
56	شكل 4-1: توزيع العينات البكتيرية بحسب جنس العاملين من مصادر العزل (العدد الكلي = 200)
61	شكل 4-2: توزيع العزلات البكتيرية بحسب أجناسها (العدد الكلي = 135)
62	شكل 4-3: توزيع عزلات المكورات العنقودية بحسب أنواعها (العدد الكلي = 69)
70	شكل 4-4: مقاومة عزلات <i>Staph. epidermidis</i> (العدد الكلي = 23) المعزولة من مصادر عزل مختلفة لطيّفٍ واسعٍ من المضادات الحياتية
71	شكل 4-5: مقاومة عزلات <i>Staph. haemolyticus</i> (العدد الكلي = 21) المعزولة من مصادر عزل مختلفة لطيّفٍ واسعٍ من المضادات الحياتية
72	شكل 4-6: مقاومة عزلات <i>Staph. aureus</i> (العدد الكلي = 13) المعزولة من مصادر عزل مختلفة لطيّفٍ واسعٍ من المضادات الحياتية
82	شكل 4-7: مورثات بعض عوامل الضراوة ومقاومة المضادات الحياتية لأنواع المكورات العنقودية (العدد الكلي = 69) المعزولة من وحدة الرنين المغناطيسي
83	شكل 4-8: مورثات بعض عوامل الضراوة ومقاومة المضادات الحياتية لأنواع المكورات العنقودية (العدد الكلي = 69) المعزولة من وحدة المفراس الحلزوني
84	شكل 4-9: مورثات بعض عوامل الضراوة ومقاومة المضادات الحياتية لأنواع المكورات العنقودية (العدد الكلي = 69) المعزولة من وحدة الأشعة السينية
85	شكل 4-10: مورثات بعض عوامل الضراوة ومقاومة المضادات الحياتية لأنواع المكورات العنقودية (العدد الكلي = 69) المعزولة من حاملي الأغذية

قائمة الصور

الصفحة	العنوان
59	صورة 4-1: نتائج التشخيص بنظام API-20 Staph. لأنواع جنس المكورات العنقودية
87	صورة 4-2: الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز الحاوي على نتائج فحص تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة (PCR) الخاص بالكشف عن المورثة التشخيصية (16S rRNA) لأنواع المكورات العنقودية تحت فرق جهد 100 فولت وتيار 80 ملي أمبير وزمن 60 دقيقة، ويمثل M (Marker) من 100 - 2000 زوج قاعدي (bp)، بينما تُشير الرموز إلى تسلسل العزلات كما هي واردة في الملحق (4)
88	صورة 4-3: الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز الحاوي على نتائج فحص تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة (PCR) الخاص بالكشف عن مورثات إنتاج الهيموليسين (<i>hla</i> و <i>hlyB</i>) ومقاومة الميثيسيلين (<i>mecA</i>) وأنتاج أنزيمات البيبتالاكتام (<i>blaZ</i>) وتكوين الغشاء الحيوي (<i>icaA</i>) في بكتريا <i>Staph. epidermidis</i> تحت فرق جهد 100 فولت وتيار 80 ملي أمبير وزمن 60 دقيقة، ويمثل M (Marker) من 50 - 1000 زوج قاعدي (bp) بينما تشير الرموز إلى تسلسل العزلات كما هي واردة في الملحق (4)
89	صورة 4-4: الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز الحاوي على نتائج فحص تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة (PCR) الخاص بالكشف عن مورثات إنتاج الهيموليسين (<i>hla</i> و <i>hlyB</i>) ومقاومة الميثيسيلين (<i>mecA</i>) وأنتاج أنزيمات البيبتالاكتام (<i>blaZ</i>) وتكوين الغشاء الحيوي (<i>icaA</i>) في بكتريا <i>Staph. haemolyticus</i> تحت فرق جهد 100 فولت وتيار 80 ملي أمبير وزمن 60 دقيقة، ويمثل M (Marker) من 100 - 2000 زوج قاعدي (bp)، بينما تشير الرموز إلى تسلسل العزلات كما هي واردة في الملحق (4)
90	صورة 4-5: الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز الحاوي على نتائج فحص تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة (PCR) الخاص بالكشف عن مورثات إنتاج الهيموليسين (<i>hla</i> و <i>hlyB</i>) ومقاومة الميثيسيلين (<i>mecA</i>) وأنتاج أنزيمات البيبتالاكتام (<i>blaZ</i>) وتكوين الغشاء الحيوي (<i>icaA</i>) في بكتريا <i>Staph. aureus</i> تحت فرق جهد 100 فولت وتيار 80 ملي أمبير وزمن 60 دقيقة، ويمثل M (Marker) من 100 - 2000 زوج قاعدي (bp)، بينما تشير الرموز إلى تسلسل العزلات كما هي واردة في الملحق (4)

قائمة الملاحق

العنوان
ملحق 1: جميع العزلات البكتيرية بحسب المعايير المحددة للعزل
ملحق 2: القائمة التوضيحية للفحوصات التي تشملها عدة API-20 Staph. التشخيصية عن الشركة المصنعة BioMerieux
ملحق 3: المعدلات القياسية لأقطار التثبيط للمضادات الحياتية أتجاه المكورات العنقودية (CLSI, 2014)
ملحق 4: فحص الحساسية الدوائية لعزلات المكورات العنقودية من مصادر عزلها المختلفة

قائمة المختصرات

المختصر	المصطلح الكامل
SST-1	Shock syndrome toxin-1
CoNS	Coagulase-negative staphylococci
MRSA	Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
MSSA	Methicillin-sensitive <i>Staphylococcus aureus</i>
MSA	Mannitol salt agar
FBP	Fibrinogen binding proteins
SEA	Staphylococcal-Enterotoxin A
SEB	Staphylococcal-Enterotoxin B
SEC	Staphylococcal-Enterotoxin C
SED	Staphylococcal-Enterotoxin D
SEE	Staphylococcal-Enterotoxin E
CRF	Coagulase-reacting factors
CF	Clumping factor
BAP	Biofilm associated proteins
PFT	Pore forming toxin
PVL	Panton-Valentine Leukocidin
SCC _{mec}	Staphylococcal chromosome cassettes <i>mec</i>
TMPD	N,N,N',N'-tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride
PBS	Phosphate buffer saline
API	Analytical Profile Index
PCR	Polymerase Chain Reaction
CRD	Completely Randomized Design
LSD	Least significant difference
CAT	Computerized Axial Tomography
MRI	Magnetic Resonance Imaging
CcrA	Cassette chromosome recombinase A
CcrB	Cassette chromosome recombinase B
N.S.	Non-significant
PBPs	Penicillin-Binding Proteins
IMVC	Indol Methyl Voges-Proskaur Citrate

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

يتأثر جسم الإنسان عند تعرّضه للإشعاع؛ إذ يُسبّب له الإشعاع أضراراً كبيرةً على مستوى الحامض النووي DNA، وبالتالي إحداث التغيير في المورثات Genes، والذي ينعكس على إحداث التشوهات الخلقية، والأورام السرطانية، وأخيراً الموت (إنكا، 1982؛ الظاهر، 1983). وتأتي أشعة كما γ -ray، والأشعة السينية X-ray على قائمة الإشعاعات الأكثر خطورةً على الخلايا الحية؛ ذلك لقدرتها الفائقة في الإحترق، والنفاد، ونقلها للطاقة بوساطة موجات كهرومغناطيسية تقارب سرعة الضوء في سرعتها، فضلاً عن انتقالها في الفراغ (Andrei et al., 2006).

يؤثر المجال المغناطيسي على تخليق DNA وعلى النسخ الأيوني خلال الغشاء (Liburdy et al., 1993)، إذ بيّن Novak وجماعته (2007) أنّ التأثير الكبير للمجال المغناطيسي على فسلفة الخلايا البكتيرية يكون أكثر وضوحاً على خصائص ونضوحية الغشاء الخلوي. فيما وجد Kamel وجماعته (2014) أنّ تعرّض بكتريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* إلى حقل مغناطيسي ثابت عند شدد مختلفة (400 و 800 و 1200 و 1600) كاوس أدى إلى تثبيط النمو، وإنّ هذا التأثير يتغير تبعاً لنوع الكائن المجهرى وشدة المجال المغناطيسي.

ثمّثل المكورات العنقودية *Staphylococci* الموجبة لملون كرام الجزء الأكبر من النبيت الطبيعي المتواجد على سطح الجلد، والأسطح المخاطية للجهاز التنفسي، والجزء العلوي من الجهاز الهضمي، والمسالك البولية التناسلية (El-Jakee et al., 2008). كما وتعدّ المُمرض البشري الأكثر تكيفاً وقدرةً على التسبب في مجموعة واسعة من الأمراض البشرية، بدءاً من الآفات الجلدية (الخرزجات Abscesses، والقوباء Impetigo) إلى الاخماج الغازية والأكثر خطورةً مثل: التهاب نخاع العظم Osteomyelitis، وحمج المفاصل Septic arthritis، والحمج الرئوي Pneumonia، وحمج شغاف القلب Endocarditis (Anderson et al., 2008). وقد عُزيت قدرة المكورات العنقودية على التسبب في المرض إلى مجموعة من عوامل الضراوة ذات المؤثرات واسعة الطيف، والتي تكون مرتبطة بجدار الخلية مثل بروتين A، وعوامل التكتل Clumping factors والبروتينات الرابطة الليفية Fibronectin binding proteins، وغيرها من الجزيئات الخلوية اللاصقة، وكذلك الذيفانات الخارج خلوية مثل: إنزيم مخثر البلازما Coagulase، والهيموليسين Haemolysin، والذيفانات المعوية Enterotoxins، ومتلازمة الصدمة الذيفانية

النوع-1 1 (SST-1) Shock syndrome toxin-1 ، والذيفان المقشّر للأدمة (Exfoliative toxins)، والذيفان القاتل لخلايا الدم البيض (Leucocidin toxins) كمحددات الفوعة (Plata et al., 2009). فضلاً عن متلازمات التسمم الدموي المحددة بوساطة متلازمة الصدمة الذيفانية النوع-1، ومتلازمة الجلد المُبطّنة كنتيجة لنشاط ذيفانات البشرة، والتسمم الغذائي نتيجةً لإبتلاع الذيفانات الداخلية المتشكّلة، كما وأنّ طريقة تطوّر المرض في بكتريا المكورات العنقودية الذهبية هو نتيجة التفاعل بين مجموعة متنوعة من عوامل المضيف ومحددات الفوعة البكتيريّة (Jarraud et al., 2002).

أمّا المكورات العنقودية غير المنتجة لإنزيم مخثر البلازما (Coagulase-negative staphylococci (CoNS) والمتضمنة الأنواع المهمة سريريّاً بما فيها المكورات العنقودية البشرية *Staph. epidermidis*، والمكورات العنقودية الحالّة للدم *Staph. haemolyticus* فقد تمّ توثيقها وعدّها من عوامل إصابات المستشفيات الرئيسة المرتبطة بغزو الأجهزة الطبية (Vuong and Otto, 2002). وتتميز عوامل الضراوة (Virulence factors) للسموم المعوية في بكتريا *Staph. aureus* بوصف مورثاتها وتشكّلها ضمن المكورات العنقودية غير المنتجة لإنزيم مخثر البلازما (Podkowik et al., 2012). بما في ذلك ألد (CoNS) المسببة للاخماج (Barretti et al., 2009). كما تُحفّز السموم المعوية خلايا الجهاز المناعي على إنتاج إستجابة مفرطة تتسبّب في إطلاق عدد من المواد مثل الإنترفيرون (Interferon)، والأنترلوكين (Interleukin)، وعوامل النمو ذات التأثير على الخلايا الأخرى، والتوسع النسيلي (Clonal expansion)، والحذف النسيلي (Clonal deletion) من جزء من هذه الخلايا للمفاوية عن طريق موت الخلايا المبرمج (Taylor and Liewelyn, 2010).

تعدّ السموم الخلوية (Cytotoxins) أو الذيفانات الحالّة للدم (Haemolysins) جزيئات مهمة تشارك في التسبّب في إمراضية بكتريا *Staph. aureus*، ولكن دورها في الاخماج التي تُسببها ألد (CoNS) لا يزال غير معروفاً، إذ يُسبّب α -hemolysin تحلل الخلايا الدموية وتُنخّر خلايا الأدمة والخلايا العصبية (Dinges et al., 2000). في حين يُسيطر β -hemolysin على فعالية إنزيم الفسفرة (Phosphorylase) ذي الألفة الكبيرة لغشاء الخلية من أنواع مختلفة من الخلايا مما يتسبّب في عدم إستقرار الغشاء (Coelho et al., 2009). وقد وصفت بعض التقارير وجود مورثات ترميز للخلايا والتعبير عنها في ألد (CoNS) (Even et al., 2010). على الرغم من أنّ

هناك تقارير أخرى تشير إلى وجود مورثتي *hla* و *hld* المرّمزة للألفا والكاما هيموليسين α , γ haemolysin على التوالي في *Staph. epidermidis* (Okee et al., 2012).

أشارت بعض الدراسات إلى أنّ 20% من البشر يحملون بكتريا *Staph. aureus* كجزء من نبيت الجلد الطبيعي في داخل الممرات الأنفية، وإنّ هذه البكتريا يمكن أن يتلوّث الغذاء بها مثل الحليب مسببةً التسمم الغذائي من خلال تناول منتجات الحليب التي تحتوي على ذيفانات معوية تنتجها هذه البكتريا، ومع ذلك، كان من المعروف أنّ هذه البكتريا قادرةً على توليف أنواع كثيرة من الذيفانات الداخلية التي تلعب دوراً في تسبّب المكورات العنقودية الذهبية للتسمم الغذائي، والتي تتميز بفترة حضانة صغيرة لا تتجاوز ستة ساعات بعد إبتلاع منتجات الحليب الحاوية على هذه السموم، والتي من أكثرها شيوعاً النوعين α و β اللذان لهما الدور الأكبر في التسمم الغذائي (Bhatia and Zahoor, 2007).

كما أنّ السلالات المرتبطة بالمرض غالباً ما تعزز الاخماج من خلال إنتاج ذيفانات بروتينية قوية، والتعبير عن بروتينات سطح الخلية التي تربط وتعطل عمل الأجسام المضادة فتظهر سلالات مقاومة للمضادات الحياتية من المكورات العنقودية الذهبية المسببة للأمراض تسمى بالمكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثيسيلين *Staph. aureus* Methicillin-resistant (MRSA)، والتي تمّ التعرّف على العدوى التي تسببها لعقودٍ من الزمن كعدوى مستشفى مكتسبة أو مرتبطة بالرعاية الصحية، فضلاً عن عدّها مشكلة عالمية في الطب السريري (Anderson et al., 2008; Aires de Sousa et al., 2003)، لما تتميز به من سهولة نقلها المرتبطة بالرعاية الصحية إلى المجتمع والذي باتّ أمراً لا مفرّ منه (Kluytmans-Vanden and Kluytmans, 2006).

بما أنّ الـ (MRSA) عُرفت كمرض مكتسب في المجتمع الناشئ في جميع أنحاء العالم (Vandenesch et al., 2003)، فهي تتميز بكونها إيجابية لإختبار مخثر البلازما الذي يعد من أهم عوامل التمييز بين المكورات العنقودية المرضية وغير المرضية (Ryan and Ray, 2004). وقد يختلف الدور المحدد لأهمية عوامل الضراوة المولّدة للأمراض في المكورات العنقودية بحسب نوع العدوى (Dufour et al., 2002). وعند الأخذ بنظر الإعتبار أنّ أعداداً كبيرةً من سلالات المكورات العنقودية تكون أكثر صعوبة في العلاج بسبب مقاومتها المتعددة للمضادات الحياتية، وتوضيح إمراضية المكورات العنقودية على المستوى الجزيئي يصبح الأمر حتماً في مكافحة هذا المسبب المرضي المهم للبشر لغرض إيجاد استراتيجيات علاجية جديدة (Zetola et al., 2005).

1-1: أهداف الدراسة The Aims of Study

- نظراً للتأثير الذي يسببه التصوير الشعاعي بأجهزة الرنين المغناطيسي والمفراس الحلزوني والأشعة السينية على المستوى الجزيئي لبكتريا المكورات العنقودية، وما ينتج عنه من إحتمال لزيادة العوامل الإمرضية، وصعوبة السيطرة عليها بالمواد المضادة للبكتريا؛ لذا هدفت الدراسة إلى:
1. عزل وتشخيص بكتريا *Staphylococcus spp.* مظهرياً ووراثياً من أجسام العاملين في وحدات الرنين المغناطيسي، والمفراس الحلزوني، والأشعة السينية، فضلاً عن حاملي الأغذية.
 2. الكشف عن بعض عوامل الضراوة للبكتريا المعزولة مظهرياً ووراثياً في الأشخاص المتعاملين وغير المتعاملين مع الإشعاع.
 3. الكشف عن مدى مقاومة البكتريا المعزولة لبعض المضادات الحياتية فضلاً عن قدرة البكتريا على إنتاج إنزيمات البيتالاكتام والمقاومة للمثيسيلين وعلاقة هذه المقاومة بالإشعاع.

الفصل الثاني

أستعراض المراجع

Literatures Review

1-2: النبيت الطبيعي لجسم الإنسان Normal Flora of Human Body

تكون الأنسجة الداخلية لجسم الإنسان كالعضلات، والدماغ، والدم خالية تماماً من الكائنات المجهرية، لكن الأنسجة الخارجية كالأغشية المخاطية والجلد تكون بتماس مباشر مع الأحياء المجهرية المحيطة، مما يجعلها قابلة للإستعمار من قِبَل بعض الأجناس البكتيرية، ومن هنا أُطلق مصطلح النبيت الطبيعي على خليط الأحياء المجهرية المتواجدة بصورة منتظمة في موقع معين من الجسم (Todar, 2005). ويُصنّف النبيت الطبيعي طبقاً لما أورده (Salyers and Whitt, 2001) إلى مجموعتين:

1. النبيت الطبيعي الدائمي (Resident normal flora): وهي كائنات مجهرية متواجدة بصورة دائمة في مكان معين من جسم الإنسان معتمدةً بذلك على مجموعة عوامل أهمها الأس الهيدروجيني ومناعة المضيف والعمر.

2. النبيت الطبيعي المؤقت (Transient normal flora): وهي كائنات مجهرية تعيش في داخل أو على جسم الإنسان لفترة معينة فقط، تغطي فيها جسم الإنسان وأجزائه، وتُشكّل ما يُقارب عشرة أضعاف خلايا الجسم نفسه (Pallen et al., 2005). ويكون النبيت الطبيعي متنوعاً؛ إذ يتكون من البكتيريا، والفطريات والأوالي وتُشكّل البكتريا المحتوى الأكثر كثافة ضمن النبيت الطبيعي، إذ تضم أكثر من 200 نوعاً مورّعاً على أجزاء الجسم المختلفة (جدول 2-1)، إلى جانب ذلك فإنّ هذا التنوع الكبير يعتمد على عوامل عدّة أهمها ما يتعلّق بالمضيف كالعمر، والوراثة، والجنس، والتغذية، والشد العصبي (Todar, 2005).

هناك علاقات مختلفة بين جسم الإنسان والنبيت الطبيعي مثل: تبادل المنفعة (Mutualism)، أو التعايش (Commensalism)؛ إذ يستفيد أحدهما ولا يتضرر الآخر، ولكن من ناحية ثانية قد تصبح هذه العلاقة سلبية لأن العديد من الأجناس التابعة للنبيت الطبيعي مثل بكتريا *Staph. aureus* و *Corynebacterium diphtheria* إذا ما وصلت إلى أنسجة الجسم الداخلية فإنها تصبح ممرضات إنتهازية (Opportunistic pathogens) تحت ظروف ضعف الجسم والوهن المناعي (Todar, 2005).

جدول 2-1: توزيع البكتريا الشائعة على سطح جسم الإنسان (Todar, 2002)

البكتريا	الجلد	الأذن	الفم	البلعوم
<i>Staph. epidermidis</i>	++	++	++	++
<i>Staph. aureus</i> *	+	+	+	+
<i>Streptococcus mitis</i>	-	-	++	+
<i>S. salivarius</i>	-	-	++	++
<i>S. mutans</i> *	-	-	++	+
<i>S. pneumoniae</i> *	-	±	+	+
<i>S. pyogenes</i> *	±	-	+	+
<i>Enterococcus faecalis</i> *	-	-	+	±
<i>Neisseria</i> spp.	-	+	+	++
<i>Neisseria meningitidis</i> *	-	+	+	++
<i>Veillonellae</i> spp.	-	-	+	-
<i>Escherchia coli</i> *	-	±	+	±
<i>Proteus</i> spp.	-	+	+	+
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	-	-	±	±
<i>Haemophilus influenzae</i> *	-	+	+	+
<i>Bacteroides</i> spp. *	-	-	-	-
<i>Lactobacillus</i> spp.	-	-	++	-
<i>Closteridium</i> spp. *	-	-	±	-
<i>Corynebacteria</i> sp.	++	++	+	+
<i>Actinomycetes</i> sp.	-	-	+	+
<i>Mycobacteria</i> sp.	+	±	-	±
<i>Spirochaetes</i> sp.	-	-	++	+

++: دائم الوجود +: شائع الوجود ±: نادر الوجود -: غير موجود *: ممرض قوي

2-1-1: النبيت الطبيعي للمسالك الأنفية والحنجرة

Normal Flora of Nasal Passages and Throat

تستوطن الكثير من أجناس البكتريا القناة التنفسية العليا Upper respiratory tract، إذ أنّ الهواء الذي يستنشقه الإنسان رطباً مما يجعل المحيط مناسباً للكثير من البكتريا المرضية (Pelczar Jr. et al., 1993).

النبيت الطبيعي للمسالك الأنفية والحنجرة غالباً ما يشمل الأجناس *Staphylococcus* و *Micrococcus* و *Corynebacterium*، والتي إذا ما أخترقت الطبقة المخاطية وصولاً إلى خلايا الجسم الداخلية وأسقرت فيها فأنها تسبب أخطاراً خطيرة، وإنّ بكتريا *Staph. aureus* هي إحدى تلك الأنواع الممرضة وربما أكثرها خطورةً بسبب قابليتها على اكتساب عوامل المقاومة للبنسلينات والمضادات الأخرى بسهولة من المحيط الخارجي، وإنتاجها لإنزيم التجلط الذي يسبب تحول الفايبرين

إلى خثرة في الدم (Mackinnon and Allen, 2000)، إضافةً إلى بكتريا *Staph. aureus* التي تستوطن الأنف والبلعوم والحنجرة، فإن هذه الأجزاء تُستوطن من قبل الكثير من الأنواع البكتيرية مثل *Staph. epidermidis* و *S. pneumoniae* و *Corynebacterium diphtheriae* و *Neisseria meningitidis* و *Haemophilus influenzae*، وبالرغم من كون هذه البكتريا قد تُسبب أمراضاً خطيرةً للإنسان، إلا أنها لا تسبب المرض في الظروف الطبيعية بفعل عوامل متعددة كونها متعايشة بصورة طبيعية مع بعضها ومع جسم الإنسان فضلاً عن التضاد بين الأجناس الذي يحافظ على المحتوى الجرثومي بشكلٍ متوازن ولا يمكنه إحداث الخمج، كما وتركزت الدراسات في الفترة الأخيرة على بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الطبيعية في المسالك التنفسية بسبب مقاومتها للمضادات الحياتية المستعملة في علاج الأحماج التي تُحدثها هذه البكتريا (Mackinnon, 1998).

2-1-2: النبيت الطبيعي لأذن الإنسان Normal Flora of Human Ear

غالباً ما يتشابه النبيت الطبيعي في الأذن الوسطى والداخلية للإنسان في المحتوى الجرثومي مع ما موجود في الحنجرة والبلعوم، أو هو إمتداداً له، وإنَّ أغلب الأجناس البكتيرية الموجودة تكون إنتهازية تتسبب في خمج الأذن الوسطى (Otitis middle ear) التي تستوطن من قبل الأنواع البكتيرية: *S. pneumoniae* و *S. pyogenes* و *Neisseria meningitidis* و *Diphtheroids spp.* و *Haemophilus influenzae* و *Moraxella catarrhalis*، في حين تُستوطن الأذن الخارجية بواسطة CoNS و *S. pneumoniae* و *Ps. aeruginosa* و *Haemophilus spp.* (Todar, 2005).

2-2: المكورات العنقودية Staphylococci

تعد هذه البكتريا من أهم الجراثيم وأكثرها أنتشاراً في الطبيعة؛ إذ تتواجد على الجلد، والأغشية المخاطية، والقناة التنفسية العليا للإنسان، والعديد من اللبائن الأخرى، وفي الهواء، والتربة، كما وتوجد في المنتجات الغذائية المختلفة فتُشكّل بمجملها جزءاً كبيراً من النبيت الطبيعي وتُظهر مقاومة كبيرة للظروف البيئية المختلفة (Vasconcelos and Cunha, 2010). وُصفت هذه المكورات من قبل العالم Ogston عام 1883 والتي هي من مجموعة المكورات التي تسبب القيح والخمج؛ إذ يعد العالم المذكور أول من قام بتمييز نوعين من المكورات القيحية إحداهما تترتب بشكل تكتلات أو مجاميع تسمى *Staphylococci*، والأخرى تترتب بشكل سلاسل تسمى *Streptococci* (Götz et)

2006). Rosenbach قام العالم عام 1984 بتسمية بكتريا المكورات العنقودية على أساس لون مستعمراتها؛ فالتّي مستعمراتها صفراء ذهبية اللون سُمّيت *Staph. aureus*، والتي مستعمراتها بيضاء اللون سُمّيت *Staph. albus* والتي اطلق عليها فيما بعد *Staph. epidermidis* (Kloos and Schleifer, 1986).

في العام 1886 فصل العالم Flugge الجنس *Staphylococcus* عن *Micrococcus* اعتماداً على الاختلاف في فعالية إسالة الجيلاتين فضلاً عن العلاقة بالمضيف، إذ يكون جنس *Staphylococcus* مُسبباً للجيلاتين وطفيلي المعيشة مقارنةً مع جنس *Micrococcus* المتباين في إسالة الجيلاتين وذات المعيشة الرمية (Siegrist, 2014). كما ميّز العالم Evasel سنة 1955 بين جنسي *Staphylococcus* و *Micrococcus* بالإعتماد على علاقتهما بالأوكسجين إذ وضعت المكورات الهوائية الإيجابية ضمن جنس المكورات *Micrococci*، في حين وضعت المكورات اللاهوائية الإختيارية ضمن جنس المكورات العنقودية *Staphylococci* (Götz et al., 2006).

في العام 1960 أُعتمد التمييز بين هذين الجنسين على مكونات القواعد النروجينية لـ DNA، إذ يحتوي جنس *Micrococci* على 70% من (DNA G+C) مقابل 30 - 40% من (DNA G+C) في جنس *Staphylococci*، كما صمّم العالم Baird-Parker عام 1963 طريقة للتمييز بين الجنسين *Micrococci* و *Staphylococci* بأستعمال الإختبارات الكيموحيوية مثل إنتاج الحامض من الكلوكوز تحت الظروف اللاهوائية كما هو الحال في جنس *Staphylococcus* خلافاً لما هو في جنس *Micrococcus* (Taponen and Pyorala, 2009).

صنّف جنس المكورات العنقودية حديثاً إلى صنفين رئيسيين هما المكورات العنقودية المنتجة لإنزيم مخثر البلازما (*Coagulase-Positive Staphylococci*)، والمكورات العنقودية غير المنتجة لإنزيم مخثر البلازما (*Coagulase-Negative Staphylococci*)، وذلك بالإعتماد على قدرتها على إنتاج إنزيم مخثر البلازما، والذي يُسبب تجلط بلازما الدم، إذ تضم المكورات العنقودية الموجبة لإنزيم مخثر البلازما ستة أنواع هي: *Staph. delphini* و *Staph. intermedius* و *Staph. pseudintermedius* و *staph. lutrae* و *Staph. schleiferi* subsp. *Coagulans* و *Staph. hyicus*، أما باقي الأنواع فهي مكورات عنقودية سالبة لأنزيم مخثر البلازما مثل: *Staph. epidermidis* و *Staph. saprophyticus* و *Staph. haemolyticus*، كما وتتعدى

الأنواع التابعة لجنس المكورات العنقودية إلى 47 نوعاً و 24 نوعاً (تحت النوع) Subspecies (Jaradat et al., 2013).

2-2-1: جنس المكورات العنقودية *Staphylococcus*

هي مكورات مرتبة بشكل عناقيد غير منتظمة، تنمو في أنواع مختلفة من الأوساط الزرعية بمستعمرات ذات صبغات مختلفة تتدرج بين اللون الأبيض، والأصفر الداكن إلى الذهبي (Ryan and Ray, 2004). وتتميز بخلايا كروية الشكل قطرها يتراوح بين (0.5 – 1.5) مايكرومتر، وتتقسم بأكثر من مستوى واحد، وتبقى ملتصقة مع بعضها البعض في تجمعات غير منتظمة تشبه بذلك عناقيد العنب (Bergey et al., 1994). كما يمكن مشاهدتها على هيئة خلايا مفردة أو أزواج أو رباعيات أو سلاسل قصيرة خصوصاً في المستنبتات السائلة، إلى جانب ذلك تتصف هذه البكتريا بنشاطها الأيضي العالي، فعلى الرغم من نموها المثالي عند درجة حرارة 37°م إلا أن إنتاجها للصبغات يتم بشكل أفضل عند درجة حرارة الغرفة (Atlase, 1995). كما أن معظم سلالاتها تنمو بوجود 10% من كلوريد الصوديوم وبدرجة حرارة تتراوح بين (18 – 40)°م (Murray et al., 2013). كما وتعد المكورات العنقودية موجبة لملون كرام، ومنتجة للكاتليز، وغير منتجة للأوكسيديز، وغير مكونة للسبورات، وهي غير متحركة فضلاً عن إحاطة بعضها بمحفظة وتكون لا هوائية اختيارية (Johnson et al., 2010).

2-2-1-1: المكورات العنقودية الموجبة لإنزيم مخثر البلازما

Coagulase-Positive Staphylococci

تعد البكتريا الموجبة لإنزيم مخثر البلازما أكثر وأشد ضراوةً من السالبة منها لإنزيم التخثر بفعل قدرة خلاياها على تغطية أجسامها أو تجمعاتها بالفايبرين، والذي يعمل على حمايتها من الإلتهاام الخلوي (Phagocytosis)، إذ تنتج هذه البكتريا إنزيم التخثر بنوعيه الحر والمرتبط، وفي أول محاولة لعزل هذه البكتريا أسْتَعْمِلَ وسط ملح المانيتول الصلب (MSA) لعزلها أنتقائياً، إذ أن النمو وتكوين المستعمرات الصفراء بوجود المحتوى العالي من الملح وتخمير المانيتول تعد أدلة افتراضية في تشخيص البكتريا المنتجة لإنزيم مخثر البلازما وتفريقها عن البكتريا غير المنتجة له على الرغم من وجود بعض الأبحاث التي تشير إلى نمو مستعمرات بعض أنواع البكتريا غير المنتجة لهذا الإنزيم على وسط (Mannitol salt agar (MSA) (Dezfulian et al., 2011).

تتمثل البكتيريا الموجبة لإنزيم مخثر البلازما بالمكورات العنقودية الذهبية، إذ تعد النوع الوحيد من جنس المكورات العنقودية ذات الأهمية السريرية، ومع ذلك فقد وجدت سلالات نادرة من هذا النوع غير منتجة للإنزيم، لذا فقد خُصيت هذه البكتيريا بإهتمام كبير من قبل الباحثين في جميع أنحاء العالم بسبب أهميتها المرضية للإنسان واللبائن الأخرى وإنتشارها الواسع في الطبيعة (Anstead et al., 2014)، إذ تعتبر من أهم الممرضات المسؤولة عن 80% من الإصابات القيحية، كما إنَّها تعد المسبب الثاني في عدوى المستشفيات (Nosocomial infection) بفعل مقاومتها لعدد كبير من المضادات الحيوية (Baele et al., 2001). وعلى الرغم من كون *Staph. aureus* تُشكل جزءاً من النبيت الطبيعي الموجود في مختلف أجزاء الجسم كالجلد والمجري التنفسية، إلا أنها تعد أكثر الأنواع التابعة لجنس المكورات العنقودية أهميةً بالنظر لِمَا تسببه من مدى واسع من الإصابات بسبب ما تملكه من عوامل ضراوة كالإصابات الجهازية المتمثلة بجمع شغاف القلب، فضلاً عن الاخماج المعوية الحادة والإصابات القيحية المختلفة سواء كانت سطحية أو عميقة (Pelisser et al., 2009).

تكون هذه الجراثيم المسبب الرئيس للإصابات الخطيرة أو القاتلة في الولايات المتحدة الأمريكية، كما أعتبرت أيضاً أحد مسببات التسمم الغذائي الحاد بسبب أنتاجها السم الثابت حرارياً إلى جانب قدرتها على إنتاج خمسة أنواع من السموم المعوية هي (SEA) و (SEB) و (SEC) و (SED) و (SEE)، والتي تكون مسؤولة عن 95% من حالات التسمم الغذائي بواسطة هذه البكتيريا (Marshall and McBryde, 2014).

تعدّ *Staph. aureus* ذات قابلية عالية لتحمل مختلف الظروف البيئية إذ يمكنها البقاء في الهواء لفترة تتراوح من أيام إلى أسابيع، كذلك لها القابلية على البقاء حيّة في القيح الجاف وتتحمل درجة الحرارة العالية والتي قد تصل إلى 60°م لمدة 30 دقيقة، غير أنها تموت عند زيادة الوقت إلى 60 دقيقة (Vidya et al., 2005). وتكون مستعمرات هذه الجراثيم دائرية يتراوح قطرها بين 1 - 4 ملم، وحافاتهما ملساء، معتمة، ومرتفعة قليلاً، وذات لون أصفر ذهبي بسبب تكوينها للصبغة الذهبية عند حضنها في درجة حرارة 37°م لمدة (24 - 48) ساعة، لكنها لا تكوّن هذه الصبغة في الظروف اللاهوائية أو عند نموها في الأوساط السائلة، فضلاً عن ذلك فلها القدرة على النمو في مدى حراري يتراوح بين (37 - 60)°م، إلا أن درجة الحرارة المثلى لنموها هي 37°م، وتتمو أيضاً

في مدى واسع من الأس الهيدروجيني يتراوح بين 4.8 – 9.4 إلا أن 7.5 هو الأمثل للنمو (Monte et al., 2014).

2-2-1-2: المكورات العنقودية السالبة لإنزيم مخثر البلازما

Coagulase-Negative Staphylococci

تضم المكورات العنقودية السالبة لإنزيم مخثر البلازما غالبية الأنواع التابعة لجنس المكورات العنقودية، إذ تعد جزءاً من النبيت الطبيعي المتواجد على طبقة الجلد والأغشية المخاطية، وفي العادة لا تُسبب أمراضاً خطيرة وتكون هذه الأحياء؛ أما رميَّة أو تعايشية، ولكن في حالة إصابة الجلد بالجروح أو الخدوش أو الوخز بواسطة الأبر يمكن أن تدخل هذه الأحياء إلى الأجهزة الداخلية للمضيف (Kloos and Bannerman, 1994). كما وُصفت بكتريا CoNS عام 1884 من قبل العالم Rosenbach وسمَّيت *Staph. albus* فضلاً عن اعتبارها غير ضارة، وفي عام 1958 نُشر أول تقرير عن إمرضية هذه البكتريا ووصفت بأنها مرضية، أما في عام 1970 فقد قُسمت إلى نوعين أحدهما *Novobiocin susceptible staphylococcus* مثل *Staph. hominis*، والآخر *Novobiocin resistant staphylococcus* مثل *Staph. xylosus* (Hirota et al., 2011).

في العام 1985 سُجِّل خمسة عشر نوعاً لبكتريا CoNS، في حين سجَّل Thorberg وجماعته (2009) أكثر من أربعين نوعاً تابعاً لهذه البكتريا. وعلى الرغم من أن هذه الجراثيم تقتقر إلى العديد من عوامل الضراوة الموجودة في المكورات العنقودية الموجبة لإنزيم مخثر البلازما مثل *Staph. aureus* لكنَّ بعض سلالاتها تمتلك عوامل الالتصاق مثل البروتينات الرابطة للييفة (FBP) *Fibrinogen binding proteins*، كما تعمل على إفراز بعض السموم مثل (SEC)، وتمتلك كذلك بعض هذه السلالات إنزيمات أو سموماً كعوامل ضراوة مثل: Hemolysin و Lipase و Licithinase و Fibrinolysin، فضلاً عن قدرتها على إنتاج بعض المواد اللزجة أو إنتاج المحفظة ذات العلاقة الوثيقة بالإمرضية (Al-Jumaily et al., 2014).

2-2-2: وبائية المكورات العنقودية *Staphylococcus*

تعدُّ *Staph. aureus* الموجبة لإنزيم مخثر البلازما جزءاً من النبيت الطبيعي لجسم الإنسان إذ تتواجد على طبقة الجلد والأغشية المخاطية بالإضافة إلى تواجدها في الماء والمواد الغذائية، وتعدُّ

من الممرضات الإنتهازية التي تصيب الإنسان واللبائن الأخرى مسببةً بذلك خمج الجروح والحروق وأصابات مجرى الدم، كما وتعد من المسببات الرئيسية لعدوى المستشفيات (Thati *et al.*, 2011; Ugwu *et al.*, 2013).

تصل نسبة الحاملين لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية في مقدمة أنوفهم إلى 30%، وبإمكانها أن تسبب أصابات خطيرة عند حدوث خلل أو اضطراب في دفاعات جسم العائل المناعية إذ تزداد هذه النسبة لدى الأشخاص العاملين في المستشفيات (Tong *et al.*, 2012). وأشارت العديد من الدراسات إلى زيادة معدل الوفيات نتيجة الإصابة ببكتريا المكورات العنقودية الذهبية في الولايات المتحدة الأمريكية، واليابان، وبريطانيا، وذلك بسبب أمتلاك سلالات منها لعوامل الضراوة ومقاومتها لعدد كبير من المضادات الحيوية (Iwase *et al.*, 2010). أما سلالات المكورات العنقودية السالبة لإنزيم مخثر البلازما وبالأخص النوع *Staph. epidermidis* فتعد من أهم المسببات المرضية الرئيسية للأنسان، ومن أكثر الممرضات المكتسبة شيوعاً عن طريق عدوى المستشفيات، وخصوصاً عند المرضى المصابين بأمراض نقص المناعة، والأطفال حديثي الولادة، كما تعد بكتريا *Staph. epidermidis* من المسببات الرئيسية لإصابات مجرى الدم، والتسمم الغذائي والإصابات المرتبطة بالقسطرة القلبية، ومما تجدر الإشارة إليه أنّ السموم الداخلية التي تنتجها هذه البكتريا لها دور مهم في التهابات العظام والمفاصل الإصطناعية والتهاب صمام القلب (Pinheiro *et al.*, 2015). كما تمتاز المكورات العنقودية البشرية بقدرتها على إنتاج الغشاء الحيوي Biofilm، وكذلك الطبقة اللزجة أو المحفظة التي تعطيها الحماية من دفاعات الجسم إلى جانب مساعدتها على الالتصاق بالسطوح المختلفة (Prasad *et al.*, 2012).

أما المكورات العنقودية المحللة للدم *Staph. haemolyticus* فتعد ثاني المكورات العنقودية السالبة لإنزيم مخثر البلازما، والمسببة للإصابات المكتسبة من المستشفيات نتيجةً لتداخلها مع الأجهزة الطبية (Barros *et al.*, 2012). كما وتعد من الممرضات الإنتهازية المعروفة والأكثر وجوداً من بين المكورات العنقودية السالبة لإنزيم التخثر بعد النوع *Staph. epidermidis* (Daniel *et al.*, 2014).

تنمو بكتريا *Staph. haemolyticus* بأعداد متوسطة على جلد الإنسان، وتعد واحدة من بين عدد قليل من المكورات العنقودية السالبة لإنزيم التخثر التي تستعمر الإحليل البولي والمناطق

المحيطة به في كل من الذكور والإناث، إذ تنتج سلالاتها إنزيم الهيموليسين المحلل للدم والذيفانات المعوية التي تكون في الغالب متعددة المقاومة للمضادات الحياتية (Kunin and Steele, 1985).

2-2-3: أمراضية المكورات العنقودية *Staphylococcus* Pathogenicity

تعدّ المكورات العنقودية من أهم المسببات المرضية المسؤولة عن العديد من الأمراض في الإنسان والحيوان؛ إذ تسبب طيفاً واسعاً من الإصابات تتدرج من الإصابات البسيطة والشديدة وصولاً إلى القاتلة، إذ بإمكان هذه البكتيريا إحداث الضرر لجسم المضيف من خلال بعض الآليات التي تمتلكها مثل: الالتصاق بأنسجة المضيف، والانتشار والتضاعف في هذه الأنسجة، وبالتالي أحداث الضرر فيه، كما أنّ لها القدرة على تجنب الأنظمة الدفاعية للمضيف وإفرازها للسموم والإنزيمات إلى خارج الخلية البكتيرية، فضلاً عن ذلك فإنّ خطورة الإصابة ببكتيريا المكورات العنقودية تكمن في صعوبة إيجاد العلاج المناسب لها بسبب قابليتها على مقاومة العديد من المضادات الحياتية، إذ أنّ بعضها تستعمر مناطق الجسم كالبلعوم، والأبط، وطبقة الجلد المتضررة في حالات الجروح والحروق والخدوش، فضلاً عن إمكانية تلويثها لملابس الفريق الطبي والأدوات الطبية والجراحية، وهذا يأتي من بعض الصفات المرتبطة بالإمراضية مثل نموها تحت الضغط الأزموزي العالي وكذلك الرطوبة القليلة (Weidenmaier, 2004).

تُسبب بكتيريا المكورات العنقودية العديد من الأمراض للإنسان في المستشفيات، إذ تُشكّل أكثر من 80% من الأمراض القحيّة المسجلة في المراكز الصحية، فمنذ أن أمتاكت سلالاتها مقاومة مرتفعة لعدد كبير من المضادات الحياتية أصبح هنالك تزايد في معدل أمراضيتها في جميع أنحاء العالم وهذا يعود لقابليتها على إحداث إصابات أنتهازية خطيرة وقاتلة خصوصاً عند المرضى الراقدين وبالأخص في وحدات العناية المركزة، إذ تُحدث هذه البكتيريا الأمراض في المرضى الراقدين في المستشفيات والذين يعانون ضعفاً في المناعة، كما زادت في السنوات الأخيرة وبشكل كبير الإصابات المرتبطة بالمستشفيات والتي تحدثها المكورات العنقودية ذات المقاومة العالية للمضادات الحياتية فظهرت سلالات مقاومة لأكثر من 20 مركباً مضاداً للجراثيم بضمنها المطهرات (Sulieman and Allaahmed, 2012).

من جانب آخر تُسبب المكورات العنقودية عدداً كبيراً من الأمراض، خاصةً الإصابات المكتسبة في المستشفيات (Hospital – acquired infections)، ومن ضمنها تجرثم الدم

(Bacterimia)، والاختلاج السطحية (Superficial infections) مثل البثور الجلدية (Skin pustules)، وخبث ملتحمة العين (Conjunctivitis)، والقرحة (Ulcer)، وداء القوباء المعدي (Impetigo)، والجمرة (Carbuncle)، فضلاً عن آخماج الحروق (Burn infections) والعمليات الجراحية (Surgical infections)، وخبث الأوعية اللمفية (Lymphangitis)، والبلعوم (Pharyngitis)، والحنجرة (Laryngitis)، واللوزتين (Tonsillitis) (Proctor et al., 2006). وبالنسبة لبكتريا *Staph. epidermidis* فقد ظهرت أمراضها من خلال ارتفاع نسب الإصابة بها للمرضى الراقدين في المستشفيات بتكرار ظهورها خلال العقدين الماضيين في مزارع الدم لمرضى العناية المركزة (Schommer et al., 2011)، إذ تمتلك هذه البكتريا عدداً كبيراً من عوامل الضراوة، وهذا بدوره يجعلها أكثر أمراضية بسبب إنتاجها للذيفانات والإنزيمات المفرزة خارجياً ومضخات الدفع (Efflux pumps) (Namvar et al., 2014). أما بالنسبة لبكتريا *Staph. aureus* فتعد من أهم المسببات المرضية وأكثرها خطورةً، وترتبط أمراضها بقدرتها على إنتاج عدد كبير من عوامل الضراوة كالذيفانات والإنزيمات الخارج خلوية، مما يمنحها قابلية كبيرة على التضاعف والانتشار داخل أنسجة المضيف، فضلاً عن قابليتها على مقاومة العديد من المضادات الحيوية، ولا سيما العائدة لمجاميع الأمينوكلايكوسيدات والبيتالكتام (Marcus, 2005). ويمكن القول أنّ أيدي الكادر الطبي الملوثة والعاملين في المستشفيات تلعب دوراً كبيراً في انتقال وانتشار عدوى الإصابة إلى الأجهزة والوحدات الطبية، وخصوصاً أجهزة الغسيل الكلوي، وأجهزة القسطرة القلبية (Shakibaie et al., 2014). كما تُسبب هذه البكتريا التسمم الغذائي الذي قد يسبب الوفاة للأطفال، والمرضى الذين يعانون من نقص المناعة، (الجدول 2-2) (Lessa et al., 2012).

جدول 2-2: الأمراض التي تسببها بكتريا العنقوديات الذهبية *Staphylococcus spp.*

النوع البكتيري	الإصابة
<i>Staph. epidermidis</i>	خمج الشغاف القلبي، السحايا، خمج العظام، خمج المثانة، خمج المناطق الجراحية
<i>Staph. aureus</i>	إصابات الجروح، خمج النسيج الخلوي، خمج الشغاف القلبي، خمج الأذن الوسطى، إصابة الجلد والأنسجة الرخوة، الجمرة، خمج العظم، خمج الأربطة، خمج الظفر، الدمامل، داء القوباء المعدي، خمج الجهاز العصبي، خراجات الدماغ، السحايا، ذات الرئة، والتسمم الغذائي
<i>Staph. haemolyticus</i>	الإنسداد الرئوي، التعفن في المواليد الجدد
<i>Staph. capitis</i>	خمج الشغاف القلبي، والتعفن
<i>Staph. warneri</i>	السحايا، خمج الشغاف القلبي، خمج الجهاز العصبي
<i>Staph. saprophyticus</i>	خمج الجهاز البولي
<i>Staph. intermedius</i>	خراجات الدماغ، وخمج الشغاف القلبي
<i>Staph. pettenkoferi</i>	خمج العظم
<i>Staph. hominis</i>	خمج الشغاف القلبي، الإعتلال الفقاري، خمج العضلة، خمج المفصل الحرقفي
<i>Staph. lugdunensis</i>	خمج العظام، خمج الشغاف القلبي، خمج الأربطة، التعفن، خمج المناطق الجراحية

2-2-4: عوامل الضراوة لبكتريا المكورات العنقودية

Virulence Factors of *Staphylococcus*

تُعزى الأهمية السريرية لبكتريا المكورات العنقودية في إمتلاكها عدداً كبيراً من عوامل الضراوة، والتي تعطيها القدرة على النمو، والتكاثر، وكذلك غزو أنسجة المضيف، وبذلك فهي تسهم بشكلٍ كبير في إمرضية هذه البكتريا (Zadik et al., 2001). وفيما يأتي أهم تلك العوامل:

2-2-4-1: أنتاج المحفظة الدقيقة **Microcapsule Production**

إنَّ العديد من سلالات بكتريا المكورات العنقودية التي تنمو في مختلف أنسجة الجسم لها القابلية على أنتاج المحفظة من السكريات المتعددة، والتي تثبط عملية البلعمة من قبل خلايا الدم البيض ذات الأنوية المتعددة الأشكال؛ فبعد غزو البكتريا للنسيج يتم تنشيط مورثات البكتريا المسؤولة عن تكوينها، في حين لا يتم تصنيع هذه المحفظة من قبل نفس البكتريا عندما تنمو على وسط

مغذي (Nester *et al.*, 2001). وقد تم تسميتها بالمحفظة الدقيقة لعدم إمكانية رؤيتها إلا بالمجهر الإلكتروني، في حين هناك إمكانية لرؤية المحفظة الحقيقية عند بعض أنواع البكتيريا بسهولة بإستعمال المجهر الضوئي (Todar, 2005).

2-2-4-2: إنتاج إنزيم مخثر البلازما Coagulase Production

تتفرد بكتيريا المكورات العنقودية بإنتاجها لإنزيم مخثر البلازما الذي حُظيَّ بإهتمام كبير من قبل الباحثين، وأعتبروه من عوامل الضراوة المهمة في هذه البكتيريا ومن عوامل التشخيص في معرفة البكتيريا المرضية (Chandrakanth *et al.*, 2010).

إنَّ إنتاج إنزيم مخثر البلازما يعد معياراً مهماً في مختبرات الأحياء المجهرية لتشخيص بكتيريا *Staph. aureus*، وبالرغم من أن هناك سلالات قليلة من المكورات العنقودية الذهبية لا تنتج كميات ملحوظة من هذا الإنزيم لكن يبدو أنَّ كل السلالات تمتلك مورثة مخثر البلازما *Coa* مع العلم أنَّ هناك ستة أنواع أخرى من بكتيريا المكورات العنقودية لها القابلية على إنتاج هذا الإنزيم، وهي: *Staph. intermedius* و *Staph. hyicus* و *Staph. delphini* و *Staph. schleiferi* و *Staph. lutrae* و *Staph. pseudointermedius* (Hanaa and Darwishm, 2014). ويعتبر إنزيم مخثر البلازما من عوامل الضراوة المهمة لبكتيريا *Staph. aureus*، ويمتاز بكونه مقاوماً نسبياً لدرجة الحرارة إذ يقاوم درجة حرارة 60°م لمدة 30 دقيقة (MacFaddin, 2000). وهذا الإنزيم هو بروتين خارجي متعدد الببتيد وزنه الجزيئي (60 – 70) دالتون، ويتكون من 690 حامض أميني ويحتوي على أحماض أمينية متغايرة (Rajbhandari, 2011). إذ يعمل وجوده على تجميع الفايبرينوجين Fibrinogen الموجود في بلازما الدم ومن ثم ترسيبه على سطح خلايا *Staph. aureus* بشكل شبكة من الألياف الدقيقة مكوناً بذلك الخثرة، ومن أهم مميزات هذا الإنزيم تكوينه للأضداد، إذ يمتلك صفة مستضدية، فضلاً عن إمتلاكه القدرة على تثبيط عملية البلعمة (Nair *et al.*, 2000). والإنزيم المخثر للبلازما نوعان، وهما:

1- إنزيم مخثر البلازما الحر Free coagulase: إنزيم خارج خلوي يتم إنتاجه خلال نمو وتضاعف البكتيريا (Nair *et al.*, 2000). ويتميز بقدرته على التفاعل مع مواد موجودة في البلازما تدعى Coagulase-reacting factors (CRF) أو Activator لتكوين مركب يدعى Coagulase-CRF complex وهو يشبه الثرومبين Thrombin لكنه غير مطابق له يدعى

بخثرين العنقوديات Staphylothrombin، يعمل هذا المعقد بصورة غير مباشرة على تحويل مادة الفايبيرينوجين إلى فايبيرين (MacFaddin, 2000). يُفرز هذا الإنزيم خارج الخلية ويتم الكشف عنه بواسطة إختبار الأنبوبة Tube coagulase test، وينتج من جميع سلالات *Staph. aureus* ويُشَفَّر بواسطة مورثة *Coa* (Kloos and Schleifer, 1986).

2- إنزيم مخثر البلازما المرتبط Bound coagulase: ويطلق عليه أيضاً بعامل التكتل Clumping factor (CF) الذي يرتبط بالسطح الخارجي للجدار الخلوي للبكتريا ويقوم بتحويل بروتين الفايبيرينوجين إلى فايبيرين مباشرة دون الحاجة إلى (CRF)، إذ يترسب الفايبيرين على سطح الخلايا البكتيرية ويعمل على تغطيتها وبالتالي يؤدي إلى أيقاف الآليات الدفاعية الطبيعية للمضيف مثل: عملية الإستساغة (Opsonization)، والبلعمة، كما يحمي الجراثيم من تأثير المضادات الحياتية (Prescott et al., 2005). ويمكن الكشف عنه من خلال أختبار الشريحة Slide coagulase test، إذ يؤدي الإنزيم إلى تكتل الخلايا البكتيرية وظهورها بشكل تجمعات مرئية واضحة عند تعليقها في البلازما (MacFaddin, 2000).

2-2-4-3: تكوين الأغشية الحيوية Biofilms Formation

الغشاء الحيوي هو تجمع الكائنات المجهرية وألتصاقها بالأسطح إذ تكون محاطة ببوليمرات خارج خلوية حاوية على سكريات متعددة، ويشارك الغشاء الحيوي في حدوث الإصابة، وكذلك المقاومة للمضادات الحياتية (Kokare et al., 2009). وتعمل البوليمرات الخارج خلوية على تثبيت الغشاء الحيوي بالأسطح مُكسبةً الخلايا البكتيرية الموجودة بداخله حمايةً من الظروف البيئية غير الملائمة مثل: تغير pH، والمواد السامة للبكتريا، والجفاف، وكذلك الأشعة فوق البنفسجية (De Charvalho, 2007). ويكون للظروف البيئية المحيطة دور مهم في تكوين الأغشية الحيوية؛ وذلك من خلال توفيرها للمغذيات والمحتوى المائي فضلاً عن وجود الأسطح الصلبة (Espinosecurgel, 2003).

تمثل الأغشية الحيوية نقاط ارتباط للبكتريا بسطوح المواد الحية وغير الحية، إذ تكون هذه الأغشية مرتبة جيداً وبشكل تجمعات من نوع بكتيري واحد أو من عدة أنواع، ويتألف من طبقة واحدة مستمرة أو عدة طبقات، ويكون له تركيب ثلاثي الأبعاد أو قد يتخذ أشكالاً أخرى (Bagge et al., 2001). ويعطي الغشاء الحيوي للبكتريا حماية ضد الظروف القاسية، كما يعد مسؤولاً عن 65%

من الإصابات المرضية، ومنها خمج المسالك البولية، والأذن الوسطى، واللثة، وتسوس الأسنان فضلاً عن الإصابات المتعلقة بالأدوات الطبية (Ansari et al., 2011).

أشارَ Cucarella وجماعته (2004) إلى وجود علاقة وثيقة بين قدرة الكائن الحي المجهرى على تكوين الغشاء الحيوي ودوره في أحداث المرض وتكوين الأخماج المزمنة، إذ تكون السلالات البكتيرية المكونة للأغشية الحيوية قادرة على أستيطان جسم المريض ومقاومة أكثر للمضادات الحياتية، إلى جانب ذلك فإنها تعمل على أنتاج البروتينات المرتبطة بالغشاء الحيوي Biofilm associated proteins (BAP)، والتي تعمل على تسهيل تكوين الغشاء الحيوي المتعلق ببقاء الجرثومة فترة أطول في جسم المضيف، ويستجيب الجسم المُعرَّض للإصابة مناعياً لهذه البروتينات لذلك يلاحظ وجود أجسام مضادة لهذه البروتينات في مصل المريض (Anti-BAP antibodies). يُعدُّ تكوين الأغشية الحيوية واحداً من أهم عوامل الضراوة التي تُسهِّل ارتباط المكورات العنقودية وأستيطانها للأنسجة، إذ يساهم في التخلص من دفاعات المضيف المناعية، وبالتالي يؤدي إلى الإصابات المستمرة والمتكررة نتيجةً لصعوبة القضاء على المسببات المرضية (Darwish and Asfour, 2013). كما أنَّ المكورات العنقودية السالبة لإنزيم مخثر البلازما والمكوّنة للأغشية الحيوية تزداد مقاومتها للمضادات الحياتية حوالي 100 إلى 1000 مرة أكثر من التي لا تكون الأغشية الحيوية (Forrest and Tamura, 2010). ويتكون هذا الغشاء من إلتصاق السكريات المتعددة الداخل خلوية، ويتم تشفيره بواسطة أوبورون icaADBC (O'Gara et al., 2001)، ويعد بذلك مشكلة سريرية رئيسة ترجع أساساً إلى المستويات العالية من العلاج بالمضادات البكتيرية إلى جانب المقاومة المناعية للمضيف (Jefferson, 2004).

2-2-4-4: أنتاج الهيموليسين Haemolysin Production

إنزيم خارج خلوي تنتجه البكتريا، ويقوم بتحليل كريات الدم الحمر عن طريق أحداث ثقب في الغشاء الخلوي، وتختلف البكتريا المنتجة للهيموليسين في قدرتها على تحليل أنواع مختلفة من كريات الدم الحمر مثل: كريات الدم الحمر للإنسان، والإرانب، والأغنام، فضلاً عن أختلافها في نوع التحليل الذي تحدته (Tortora et al., 1998). وتمتاز بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بقابليتها على أنتاج أربعة أنواع من ذيفانات التحلل هي: α و β و γ و σ ، تعمل على تحليل كريات الدم

الحمى وتحرير الهيموكلوبين، ولها أهمية في زيادة أمراضية البكتيريا (Jawetz and Adelberg's, 2016).

إنَّ الإنزيمات الحالة للدم هي ذيفانات مكونة للثقب (PFT) وتمثل أهم مجاميع الذيفانات التي تفرزها المكورات العنقودية الذهبية، بيدَ أنَّ تكوين الثقب على غشاء خلية المضيف الخاضعة للذيفان يؤدي إلى فقدان سلامة الغشاء وتغيُّر نضوجيته (Ratner *et al.*, 2006). ويتطلب إنتاج الهيموليسين تشفير أربعة مورثات هي: *hlyA* و *hlyB* و *hlyC* و *hlyD* (Johnson, 1991). إذ أنَّ تُشَفَّر مورثة *hlyA* للذيفان نفسه داخل سايتوبلازم خلية البكتيريا التي تقوم بتصنيعها، في حين تكون مورثة *hlyC* ضرورية لنضج ذلك الذيفان، وبالنسبة لمورثة *hlyB* فنقوم بتكوين الثقب في غشاء الخلية البكتيرية الداخلي، أما مورثة *hlyD* فتشارك في انتقال جزيئة الهيموليسين إلى الفراغ البريبلازمي وغشاء الخلية البكتيرية الخارجي (Hyland *et al.*, 2001)، وهي كالاتي:

1- الذيفان الحال للدم - ألفا (α -hemolysin)

هو ذيفان خارجي تنتجه معظم سلالات بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية المرضية، ويمتلك القدرة على تحلل الدم فضلاً عن كونه ساماً للخلايا، ويعمل على نخر الأدمة، ويقوم كذلك بمهاجمة جميع خلايا اللبائن ولكن بدرجات متفاوتة، فهو يحلل كريات الدم الحمر للأرانب بتراكيز قليلة جداً، في حين تحتاج كريات الدم الحمر للإنسان تراكيز أعلى بكثير من ذلك لغرض التحلل، بينما الصفيحات الدموية والخلايا وحيدة النواة تكون له أهدافاً حساسة جداً، وهذا يدعم الآراء القائلة بأن الذيفان - ألفا يمثل مؤشراً مهماً لمعرفة أمراضية بكتيريا المكورات العنقودية في الإنسان، إلى جانب ذلك فإنَّ تراكيز واطئة جداً من هذا الذيفان يصل وزنها إلى (1) مايكروغرام تكون قاتلة عندما نقوم بحقنها في وريد الأرانب، كما يعد هذا الذيفان المسؤول الأول عن ظهور مناطق التحلل الجزئي عند تنمية البكتيريا على وسط أكار الدم (Dinges *et al.*, 2000).

إنَّ الهيموليسين ألفا الذي تنتجه المكورات العنقودية الذهبية يعد الذيفان الخارجي البكتيري الأول الذي تمَّ معرفته من بين الذيفانات الحالة للدم والمكونة للثقب (Ratner *et al.*, 2006). وهو لا يؤثر على غشاء الكرية الحمراء فحسب، بل يؤثر كذلك على أغشية أنواع أخرى من خلايا اللبائن،

إذ يعمل على تكوين الثقوب الصغيرة في أغشية الخلية والعمل على تحفيز الموت المبرمج للخلية، كما هو الحال في الخلايا اللمفية (Dinges et al., 2000).

كما أنّ المورثة المشفرة للذيفان-ألفا *hla* تقع على كروموسوم وزنه الجزيئي 33 كيلو دالتون، ويحتوي على هذا الذيفان على البروتين الناضج ذي 293 حامض أميني عدا الحامض الأميني Cysteine، في حين يحتوي الجزء الوسطي لتتابعات الذيفان-ألفا على كميات كبيرة من بقايا الحامض الأميني الكلايسين (Bhakdi and Tranum-Jensen, 1991). وإنّ هذا الإنزيم يقع تحت سيطرة المورثة المنظمة الإضافية *agr*، ولذلك يتم تصنيعه خلال الطور اللوغارتمي المتأخر من النمو في المزرعة المغلقة (Dinges et al., 2000). وذكر Rogolsky (1979) أنّ الذيفان-ألفا يتألف من قسمين واضحين هما Alpha-1 و Alpha-2، وظهر لاحقاً أن Alpha-2 يشابه الذيفان-دلتا Delta-toxin كما أنّ إفراز الذيفان-ألفا يكون على شكل وحدات أحادية (Monomers)، ويتكامل مع غشاء الخلية الهدف، إذ يكون وحدات سباعية أسطوانية (Cylindrical heptamers)، وبذلك فإن هذا الشكل الذي يكون متعدد الوحدات (Polymeric) له القدرة على تحليل خلايا حقيقية النواة، وبعد تكوّن الوحدات السباعية الأسطوانية في غشاء الخلية يتكون ثقب قطره يتراوح ما بين 1 - 2 نانومتر (Dinges et al., 2000).

2- الذيفان الحال للدم- بيتا (β -hemolysin)

ذيفان وزنه الجزيئي يقدر بـ 35 كيلو دالتون، وتنتج معظم سلالات المكورات العنقودية الذهبية التي تكون مسؤولة عن أغلب الأمراض في الإنسان واللبائن الأخرى، ويمتلك هذا الذيفان خاصية ألد Sphingomyelin، كما إنه سام لمجموعة كبيرة من الخلايا بضمنها كريات الدم الحمر وخلايا الدم البيض (Murray et al., 2013).

يمتلك هذا الذيفان القابلية على تحليل كريات الدم الحمر للأغنام، ولا يحلل كريات الدم الحمر للأرانب، كما إنّه غير منخرّ للأدمة في خنازير غينيا، وغير قاتل للفئران، إذ اكتشف أنّ الفعالية السمية تظهر عند حضنه بدرجة حرارة أقل من 10°م بعد حضنه عند 37°م، لذلك يعد الهيموليسين- بيتا متغيراً حاراً- بارداً (Hot-cold hemolysin)، وتقع المورثة المشفرة *hly* لهذا الذيفان على الكروموسوم، ويمتلك الذيفان فعالية إنزيمات الفسفرة (Phosphorylase) التي هي بحاجة إلى تواجد تراكيز معينة من أيون المغنيسيوم (Mg^{+2})، ويعمل هذا الذيفان بصورة متخصصة

على Lyso-phosphatidylcholin وأل Sphingomyelin (Dinges *et al.*, 2000). إذ يتحطم Sphingomyelin الذي يوجد في الطبقة الخارجية لخلايا حقيقية النواة، مما يزيد من نفاذيتها، وبالتالي يسمح للجزيئات الصغيرة بالعبور بشكلٍ سريع من خلال الغشاء (Nair *et al.*, 2000).

3- الذيفان الحال للدم- كاما (γ -hemolysin)

تعمل بكتريا المكورات العنقودية الذهبية على إنتاج نوعين من الذيفانات ثنائية التركيب هما Gama-hemolysin و Panton-Valentine Leukocidin (P-VL)، إذ يتألف كلاً منهما من بروتينين مستقلين يطلق عليهما S and F components، ويتم تصنيع الذيفان- كاما من قبل جميع سلالات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بينما يُصنَّع PVL من قبل 2-3% من تلك السلالات، ولكن ما يقارب 90% من السلالات المعزولة من الآفات المنخّرة للأدمة تقوم بإنتاج هذا الذيفان، مما يدل على كونه عاملاً مهماً في الأخماج الجلدية التخرّية (Todar, 2005).

يؤثر الذيفان- كاما على الخلايا العدلة (Neutrophils)، والبلعمية الكبيرة (Macrophages)، كما يقوم بتحليل أنواع عديدة من كريات الدم الحمر للبانن، إذ يحلل كريات الدم الحمر للإنسان، والأغنام، والماعز، والدجاج، والأرانب، والكلاب إلى جانب عدم أمتلاكه القابلية على تحليل كريات الدم الحمر للحصان مقابل القدرة على تحليل خلايا الدم البيض للإنسان (Dinges *et al.*, 2000).

4- الذيفان الحال للدم- دلتا (δ -hemolysin)

يتكون هذا الذيفان من حوالي 26 حامضاً أمينياً، ويمتاز بقابليته على تحطيم الأغشية الخلوية لخلايا اللبانن المختلفة، ويبلغ وزنه الجزيئي حوالي 3 كيلو دالتون، وإنّ ما يقارب 97% من سلالات *Staph. aureus* تكون قادرة على إنتاج هذا الذيفان والذي يُشَفَّر له بواسطة مورثة *hld* (Peng *et al.*, 1988).

إنّ ما يقارب 50 - 70% من المكورات العنقودية السالبة لإنزيم مخثر البلازما (CoNS) قادرة على إنتاج الذيفان- دلتا على الرغم من أمراضه التي لا تزال غير واضحة (de Araujo *et al.*, 2017). كما تبينّت فعالية هذا الذيفان في تخرّج الجلد من خلال ظهور تأثيره المميت عند أستعماله بتركيز عالية على الحيوانات المختبرية، كما وُجِدَ أنّ الدهون المفسفرة تعمل على تثبيط

فعالية الذيفان - دلنا (Lee et al., 1987). وبسبب المورثة التركيبية لهذا الذيفان فإن ميكانيكية أفراره غير واضحة بالكامل، والسبب يعود إلى تشفير المورثة التركيبية ضمن جزئية الحامض النووي الرايبوسومي (RNA-3) الذي يؤدي بدوره إلى تنشيط أستنساخ عدد من عوامل الضراوة: كالذيفان - ألفا، وذيفان متلازمة الصدمة السمية، والذيفانات المعوية، إلى جانب كبح أستنساخ بروتينات الخلية السطحية مثل بروتين A؛ لذلك يُلاحظ أن دور الذيفان - دلنا كعامل ضراوة غير معروف بالنسبة لبكتريا *Staph. aureus* (Novick et al., 1993).

2-2-4-5: إنتاج إنزيمات البييتالاكتام β - Lactamase Production

تمتلك مجموعة إنزيمات البييتالاكتام القدرة على تحليل حلقة البييتالاكتام للمضادات الحياتية وتعطيل فعاليتها مثل البنسلينات (Penicillins) والسيفالوسبورينات (Cephalosporins) (Bush, 2001)، مما تمنح صفة المقاومة للبكتريا اتجاه المضادات الحياتية التابعة لها (Jawetz et al., 2016). وتنتج هذه الإنزيمات بنوعين إما بصورة مستمرة مثل الإنزيمات التركيبية أو بصورة مستحثة نتيجة لوجود المضادات الحياتية الحاوية على حلقة البييتالاكتام (Koneman et al., 1997)، فنشقر لها جينات واقعة على كل من الكروموسوم البكتيري، والبلازميدات، والعناصر القافزة (Transposones) (Medeiros, 1997). وعادة ما تُشفّر إنزيمات البييتالاكتام بواسطة مورثات محمولة على البلازميدات التي تحمل أيضاً المورثات المسؤولة عن مقاومة المضادات الحياتية مثل التتراسايكلين (Tetracycline) والإرثروميسين (Erythromycin) (Waldvogel, 2000).
تعمل إنزيمات البييتالاكتام المتواجدة في جميع أنواع البكتريا الموجبة والسالبة لملون كرام على تثبيط فعالية مضادات البييتالاكتام، فضلاً عن كونها مجموعة كبيرة تضم أكثر من 200 نوع عائد لها (إنزيمات البييتالاكتام)، كما تأتي أهميتها من مقدرتها على تكسير حلقة البييتالاكتام لكل البنسلينات والسيفالوسبورينات، مما يجعل من الأدوية غير فعالة ضد البكتريا الفارزة لها (Koneman et al., 1997)، إلى جانب ذلك فإن ما يقارب 90% من المكورات العنقودية الذهبية تفرز إنزيمات البييتالاكتام التي تشكّل نسبة 2% من الوزن الجاف للخلية البكتيرية (Murray et al., 2013).

2-4-6: عوامل ضراوة أخرى Other Virulence Factors

ربطاً بما سبق ذكره من عوامل ضراوة، فهناك إنزيمات وذيوانات أخرى تنتجها بكتريا المكورات العنقودية يكون لها دوراً في أمراضيتها مثل إنتاج إنزيم الكتاليز الذي يقوم بتحويل بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 إلى أوكسجين وماء (Jawetz and Adelberg's, 2016)، وإنتاج الستافيلوكوكاينيز (Staphylokinase) الذي يمتاز بقدرته على تحليل خثرة الليفين مما يسمح للبكتريا بالانتشار خلال أنسجة المضيف المصابة بالحروق والجروح والخدوش وحدوث الاخماج الجلدية (Menestrina *et al.*, 2011). كذلك إنتاج الإنزيم المحلل للدنا DNase الذي يقوم بتكسير DNA خلايا المضيف من خلال عمله على التحلل المائي للأصرة الفوسفاتية ثنائية الأستر الرابطة لوحدات البناء الرئيسية للحامض النووي وتحويله إلى سائل (Jawetz and Adelberg's, 2016)، فضلاً عن إنزيم البروتيز (Protease) الذي يمتلك القدرة على هدم البيبتيدات المنتجة من قبل خلايا العائل وتحليل المواد والعناصر البروتينية الداخلة في تركيب الخلايا وبالتالي يسهم في أمراضية المكورات العنقودية (Bizye *et al.*, 2014).

من الإنزيمات الأخرى التي تفرزها المكورات العنقودية هو إنزيم (Hyaluronidase) أو ما يُسمى بعامل الانتشار الذي يعمل على تحطيم حامض الهايلورونك (Hyaluronic acid) في الأنسجة الرابطة (Murray *et al.*, 2013)، والإنزيم الحال للدهون (Lipase) الذي يعمل على تحلل الشحوم والزيوت وبالتالي يساعد بكتريا المكورات العنقودية على غزو الأنسجة الدهنية (MacFaddin, 2000). كما أنّ الذيفانات الأخرى التي تنتجها هذه البكتريا هي: الذيفان القاتل لخلايا الدم البيض (Leukocidin) الذي يعمل على تحطيم وهدم خلايا الدم البيض بمختلف أشكالها (Demuth and Lamont, 2006)، والبنسلينيز (Penicillinase) المُحطم لحلقة البيتالاكتام في جزيئة البنسلين (Peacock, 2006)، وذيغان تقشر الجلد الذي يعمل على تسلخ الجلد مسبباً متلازمة الجلد السمطي (Henry, 2001). ومن النواتج الأخرى للبكتريا هي إنزيميّ اليوريز (Urease) والجيلاتينيز (Gelatinase) اللذان يعتبران من عوامل الضراوة التي تساهم في انتشار الإصابة إلى الانسجة المجاورة، وبالتالي تلعب دوراً مهماً في أمراضية هذه البكتريا (Murray *et al.*, 2013).

2-3: المضادات الحيوية Antibiotics

عُرفت المضادات الحيوية على إنها مواد كيميائية عضوية تنتجها أنواع مختلفة من الأحياء المجهرية وتكون لها القدرة على قتل (Bactericidal) أو تثبيط (Bacteriostatic) نمو البكتريا دون أن تؤثر على خلايا الجسم (Singh *et al.*, 2015).

2-3-1: البناء الحيوي للمضادات الحيوية Biosynthesis of Antibiotics

تعتبر المضادات الحيوية أحد نواتج الأيض الثانوي؛ إذ يتم إنتاجها بعد اكتمال نمو الخلية ووصولها إلى طور الثبات، ويطلق على الطور الذي يتم فيه إنتاج المضاد الحيوي بطور الإنتاج، وتكون المورثات المسؤولة عن تكوين المضادات الحيوية بنائية (Biosynthetic genes)، إذ تكون حاملة للمعلومات الوراثية المشفرة لبناء المضاد الحيوي، ويتراوح عددها بين 10 - 30 مورثة أغلبها واقعة على الكروموسوم وأحيانا على البلازميد، كما إنها تُشَفَّر لعدد من الانزيمات المتتابعة، إذ تتحفز الانزيمات المسؤولة عن بناء وتكوين المضاد الحيوي بعد مرور 48 ساعة من النمو، لذلك يفضل الكشف عن إنتاج المضاد الحيوي بعد يومين أو ثلاثة أيام من عملية الإنتاج وصولاً إلى مدة أقصاها أسبوعاً واحداً، وبالإمكان زيادة إنتاج المضادات الحيوية بإستعمال المطفرات كالتشعيع (Irradiation) أو إضافة مواد كيميائية، كما أنّ عملية بناء وتكوين المضاد الحيوي تتأثر بالتغيرات النوعية والكمية التي يحددها المصدر النتروجيني، والكربوني، والفوسفاتي (Okafor, 2007).

2-3-2: آلية عمل المضادات الحيوية Action Modes of Antibiotics

تعتمد آلية عمل المضاد الحيوي على وجود تماس مباشر بين المضاد الحيوي وموقع الهدف (Target site) المخصص لذلك المضاد داخل خلية البكتريا دون أن يؤثر ذلك على خلايا جسم الإنسان (جدول 2-3)، وهذه المضادات مثبّطة لموقع الهدف مثل: تثبيط كلاً من بناء الجدار الخلوي، وبناء الغشاء البلازمي، وتخليق البروتين، وعملية الإستنساخ والترجمة، وتخليق الأحماض النووية RNA و DNA (Jawetz *et al.*, 2016; Talaro, 2008). يمكن تقسيم المضادات الحيوية على أساس آلية عملها وفقاً لـ Bernatova وجماعته (2013) إلى:

1. مضادات حيوية قاتلة للبكتريا: تمتلك القدرة على تحطيم وقتل البكتريا المرضية.

2. مضادات حيوية مثبطة لنمو البكتيريا: تمتلك القدرة على تثبيط وإيقاف نمو البكتيريا وأبقائها في طور الثبات ثم بعد ذلك يقوم الجهاز المناعي بوظائفه المتمثلة بتحطيم وقتل البكتيريا.

جدول 2-3: مجاميع المضادات الحيوية الموزعة بحسب موقع الهدف ومستوى الفعالية (Talaro, 2008)

مستوى الفعالية	موقع الهدف (التثبيط)	أنواعها	مجاميع المضادات الحيوية
قتل البكتيريا الموجبة والسالبة لملون كرام	تخليق الجدار الخلوي	Penicillin G, Amoxicillin, Ampicillin, Oxacillin, Amoxicillin- Clavulanic acid	البنسلينات (Penicillins)
		Cefoxitin, Ceftriaxone	السيفالوسبورينات (Cephalosporins)
		Vancomycin	الكلايكوببتيدات (Glycopeptides)
تثبيط نمو البكتيريا الموجبة والسالبة لملون كرام	تخليق البروتين	Chloramphenicol	الكلورامفينكول (Chloramphenicol)
	تخليق حامض الفوليك	Trimethoprim	مثبطات (DHFR)
	إنزيم تغيير شكل الحامض النوي DNA topoisomerases	Ciprofloxacin	الفلوركوينولونات (Fluorquinolones)
	تخليق البروتين	Tetracycline, Doxycycline	التيتراسايكلينات (Tetracyclins)
قتل البكتيريا السالبة لملون كرام	تخليق البروتين	Gentamycin, Amikacin	الأمينوكلايكوسيدات (Aminoglycosides)
تثبيط نمو البكتيريا الموجبة لملون كرام	تخليق البروتين	Azithromycin, Clindamycin	الماكروليدات (Macrolides)
تثبيط نمو البكتيريا الموجبة والسالبة لملون كرام	تخليق الجدار الخلوي	Imipenem	الكاربابينيمات (Carbapenems)
	تخليق mRNA	Refampin	الريفامبين (Refampin)
	تخليق الجدار الخلوي	Nitrofurantoin	النتروفيرانتين (Nitrofurantoin)

2-3-3: مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية Bacterial Resistance of Antibiotics

غالباً ما يُشَقَّر لمقاومة البكتريا للمضادات الحيوية مورثات محمولة إما على الكروموسوم البكتيري أو البلازميد، وقد تنشأ المقاومة نتيجة حدوث طفرة جزاء الإستعمال الواسع والعشوائي لهذه المضادات، كما هو الحال في إنتاج إنزيمات البيتالاكتام (Talaro, 2008).

إنَّ من أكثر آليات المقاومة أهميةً هي تحطيم حلقة البيتالاكتام بفعل إنزيمات البيتالاكتام المتضمنة مجموعتي البنسلينات والسيفالوسبورينات (Guilfoile *et al.*, 2007)، إذ يتضمن تأثيرها الكبير على البكتريا الموجبة والسالبة لملون كرام من خلال غلق الارتباط العرضي (Cross linking) في طبقة الببتيدوكلايكان أثناء عملية تخليق مكونات الجدار الخلوي بسبب الارتباط بين حلقة البيتالاكتام والإنزيمات Penicillin-binding proteins (PBPs) المشتركة في تخليق البروتين من خلال عمليات الارتباط العرضي في الجدار الخلوي فضلاً عن إيقاف عملية تخليق جدار الخلية بفعل ارتباط مضادات البيتالاكتام مع إنزيمات PBPs، ونتيجة لذلك تموت الخلية بسبب زيادة الضغط الأزموزي وعدم بقائها عند الضغط الواطئ، إلى جانب ذلك تمتاز مضادات البيتالاكتام بطيفها الواسع في العمل ضد أنواع مختلفة من البكتريا الموجبة والسالبة لملون كرام مما يجعل منها قاتلة للبكتريا بالدرجة الأساس (Forbes *et al.*, 2007; Al-camo, 2001).

2-3-4: مقاومة بكتريا المكورات العنقودية للمضاد الحياتي الميثيسيلين (Methicillin)

ظهرت المقاومة البكتيرية للميثيسيلين بعد مدة قصيرة من إدخال هذا المضاد إلى حيز الإستعمال؛ إذ كانت من نوع المقاومة الداخلية (Jones *et al.*, 1997) Intrinsic. ثم أخذت المقاومة للميثيسيلين بالانتشار خارج المستشفيات وبالأخص عند الأشخاص المصابين بالأمراض المزمنة وكذلك الذين يتعاطون بإفراط للمضادات الحيوية بمعزل عن الإستشارة الطبية (Cox *et al.*, 1995).

تعدُّ المكورات العنقودية المقاومة للميثيسيلين (MRSA) إحدى أهم مسببات الأمراض في العالم طوال خمسة عقود مضت وما تزال بتزايد مستمر (Al-Rawahi *et al.*, 2008)، نتيجةً لمقاومتها طيفاً واسعاً من مضادات البيتالاكتام وأنواعاً أخرى من المضادات الحيوية (NCCLS, 2003)، بسبب إنتاجها بروتينات رابطة للبنسلين تعرف بـ PBP2a أو PBP2'، وهي تختلف عن المجموعة الداخلة ضمن أنواع البروتينات الرابطة للبنسلين PBPs، فضلاً عن آلية عملها في تقليل

الألفة أو التجانس مع مضادات البيتا لاكتام، وهذا ما يفسر قدرة المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين في إكمال بناء جدار الخلية على الرغم من وجود التراكيز المثبطة لمضادات البيتا لاكتام بالإعتماد على الفعالية غير المثبطة لـ PBP2a فقط (Ito et al., 2004).

إنَّ وجود قطعة إضافية من DNA على كروموسوم *Staph. aureus* تعرف بـ *mecA* يتراوح طولها من 30 – 50 كيلو زوج قاعدة، تكون الأساس الجزيئي لمقاومة البكتريا للمثيسيلين فضلاً عن عدم وجود هذه القطعة في عزلات المكورات العنقودية الذهبية الحساسة للمثيسيلين (Oliveira et al., 2000). وتُشفَّر بروتينات PBP2a بوساطة مورثة *mecA* المتواجدة على كروموسومات (MRSA)، فضلاً عن إدخال مورثة *mecA* في بعض سلالات MRSA وتحديد تسلسل القواعد النروجينية لها (Song et al., 1987)، إلى جانب تحديد تواجد تلك المورثة في المكورات العنقودية الذهبية والمكورات العنقودية السالبة لإنزيم مخثر البلازما (Deplano et al., 1997)، ومن خلال ذلك يمكن الإستنتاج بأن مقاومة المثيسيلين تتحدد بمحددات المورثة (*mec determinants*) التي تكون حرة الإنتقال بين أنواع المكورات العنقودية، وهو ما يفسر إنتقال وإنتشار المقاومة للمثيسيلين بين الأنواع البكتيرية (Katayama et al., 2000).

حدَّد Hiramatsu وجماعته (1999) الرمز (SCCmec) Staphylococcal chromosome cassettes *mec* للدلالة على العناصر الوراثية للعنقوديات بالإعتماد على *mecDNA* كونه عنصراً وراثياً جديداً؛ إذ ميّزت مورثتان عالية الفعالية *ccrA* و *ccrB* في عملية تكوين الإتحادات الجديدة وتكونان متمركزتين في الجزء الكروموسومي *SCCmec*، ويعملان على تشفير الببتيد المتعدد *CcrA* و *CcrB* على التوالي، فيحتوي الأول على 499 حامضاً أمينياً بينما يحتوي الثاني على 542 حامضاً أمينياً إلى جانب ذلك توجد على يسار ويمين (*SCCmec*) مناطق مقاومة للمضادات الحياتية مثل الموقع الذي يحمل معقد مورثات المقاومة للمضادات الحياتية *mecI-mecR1-mecA* gene complex ويعمل على تشفير المقاومة للمضادات الحياتية المختلفة، كما أنَّ مورثة *mecA* المسؤولة عن المقاومة لمضاد المثيسيلين غالباً ما تُحمل من بعض السلالات لبكتريا *Staph. aureus* وأنواع المكورات العنقودية الأخرى (Suzuki et al., 1992). ومن جانب آخر فإن المورثة المقاومة للمثيسيلين قد تكون محمولة بواسطة عناصر وراثية جديدة (*SCCmec*) تستطيع الإندماج والإستثارة من خلال مورثات الإتحادات الجديدة (*ccrA* و *ccrB*)، بيد أنَّ دراسة توزيع *SCCmec* تساعد على تفسير تبادل المعلومات المهمة بين الأنواع المختلفة

وبكتريا المكورات العنقودية الذهبية إلى جانب ذلك فإن معرفة آلية تنظيم SCCmec ربما تسهم في إنتاج مضاد جديد يتم من خلاله تحويل السلالات المقاومة (MRSA) إلى حساسة Methicillin- sensitive Staphylococcus aureus (MSSA) (Ito et al., 2004).

يُعتقد أنّ مجموعة البنسيلينات الثابتة (Stable penicillins) التي تضم عدة مضادات حيوية مثل الميثيسيلين والأوكزاسيلين والنافسيلين تمتلك تأثيرات محفزة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية على المقاومة (MacFaddin, 2000). إلا أنّ بعض الدراسات أظهرت إمتلاك هذه المجموعة تأثيراً ضعيفاً على تحفيز المقاومة للميثيسيلين، إذ تنشأ مقاومة *Staph. aureus* نتيجة الإكتساب من إنتقالها من الأنواع البكتيرية السالبة لإنزيم مخثر البلازما (CoNS) بواسطة آليات الإنتقال الوراثي المتمثلة بالإقتران البكتيري، والتحول الوراثي، والعاثي البكتيري (Waldron and Lindsay, 2006; Lindsay et al., 2006). وذكر McKinney وجماعته (2001) بأن المضاد الحيوي السيفوكسيتين (Cefoxitin) أو السيفاماميسين (Cephameycin) ذو قدرة كامنة على تحفيز أنظمة تنظيم مورثة *mecA* أكثر من البنسيلينات، في حين أكدّ Darini وجماعته (2004) على عدم تحفيز السيفوكسيتين لإنتاج PBP2a في عزلات (MSSA) ولكنه يعمل على تحفيز المقاومة الكامنة في العزلات ذات المقاومة غير المتجانسة.

2-4: التأثيرات الحيوية للإشعاع المؤين على الخلية البكتيرية

Biological effect of Ionizing Radiations on Bacterial Cell

يؤثر الإشعاع على الخلية الحية بإحداث تأين أولي (Primary ionization) أو ترسيب طاقة (Energy deposition) في أجزاء الخلية المهمة، كما أن تثبيط الخلية بتأثير الجذور الحرة قد يحدث بصورة مباشرة أو غير مباشرة (Ballarini et al., 2008). وإنّ سلسلة التفاعلات الكيميائية المؤدية إلى التدمير الحيوي للجزيئات المختلفة لا تستغرق إلا جزء بالمليون من الثانية بينما تثبيط الضرر وظهوره قد يستغرق ساعاتٍ أو أيامٍ أو حتى سنوات (Scholz and Elsässer, 2007). كما تختلف حساسية الخلايا للإشعاع التي تتناسب طردياً مع النشاط التكاثري لها وعكسياً مع التخصص الخلوي بحسب قانون "Bergonei and Tribondeau Law" الذي بموجبه تكون الخلية البكتيرية النشطة تكاثرياً حساسة جداً للإشعاع، ووفقاً لما جاء عن الوكالة الدولية للطاقة الذرية (IAEA, 2004) أنّ الإشعاع المؤين يجعل جزيئات الماء المشحونة تنفصل إلى الجذور الحرة

بسهولة عندما يمر في الخلية الحية مكونةً جذور الهيدروكسيل الحرة ذات القابلية العالية للتفاعل الكيميائي والتي يمكن أن تغير في تركيب جزيئات مهمة في حيوية الخلية، وأحد أهم تلك الجزيئات هي DNA المسيطر على الصفات الوراثية المشفرة لوظائف الخلية المختلفة.

2-4-1: التأثير الحيوي للأشعة السينية على الخلية البكتيرية

Biological Effect of X – ray on Bacterial Cell

الأشعة السينية هي أشعة كهرومغناطيسية ذات طول موجي قصير (أقل من 100 نانومتر) لها القابلية على أختراق المواد بدقة عالية وبسبك يتراوح من 60 - 100 سم اعتماداً على الطاقة المستعملة (Mettler Jr., 2009). وعلى الرغم من دراساتٍ عدة أثبتت أن الأيونات والذرات المثيعة والجزيئات المتولدة خلال التشعيع ليس لها تأثير سام على الإنسان (FDA, 2000). إلا أن فعاليتها العالية في إختزال 99.9% من المحتوى الجرثومي أثبتت خلال معاملات تعقيم الأغذية (Bryniolfsson, 1975). وهذه العملية تتم وفقاً لـ Farkas (1997) من خلال:

1. التداخل المباشر للإشعاع مع مكونات الخلية.
2. التداخل غير المباشر من خلال عمل نواتج الإشعاع الأيونية Radiolytic ions مثل جذور الماء (H^+ و OH^- و e_{aq}^-). هذا وأن تأثير الإشعاع المؤين على DNA الكروموسومي قد يسبب تغيراتٍ فيه بمعزل عن الغشاء السايوتوبلازمي مما يتسبب بتثبيط نمو الجراثيم (Grecz et al., 1983). وعلى الرغم من الإحتياطات المتخذة (الجدار الرصاصي العازل لمنع أختراق الأشعة وتسربها) بعدم التعرض المباشر للمصورين الشعاعيين العاملين في حقل الأشعة السينية التشخيصية، إلا أنهم قد يتعرضون لجرع واطئة ناتجة عن انعكاس الفوتونات والأشعة عن الجدران والأثاث ضمن حيز ردهة التصوير؛ إذ يظهر تأثيرها (الجرعات) التراكمي مجتمعاً في الخلية مولدةً الضرر، بيد أن التعرض لتلك الجرعات الواطئة على فتراتٍ طويلة يترك للخلية فرصة كبيرة لإصلاح الضرر عن طريق أستحداثات الجزيئات (IAEA, 2004). كما أن إستحداثات الجزيئات بواسطة الجرعة القليلة يمكن تفسيره وفق آليتي ظاهرة الإستحداثات على المستوى الجزيئي (Javad Mortazavi, 2004) من خلال:

1. إصلاح الدنا DNA repairing من خلال إستحداثات الجرعات الواطئة للإشعاع المؤين على تكوين البروتينات المساهمة في تلك العملية.
2. إزالة التسمم بواسطة الجذور الحرة Free radical detoxification.

كما تسبب الجرعات الواطئة للإشعاع المؤين تثبيطاً مؤقتاً في تخليق DNA الخلية الحية المعرّضة (يستمر مدة 5 ساعات كحد أعلى بعد التعرض)، وهو ما يمنح الخلايا المعرّضة للإشعاع وقتاً أطول في الشفاء وأصلاح الضرر، إلى جانب ذلك فإن التثبيط قد يحث أيضاً على إنتاج الجذور الحرة التي تجعل الخلايا المعرّضة للإشعاع أكثر مقاومةً لأي تعرض آخر (Feinendengen *et al.*, 1987).

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

Materials and Methods

3: المواد وطرائق العمل

3-1: المواد

3-1-1: الأجهزة والأدوات المختبرية Laboratory Apparatus and Equipments

جدول 3-1: الأجهزة والأدوات المختبرية المستعملة قيد الدراسة ومناشئها

المنشأ	أسم الجهاز أو الأداة	ت
BioRad (Korea)	Thermocycler apparatus (PCR)	1 جهاز الدورات الحرارية (PCR)
Concord (Lebanon)	Refrigerator	2 ثلاجة
CYAN (China)	Vortex	3 المازج
Difco (USA)	Filter papper	4 ورق ترشيح (0.22 مايكرومتر)
Eriotti (Italy)	Electric oven	5 فرن كهربائي
Gallenkamp (England)	Autoclave	6 موصدة
	Hot plate	7 صفيحة التسخين
	Incubator	8 حاضنة
	Magnetic stirrer	9 محرك مغناطيسي
	Sensitive electronic balance	10 ميزان إلكتروني حساس
	Water distillator	11 جهاز التقطير
Hettich (Germany)	High speed cold centrifuge	12 جهاز النبذ المركزي المبرد عالي السرعة
John Bolten (England)	Standard wire loop	13 الناقل الزرعي القياسي
Memmert (Germany)	Water bath	14 حمام مائي
Olympus (Japan)	Compound light microscope	15 مجهر ضوئي مركب
Radiometer (Danmark)	pH meter	16 مقياس الدالة الحامضية
Sigma (England)	Ependorff tubes	17 أنابيب إيندروف
	Collection tubes	18 أنابيب جمع
Sony (Japan)	Digital camera	19 كاميرا رقمية
Sterellin Ltd. (England)	Sterilized cotton swabs	20 مسحات قطنية معقمة
Superestar (India)	Disposable Petri dishes	21 أطباق بتري ذات إستعمال واحد
	Test tubes	22 أنابيب إختبار
	Slides and cover slides	23 شرائح زجاجية وغطاء الشريحة
Thermo (USA)	Nanodrop spectrophotometer	24 جهاز فحص الحامض النووي
UVP (USA)	U.V Transilluminator	25 مصدر الأشعة فوق البنفسجية

3-1-2: المواد المختبرية Laboratory Materials

3-1-2-1: الأوساط الزرعية الجاهزة Standard Culture Media

جدول 3-2: الأوساط الزرعية الجاهزة المستعملة قيد الدراسة ومناشئها

المنشأ	الغرض من الإستعمال	أسم الوسط الزرعى	ت
Biolife (Italy)	إستعمل للكشف عن التحليل الكامل أو الجزئي للسكريات وإنتاج الإستيل مثل كاربون	مرق المثل الأحمر / فوكس - بروسكاور MR/ VP broth	1
Himedia (India)	للكشف عن قابلية البكتريا على إنتاج الهيموليسين	أساس أكار الدم Blood agar base	2
	وسط إنتخابي للبكتريا السالبة لصبغة كرام وللتمييز بين البكتريا المخمرة وغير المخمرة للاكتوز	أكار الماكونكي MacConkey agar	3
	للتفريق بين المكورات العنقودية المخمرة وغير المخمرة للمانيتول	أكار ملح المانيتول Mannitol salt agar	4
	حفظ العزلات البكتيرية وأدامتها	المرق المغذي Nutrient broth	5
	للكشف عن قابلية البكتريا على إنتاج غاز H ₂ S وتخمير السكريات	أكار كليكلر - الحديد Kligler's - Iron agar (KIA)	6
	لفحص حساسية ومقاومة البكتريا للمضادات الحيوية	أكار مولر - هنتون Muller-Hinton agar	7
	وسط عام للتنمية	الأكار المغذي Nutrient agar	8
	للكشف عن قابلية البكتريا على تكوين الغشاء الحيوي	مرق الصويا التربتي Tryptic soy broth	9
Oxoid (England)	لفحص قابلية البكتريا لإستهلاك السترات	أكار سيمون ستريت Simmons citrate agar	10
	لفحص قابلية البكتريا على إنتاج اليوريز	أساس أكار اليوريا Urea agar base	11
	وسط لتنشيط العزلات البكتيرية ونقلها	مرق نقيع الدماغ - القلب Brain-heart infusion broth	12
	للكشف عن قابلية البكتريا على إنتاج حلقة الأندول	مرق ماء البيبتون Peptone water broth	13

Standard Dyes and Reagents :2-2-1-3 الصبغات والكواشف الجاهزة

جدول 3-3: الصبغات والكواشف الجاهزة المستعملة قيد الدراسة ومناشئها

المنشأ	أسم الصبغة أو الكاشف	ت
B.D.H. (England)	Methyl red	1 صبغة المثيل الأحمر
	Indian ink	2 صبغة الحبر الهندي
	Oxidase reagent	3 كاشف الأوكسديز
Biobasic (Canada)	Dye ethidium bromide	4 صبغة بروميد الأثيديوم
SDI (Iraq)	Hydrogen peroxide (H ₂ O ₂)	5 كاشف بيروكسيد الهيدروجين 3%
Sigma (England)	Safranine stain	6 صبغة السفرائين
Syrbio (France)	Gram stain	7 محاليل ملون كرام

3-2-1-3: المواد الكيميائية Chemical Materials

جدول 3-4: المواد الكيميائية المستعملة قيد الدراسة ومناقشتها

المنشأ	أسم المادة	ت
B.D.H. (England)	α -naphthol	1 ألفا - نفثول
	Ethanol	2 كحول الإيثانول (96%)
	NaCl	3 كلوريد الصوديوم
	Glycerol	4 كليسيرول
	HCl	5 حامض الهيدروكلوريك
	H_2SO_4	6 حامض الكبريتيك المركز
	Formaldehyed	7 محلول الفورمالدهايد
	$BaCl_2 \cdot 5H_2O$	8 كلوريد الباريوم المائي
	Potassium tellurite	9 تيلوريت البوتاسيوم
	Sucrose	10 سكروز
	KOH	11 هيدروكسيد البوتاسيوم
	Urea solution	12 محلول اليوريا
	KI	13 يوديد البوتاسيوم
	Solubile starch	14 النشاء الذائب
	DNA ladder (100pb)	15 سلم الحامض النووي
	K_2HPO_4	16 فوسفات البوتاسيوم أحادية الهيدروجين
	KH_2PO_4	17 فوسفات البوتاسيوم ثنائية الهيدروجين
	Glucose	18 كلوكوز
	Paraffin wax	19 شمع البارافين
Biobasic (Canada)	Agarose gel	20 هلام الأكاروز
	Lysozyme	21 الإنزيم الحال للخلايا
	TBE buffer	22 محلول الترحيل الدائري
Bioneer (Korea)	PCR water	23 ماء تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة
Himedia (India)	Penicillin G Powder	24 مسحوق بنسيلين (G)
Mastdiagnostic (USA)	Iodine	25 اليود
Merk (Germany)	NaOH	26 هيدروكسيد الصوديوم

3-1-2-4: Miscellaneous Materials المواد المتفرقة

جدول 3-5: المواد المتفرقة المستعملة قيد الدراسة ومصدرها

المصدر	أسم المادة	ت
مركز نقل الدم الرئيسي/ الديوانية	Human blood	1 دم الإنسان
	Human plasma	2 بلازما بشرية

3-1-2-5: Antibiotic Discs أقراص المضادات الحيوية

جدول 3-6: أقراص المضادات الحيوية ورموزها وتراكيزها المستعملة قيد الدراسة، المُجهزة من

شركة Bioanalyse التركيبية

التركيز	الرمز	أقراص المضادات الحيوية	ت
10 µg	AK	Amikacin	1
25 µg	AX	Amoxicillin	2
20/10 µg	AUG	Amoxicillin - Clavulanic acid	3
25 µg	AM	Ampicillin	4
15 µg	ATH	Azithromycin	5
30 µg	FOX	Cefoxitin	6
30 µg	CRO	Ceftriaxone	7
30 µg	C	Chloramphenicol	8
10 µg	CIP	Ciprofloxacin	9
10 µg	DA	Clindamycin	10
30 µg	DO	Doxycyclin	11
10 µg	GEN	Gentamicin	12
10 µg	IPM	Imipenem	13
30 µg	NIT	Nitrofurantoin	14
5 µg	OX	Oxacillin	15
10 units	P	Penicillin G	16
5 µg	RA	Rifampin	17
30 µg	TE	Tetracycline	18
5 µg	TM	Trimethoprim	19
30 µg	VA	Vancomycin	20

Standard Kits : العدد الجاهزة 6-2-1-3

جدول 3-7: العدد الجاهزة المستعملة قيد الدراسة ومكوناتها ومناشئها

المنشأ	مكوناتها	أسم العدة
BioMerieux (France)	—	عدة تشخيص بكتريا المكورات العنقودية API-Staph. Kit
Bioneer (South Korea)	Tag DNA polymerase 1U	عدة مزيج تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة AccuPower® PCR PreMix
	dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) each: 250 µM	
	Tris-HCl (pH 9.0) 10 µM	
	KCl 30 µM	
	MgCl ₂ 1.5 µM	
	Loading dye	
Geneaid (USA)	GT Buffer 30 ml	عدة أستخلاص الحامض النووي البكتيري Presto™ Mini gDNA Bacteria Kit
	GB Buffer 40 ml	
	W1 Buffer 45 ml	
	Wash Buffer 100 ml	
	Elution Buffer 30 ml	
	GD Colum 100 pcs	
	2 ml collection tubes 100 pcs	

3-1-2-7: البادئات Primers

أستعملت بادئات خاصة لمورثات التشخيص والضرارة والمقاومة للمضادات الحياتية من خلال تصميم هذه البادئات من قبل الباحث وذلك بإستعمال موقع NCBI GeneBank، وبرنامج تصميم البادئات Primer 3 plus، فضلاً عن تجهيز تلك البادئات بواسطة شركة Bioneer/ كوريا الجنوبية.

جدول 3-8: البادئات المستعملة قيد الدراسة وتسلسل قواعد النروجينية وحجوم نواتج التضخيم

نوع البادئ	أسم البادئ	تسلسل القواعد النروجينية (5'-3')	حجم ناتج التضخيم (bp)
بادئات مورثات التشخيص	16S rRNA gene <i>Staph. haemolyticus</i>	F GCGGTAATACGTAGGTGGCA	470
		R GGGTCCCCGTCAATTCCTTT	
بادئات مورثات التشخيص	16S rRNA gene <i>Staph. epidermidis</i>	F GAGCTTGCTCCTCTGACGTT	475
		R TGCCACCTACGTATTACCGC	
بادئات مورثات التشخيص	16S rRNA gene <i>Staph. aureus</i>	F TCAACCGTGGAGGGTCATTG	556
		R GTTTGTCAACCGGCAGTCAAC	
بادئات مورثات عوامل الضرارة	<i>hla</i> gene	F GCGGCCTTATTGGTGCAAAT	289
		R GCGAAGTCTGGTGAAAACCC	
بادئات مورثات عوامل الضرارة	<i>icaA</i> gene	F TCGTTGATCAAGATGCACCA	380
		R GCGTTGCTTCCAAAGACCTC	
بادئات مورثات عوامل الضرارة	<i>hlyB</i> gene	F TGCTGAAGATGGTGGCGTAG	400
		R TGATTGAGGGTCCCATGTGC	
بادئات مورثات مقاومة بعض المضادات الحياتية	<i>blaZ</i> gene	F ACAGTTCACATGCCAAAGAGT	477
		R TACCGAAAGCAGCAGGTGTT	
بادئات مورثات مقاومة بعض المضادات الحياتية	<i>mecA</i> gene	F TCTTGGGGTGGTTACAACGT	541
		R ACCACCCAATTTGTCTGCCA	

R: Reverse primer البادئ العكسي

F: Forward primer البادئ الأمامي



شكل 1-3: مخطط توضيحي لخطوات العمل المتباعدة قيد الدراسة

2-3: طرائق العمل Methods

1-2-3: التعقيم Sterilization

عُقِّمَت جميع الأدوات الزجاجية المختبرية التي تحتاج إلى تعقيمٍ جافٍ بواسطة الفرن الكهربائي عند درجة حرارة 180° م لمدة ساعتين، في حين عُقِّمَت الأوساط الزرعية والمحاليل التي تحتاج إلى تعقيمٍ رطبٍ بواسطة جهاز الموصدة عند درجة حرارة 121° م وضغط 15 باوند/ إنج² لمدة 15 دقيقة، فضلاً عن استعمال ورق الترشيح (قطر الفتحة الواحدة = 0.22 مايكرومتر) في تعقيم المواد والمحاليل التي تتأثر بالحرارة (Harley and Prescott, 1996).

2-2-3: تحضير الكواشف والمحاليل Preparation of Reagents and Solutions

1-2-2-3: الكواشف

1- كاشف إختبار الأوكسديز Oxidase test reagent: إِسْتُعْمِلَ للكشف عن قابلية البكتريا على إنتاج إنزيم الأوكسديز (Harley and Prescott, 1996).

2- كاشف إختبار الكتاليز Catalase test reagent: إِسْتُعْمِلَ للكشف عن قدرة البكتريا على إنتاج إنزيم الكتاليز (Greenwood, 2012).

3- كاشف كوفاكس Kovac's reagent: إِسْتُعْمِلَ في أختبار الأندول، إذ حُضِرَ من أذابة (5) غم من مادة Para-dimethyl aminobenzaldehyde في (75) مل من كحول الأيزوبروبيل بإستعمال حمام مائي وأكْمِلَ الحجم إلى (100) مل من HCl ليصبح لون الكاشف أصفر شاحب، ومن ثمَّ حفظ بقنينة معتمة في الثلاجة (Harley and Prescott, 1996).

4- كاشف أحمر المثيل Methyl red reagent: حُضِرَ من أذابة (0.1) غم من المثيل الأحمر في (300) مل من الكحول المثيلي بتركيز 95% وأكْمِلَ الحجم إلى (500) مل بإضافة (200) مل من الماء المقطر (Harley and Prescott, 1996).

5- كاشف فوكس- بروسكاور Voges-Proskauer reagent: إِسْتُعْمِلَ للكشف عن قدرة البكتريا على تخمير سكر الكلوكوز وإنتاج الأسيثيل مثيل كاربينول Acetyl methyl carbinol، إذ حُضِرَ من المحاليل أدناه بحسب MacFaddin (2000):

- محلول (أ) ألفا- نفثول 5%: حُضِرَ من أذابة (5) غم من الألفا- نفثول في (100) مل من الكحول الأثيلي بتركيز 96%.

- محلول (ب) هيدروكسيد البوتاسيوم 40%: حُضِرَ من أذابة (40) غم من KOH في حجم من الماء المقطر ثمَّ أكْمِلَ إلى (100) مل.

3-2-2-2: المحاليل

1- محلول الملح الفسلجي Normal saline: حُضِرَ من أذابة (0.85) غم من NaCl في (90) مل من الماء المقطر وأكْمِلَ الحجم إلى (100) مل بالماء المقطر ثمَّ عَقِّمَ بالموصدة وحفظ بدرجة حرارة 4°م لإجراء التخافيف المطلوبة (Baron and Finegold, 1995).

2- أنبوبة ماكفرلاند القياسية (0.5) McFarland tube standard No.: حُضِرَت وفقاً لما جاء في NCCLS (2003)، لإعطاء عدداً تقريبياً للخلايا قَدْرَ ب (15 × 10⁸) خلية/مل.

3- دارئ الفوسفات الملحي (PBS): حُضِرَ وفقاً لما أورده Sambrook وجماعته (2001) من أذابة (0.144) غم من KH₂PO₄ و (0.79) غم من Na₂HPO₄ و (9) غم من NaCl في (800) مل من الماء المقطر، وُضِبَط الأَس الهيدروجيني إلى (7.4) ثمَّ أكْمِلَ الحجم بالماء المقطر إلى اللتر وعَقِّمَ بالموصدة.

4- محاليل الكشف عن إنزيمات البيتالكتام (طريقة اليود القياسية السريعة) المكوّنة من:

أ- محلول النشاء الذائب: حُضِرَ من أذابة (1) غم من النشاء في (90) مل من الماء المقطر يوضع المزيج في حمام مائي هزاز عند درجة حرارة 100°م لمدة 10 دقائق، وأكْمِلَ الحجم إلى (100) مل.

ب- محلول اليود: حُضِرَ من أذابة (2.03) غم من اليود و (5.32) غم من KI في (50) مل من الماء المقطر وأكْمِلَ الحجم إلى (100) مل ثمَّ حفظ في قنّانٍ معتمة في الثلاجة عند درجة حرارة 4°م.

ج- محلول بنسلين G: حُضِرَ من أذابة (0.6) غم من مسحوق المضاد الحيوي (بنسلين G) في (50) مل من دارئ الفوسفات الملحي وأكْمِلَ الحجم إلى (100) مل ثمَّ عَقِّمَ المحلول بالترشيح وُضِبَط الأَس الهيدروجيني إلى (7.2) وحفظ بالتبريد عند درجة حرارة -20°م. (Greenwood, 2012).

3-2-3: تحضير الأوساط الزرعية Preparation of Culture Media

1-3-2-3: الأوساط الزرعية الجاهزة Standard Culture Media

أستعملت الأوساط الزرعية الجاهزة قيد الدراسة ضمن الجدول (2-3) وفقاً لتعليمات مناقشائها، وأتُبعت عملية التعقيم بحسب ما وردَ آنفاً (الفقرة: 1-2-3).

2-3-2-3: الأوساط الزرعية التركيبية Structural Culture Media

1- وسط أكار الدم Blood agar medium: إِسْتَعْمِلَ للكشف عن قابلية البكتيريا على تحليل الدم، وحضّر وفقاً لتعليمات الشركة المُنتجة له من أذابة (40) غم من أساس أكار الدم في (950) مل من الماء المقطر، وضبط الأس الهيدروجيني على (7.4) وأكمل الحجم إلى (1) لتر ثمَّ عُقِّم بالموصدة وبُرِّدَ إلى درجة حرارة 55°م ومن ثمَّ أُضيفَ إليه دم الإنسان المعقم والمغسول بنسبة (5%)، ليتم بعد ذلك صب الوسط في أطباق بتري وترك ليتصلب وحفظ عند درجة حرارة 4°م (MacFaddin, 2000).

2- وسط أكار اليوريا Urea agar medium: إِسْتَعْمِلَ للكشف عن قابلية البكتيريا على إنتاج إنزيم اليوريز، وحضّر وفقاً لتعليمات الشركة المُنتجة له من أذابة (2.4) غم من أساس أكار اليوريا في (95) مل من الماء المقطر ثمَّ عُقِّم بالموصدة وبُرِّدَ إلى درجة حرارة 45°م ومن ثمَّ أُضيفَ إليه (5) مل من محلول اليوريا المعقم بالترشيح، ليتم بعد ذلك صب الوسط في أنابيب اختبار معقمة وتُركت لتتصلب بصورة مائلة (Forbes et al., 2007).

4-2-3: جمع العينات Collection of Samples

جُمعت العينات (العزلات البكتيرية) من مستشفيات كلِّ من: الديوانية التعليمي، والنسائية والأطفال التعليمي، والحسين (ع) للأطفال، والحمزة (ع) العام، وعفك العام، والشامية العام من مناطق مختلفة من أجسام العاملين في وحدات الرنين المغناطيسي، والمفراس الحلزوني، والأشعة السينية، فضلاً عن عمال المطاعم، وللفترة من (1/ 11 / 2016) ولغاية (1/ 4 / 2017)، وبمجموع كلي بلغ (200) عينة (ملحق 1) توزعت كالاتي:

- 50 عينة من الأشخاص العاملين في وحدة الرنين المغناطيسي.
- 50 عينة من الأشخاص العاملين في وحدة المفراس الحلزوني.
- 50 عينة من الأشخاص العاملين في وحدة الأشعة السينية.

- 50 عينة من حاملي الاغذية.

أُخذت المسحات من مناطق مختلفة شملت: الأنف، والأذن، والجلد، والجروح، والأدرار وبأعمار مختلفة من كِلا الجنسين، وأستعملت المسحات القطنية الحاوية على وسط ناقل Transport media swabs من نوع Amies في عملية جمع العزلات لضمان حيويتها.

3-2-5: زرع العينات Culture of Samples

نُقلت المسحات الحاوية على وسط ناقل (الفقرة أعلاه) إلى المختبر مباشرةً خلال (20 - 30) دقيقة، وُزرعت بطريقة التخطيط على أطباق كلٍ من وسط أكار الدم ووسط أكار الماكونكي، بعدها حُضنت الأطباق عند درجة حرارة 37°م لمدة (24) ساعة، فضلاً عن حضن الأطباق التي لم يظهر فيها نمو خلال (24) ساعة لمدة (24) ساعة أخرى قبل اعتبارها نتيجة سالبة.

3-2-6: تشخيص العزلات البكتيرية Diagnosis of Bacterial Isolates

إعتماداً على الفحص المجهرى والصفات الزرعية والإختبارات الكيموحيوية شُخصت عزلات المكورات العنقودية، وكما يأتي:

3-2-6-1: الصفات الزرعية Cultural Characteristics

حُدّدت الصفات الزرعية للمستعمرات النامية على الأوساط الزرعية الآتية:

- وسط أكار الدم: حُدّدت بواسطته الصفات الشكلية للمستعمرات النامية وألوانها، كما تمّ الكشف بواسطته عن إنتاج البكتريا لإنزيم الهيموليسين.
- وسط أكار الماكونكي: يُعدّ وسطاً تقريبياً لنمو مستعمرات البكتريا السالبة لملون كرام فقط دون الموجبة، وتتم بواسطته دراسة الصفات الشكلية لتلك المستعمرات وتفريق المُخمرة منها لسكر اللاكتوز عن غيرها؛ إذ ظهرت المستعمرات المخمرة لسكر اللاكتوز بألوانٍ حمراء أو وردية على سطح الوسط في حين ظهرت المستعمرات غير المخمرة للسكر شفافة (Winn *et al.*, 2006).

3-2-6-2: الفحص المجهرى Microscopic Examination

ضُبِّغَت جميع العزلات البكتيرية بملون كرام، وثُبِّتت صفاتها المجهرية من حيث شكلها وأصطباغها بملون كرام وتجمُّع الخلايا.

3-2-6-3: الإختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests

1- أختبار الكتاليز Catalase test: أُجْرِي من خلال نقل جزء من مستعمرة فتية بعمر (24) ساعة بواسطة ناقل زرعى إلى شريحة زجاجية نظيفة اضيف لها قطرة من محلول H_2O_2 (3%)، واقتربت النتيجة الموجبة بظهور فقاعات غاز الأوكسجين (MacFaddin, 2000).

2- أختبار الأوكسيديز Oxidase test: أُجْرِي من خلال نقل جزء من مستعمرة فتية بعمر (24) ساعة بواسطة عود خشبي معقم إلى ورقة ترشيح مشبعة بكاشف الأوكسيديز. واقتربت النتيجة الموجبة بظهور اللون الأزرق خلال 10 ثوانٍ (MacFaddin, 2000).

3- أختبار إنتاج مخثر البلازما Coagulase test: أُجْرِي بالإعتماد على طريقة أنبوبة الإختبار (Test tube)، من خلال إضافة (0.5) مل من بلازما الدم غير المخفف إلى أنابيب أختبار حاوية على (0.5) مل من مرق الصويا التربتي والملقحة بالعزلات البكتيرية المستهدفة، إذ حضنت أنابيب الإختبار في حمام مائي عند درجة حرارة 37°م لمدة أربع ساعات، وتم خلالها مراقبة تكوّن الخثرة كونها دليلاً على إيجابية الفحص بينما الأنابيب التي لم تظهر استجابة للإختبار تُركت في الحاضنة مدة (24) ساعة أخرى وعند درجة حرارة 35°م للتأكد من النتائج (MacFaddin, 2000).

4- أختبار تحلل الدم Hemolysis test: أُجْرِي من خلال تلقيح وسط الدم الصلب بمستعمرة فتية بعمر (18 - 24) ساعة، ومن ثمَّ حضنت الأطباق عند درجة حرارة 37°م لمدة (24) ساعة، واقتربت النتيجة الموجبة بظهور مناطق شفافة حول المستعمرات دلالةً على قدرة البكتريا على تحليل الدم (Greenwood, 2012).

5- أختبار عامل التكتل Clumping factor test: وهو إختبار إنزيم مخثر البلازما المرتبط Bound coagulase، وتم من خلال إتباع طريقة الشريحة الزجاجية Slide test، إذ وضعت قطرتان من البلازما على جانبي الشريحة الزجاجية واضيف إلى إحدهما ملء الناقل من مرق الصويا التربتي المُلقح بمستعمرة فتية عمرها (18 - 24) ساعة، بينما اضيف إلى الأخرى قطرة

- من الماء المقطر لغرض المقارنة، مزجت المكونات بعناية للحصول على معلّق متجانس، واقرنت النتيجة الموجبة بظهور خثرة مميزة خلال (5 - 20) ثانية (MacFaddin, 2000).
- 6- اختبار النمو على وسط ملح المانيتول الصلب: Growth test on mannitol salt agar: أُجري من خلال تلقيح الأطباق الحاوية على الوسط بمستعمرة فتية بعمر (24) ساعة، ومن ثمّ حضنت الأطباق عند درجة حرارة 37°م لمدة (24) ساعة. واقرنت النتيجة الموجبة بتغيّر لون المستعمرة والوسط المحيط بها إلى اللون الأصفر الذهبي (Koneman et al., 1997).
- 7- اختبار إنتاج اليوريز Urease test: أُجري من خلال تلقيح وسط اليوريا الصلب بمستعمرة فتية (18 - 24) ساعة ثمّ حضنت عند درجة حرارة 35°م لمدة (24 - 48) ساعة. وكانت النتيجة الموجبة مقترنة بتغيّر لون الوسط من الأصفر إلى الوردي (MacFaddin, 2000).
- 8- اختبار تخمر الكلوكوز لاهوائياً Anaerobic glucose fermentation test: أُجري من خلال تلقيح الأنابيب الحاوية على سكر الكلوكوز بالعزلات البكتيرية، وبعد تغطية سطح الوسط بطبقة من شمع البارافين سُمكها (2) سم حضنت الأنابيب عند درجة حرارة 37°م لمدة (5) أيام. وكانت النتيجة الموجبة مقترنة بتحوّل لون كاشف أحمر الفينول الموجود في الوسط إلى اللون الأصفر كدلالة على وجود بكتريا المكورات العنقودية المنتجة للحامض (Kloos and Schleifer, 1983).
- 9- اختبار تخمر السكريات وإنتاج الغاز Sugar fermentation and gas production test: تمّ الكشف عن قابلية البكتريا على تخمر الكلوكوز واللاكتوز وإنتاج كبريتيد الهيدروجين وذلك بتلقيح الأنابيب الحاوية على وسط Kligler's-iron agar بطريقة الطعن والتخطيط على السطح المائل بالمزروع البكتيري إذ حضنت الأنابيب بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة، وإعتمدت النتيجة على أساس التغيرات في الأس الهيدروجيني (pH) في القعر والسطح المائل، وإنّ تغير لون الكاشف من الأحمر إلى الأصفر دليل على قدرة البكتريا على تخمر سكري الكلوكوز واللاكتوز. أما إنتاج الغاز فيكون على شكل فقاعات أسفل الوسط الصلب، بينما يكون إنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين على شكل راسب أسود أسفل الوسط الصلب (Morello et al., 2006).

10- مجموعة إختبارات IMVC المكوّنة من:

- أختبار إنتاج الأندول Indol production test: أُجري من خلال تلقيح وسط ماء البيبتون بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد إختبارها وحضنت عند درجة حرارة 37°م لمدة (24) ساعة، ومن ثمّ اضيف له عدة قطرات من كاشف كوفاكس. وكانت النتيجة الموجبة مقترنة بظهور حلقة حمراء اللون كدليل على قدرة البكتريا على تحليل الحامض الأميني التربتوفان Tryptophan وإنتاج الأندول (Baron and Finegold, 1995).
- أختبار أحمر المثيل Methyl red test: أُجري من خلال تلقيح الأنايب الحاوية على الوسط الزرعي MR-VP بالمزروع البكتيري وحضنت عند درجة حرارة 37°م لمدة (24) ساعة، ومن ثمّ اضيف إليها عدة قطرات من كاشف أحمر المثيل المُحضّر مسبقاً. وكانت النتيجة الموجبة مقترنة بتحوّل لون الوسط إلى الأحمر بعد عدة دقائق، إذ إستعمل هذا الإختبار للكشف عن قدرة البكتريا النامية على الوسط الغذائي الحاوي على السكر على تخمير الكلوكوز وإنتاج كمية كبيرة من حامض اللاكتيك أو الفورميك خلال (24) ساعة (Brown, 2007).
- أختبار فوكس-بروسكاور Voges-Proskaur test: أُجري من خلال تلقيح الأنايب الحاوية على الوسط الزرعي MR-VP بالمزروع البكتيري وحضنت عند درجة حرارة 37°م لمدة (24) ساعة، ومن ثمّ أُضيف إليها بضع قطرات من كاشف ألفا-نفثول و KOH المُحضّر مسبقاً إلى كل أنبوبة. وكانت النتيجة الموجبة مقترنة بتحوّل لون الوسط إلى الأحمر، إذ استعمل هذا الإختبار للكشف عن قدرة البكتريا على تحليل سكر الكلوكوز جزئياً وتكوين المركب الوسطي (Acetyl methyl carbinol) عند تتميتها على الوسط الحاوي على السكر (Brown, 2007).
- أختبار أستهلاك السترات Citrate utilization test: أُجري من خلال تلقيح وسط السيمون ستريت بجزء من المستعمرة البكتيرية النقية المراد أختبارها، وحضّنه عند درجة حرارة 37°م لمدة (24 - 48) ساعة. وأقترنت النتيجة الموجبة بتغيّر لون الوسط من الأخضر إلى الأزرق دلالةً على أستهلاك البكتريا للسترات كمصدر وحيد للكربون، فضلاً عن أنتاج عدد من المركبات القاعدية المؤدية إلى رفع الأس الهيدروجيني نحو القاعدية في الوسط (Winn et al., 2006).

3-2-6-4: التشخيص بنظام API-20 Staph.

أستعمل نظام API-20 Staph الخاص ببكتريا المكورات العنقودية والمُصنَّع بواسطة شركة BioMerieux الفرنسية لتأكيد تشخيص العزلات قيد الدراسة؛ إذ أستعمل هذا النظام لتشخيص جميع الأنواع التابعة لجنس المكورات بُغية الحصول على نتائج موثوقة وتمييز النوع البكتيري المُنتج لإنزيم مخثر البلازما من *Staph. aureus* عن باقي الأنواع الأخرى المنتجة لهذا الأنزيم (Greenwood, 2012)، ويحتوي هذا النظام على (20) اختباراً تنتظم في شريط على شكل حفر، وكل حفرة تحمل اسم اختبار معين.

أ- مكونات عدة التشخيص بنظام API-20 Staph للمكورات العنقودية

- 1- وسط بكتريا المكورات العنقودية Ampuls of Staph. medium.
- 2- أشرطة الإختبارات التشخيصية API Staph. strips.
- 3- صندوق الحضان Incubation box.
- 4- قطارة الزيت المعدني Mineral oil dropper.
- 5- الكواشف الكيميائية Chemical reagents، وهي:
 - أ- الكاشف الخاص بإختبار إنتاج الأستيتون VP_1 و VP_2 .
 - ب- الكاشف الخاص بإختبار أختزال النترات NIT_1 و NIT_2 .
 - ج- الكاشف الخاص بإختبار إنتاج أنزيم الفوسفاتيز القاعدي ZYMA و ZYMB.

ب- طريقة الإستعمال

- 1- نُثبَّت العزلات البكتيرية المُشخَّصة بواسطة الصفات المظهرية والإختبارات الكيموحيوية المذكورة آنفاً بزرعها على وسط أكار الدم.
- 2- فُتحت القنينة الحاوية على وسط بكتريا المكورات العنقودية (مستخلص الخميرة والبيبتون Peptone-yeast extract) تحت ظروف معقمة، وعُمل عالق بكتيري متجانس من العزلة البكتيرية المراد تشخيصها والوسط المذكور، وقورنت عكورة العالق البكتيري مع عكورة محلول ماكفرلاند القياسي الذي يعطي عدداً تقريبياً للخلايا (1.5×10^8) خلية/مل.

3- ملئت الحُفر الصغيرة الموجودة في الشريط (20 حفرة تحمل كل واحدة منها أسم اختبار معين) بالعالق البكتيري بواسطة ماصة باستور المعقمة مع تجنُّب تكوّن فقاعات هوائية داخل الحفرة.

4- وُضعت (1 - 2) قطرة من الزيت المعدني في الحفرتين ADH و URE الخاصتين باختباري إنزيم اليوريز وتحلل الأرجنين؛ وذلك لتوفير ظروف لا هوائية للتفاعلين.

5- وُضع الشريط بصندوق الحضان البلاستيكي المبلل ببضع قطرات من الماء المقطر المعقم لأجل توفير ظروف رطبة أثناء عملية الحضان عند درجة حرارة 37°م لمدة (18 - 24) ساعة.

ج- قراءة النتائج بحسب بنظام API-20 Staph. للمكورات العنقودية

تمّ قراءة شريط التشخيص بطريقة API للمكورات العنقودية بعد إضافة الكواشف المدرجة أدناه إلى الأختبارات الخاصة بكل منها وحسب تعليمات الشركة المُصنِّعة، وكالاتي:

1- كاشف اختبار فوكس- بروسكاور Voges-Proskauer test: اضيف قطرة واحدة من كل من VP_1 و VP_2 ، وتعد النتيجة موجبة عند ظهور اللون البنفسجي أو الوردي بعد مرور (10) دقائق.

2- كاشف اختبار اختزال النترات Nitrate reduction test: اضيفت قطرة واحدة من كل من NIT_1 و NIT_2 ، وتعد النتيجة موجبة عند ظهور اللون الأحمر بعد مرور (10) دقائق.

3- كاشف اختبار إنزيم الفوسفاتيز القاعدي Alkaline phosphatase test: اضيفت قطرة واحدة من كل من ZYMA و ZYMB، وتعد النتيجة موجبة عند ظهور اللون البنفسجي بعد مرور (10) دقائق.

قُرئت بعد ذلك باقي اختبارات الشريط بالرجوع إلى القائمة التوضيحية المجهزة مع النظام، وتم عمل نموذج رقمي Numerical profile لمخطط التفاعلات الناتج ووزعت فيه الإختبارات على شكل مجاميع احتوى كل منها على ثلاثة اختبارات اشير لها بالأرقام (1، 2، 4)، وبإعطاء الرقم المطابق للتفاعل الموجب لكل مجموعة فإنّ ذلك يؤدي إلى الحصول على نموذج رقمي سباعي للإختبارات العشرين في شريط تشخيص العدة، وبالرجوع إلى دليل نموذج التحليل Analytical profile index (ملحق 2) تم معرفة نوع العزلة البكتيرية بواسطة الرقم المذكور.

3-2-7: حفظ وأدامة العزلات البكتيرية

Preservation and Maintenance of Bacterial Isolates

1- الحفظ قصير الأمد Short period incubation: أُجري من خلال تلقيح الأنابيب الحاوية على الوسط المغذي الصلب المائل بالبكتريا المراد حفظها، وحضنت عند درجة حرارة 37°م لمدة (24) ساعة وحفظت بالتبريد عند درجة حرارة 4°م، وكررت عملية الحفظ لضمان حيوية العزلات وتجنب تلوثها (Greenwood, 2012).

2- الحفظ طويل الأمد Long period incubation: أُجري من خلال تلقيح الأنابيب الحاوية على مرق الصويا التريتي المدعم بالكليسيرون (15%) بالبكتريا المراد حفظها، وحفظت بالتجميد عند درجة حرارة -20°م (Greenwood, 2012).

3-2-8: الكشف المظهري عن بعض عوامل الضراوة البكتيرية

Phenotypic Investigation of Some Bacterial Virulence Factors

1- اختبار أنتاج الهيموليسين Haemolysin production test: أُجري من خلال الطريقة الموصوفة من قبل (Seniror and Hughes 1987) وباستخدام دم الإنسان سُحِبَ 5 مل ووضع في أنابيب إختبار معقمة حاوية على 3% سترات الصوديوم (مادة مانعة للتخثر) ونبذت مركزياً بسرعة 3000 دورة/ دقيقة ولمدة 10 دقائق للتخلص من البلازما والكوليسترول والحصول على راسب كريات الدم الحمر بعدها غُسِلت الخلايا مرتين متتاليتين بالمحلول الملحي الفسلجي المعقم ورُسِبَت بالنبذ المركزي بسرعة 3000 دورة/ دقيقة ولمدة 10 دقائق بعد كل مرة ثم أُضيفت نسبة 5% من الراسب إلى وسط أكار الدم الأساس المعقم بعد تبريده إلى درجة حرارة 45 - 50 °م ثم وُرِعَ الوسط في أطباق بتري معقمة وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة للتأكد من خلوها من التلوث بعدها زُرعت العزلات البكتيرية بطريقة التخطيط وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة لملاحظة قابلية العزلات على تحليل الدم إذ دلَّت النتيجة الموجبة على ظهور مناطق تحلل جزئي (تحلل من نوع α) أو تحلل كلي بشكل هالة شفافة حول المستعمرة (تحلل من نوع β).

2- اختبار تكوين المحفظة Capsule formation test: أُجْرِي من خلال إضافة قطرة من صبغة الحبر الهندي إلى شريحة زجاجية معقمة (طريقة المسحة الرطبة أو التصبيغ السالب) حاوية على (1) مل من المزروع البكتيري الفتي (18 - 24) ساعة والنامي على الوسط الصلب لنقيع الدماغ - القلب، ومزجت المحتويات (الصبغة + المزروع البكتيري) وغطيت بغطاء الشريحة وفُحصت تحت العدسة الزيتية للمجهر الضوئي. وكانت النتيجة الموجبة مقترنة بتكوّن هالة شفافة غير مصطبغة حول الخلية البكتيرية (Stukus, 1997).

3- اختبار تكوين الغشاء الحيوي Biofilm formation test: أُجْرِي من خلال نقل المستعمرات البكتيرية النامية إلى أنابيب اختبار زجاجية حاوية على مرق الصويا التربتي والمضاف إليه سكر الكلوكوز بتركيز 1%، وحضنت عند درجة حرارة 37°م لمدة (24) ساعة ومن ثمّ سكبت العينات وغسلت الأنابيب بمحلول الفوسفات الملحي المنظم وجففت وصبغت بصبغتي البنفسجي البلوري والسفرانين لمدة ثلاث دقائق بعدها تم التخلص من الصبغة الزائدة وذلك بغسلها بالماء المقطر الخالي من الأيونات ثمّ وضعت بشكلٍ مقلوب لتجف وملاحظة تكوّن الأغشية الحيوية في قعر الأنابيب والجدران الداخلية بشكل طبقة بنفسجية (Hassan et al., 2011).

3-2-9: الكشف عن مقاومة بكتريا المكورات العنقودية للمضادات الحيوية

Screening of *Staphylococcus* spp. Resistance to Antibiotics

أجْرِي اختبار الحساسية الدوائية للعزلات البكتيرية بطريقة أنتشار القرص Disc diffusion اعتماداً على ما وردَ في NCCLS (2003)، وكالاتي:

1- غُمِرت المسحة القطنية في مزروع مرق الصويا التربتي وأزيل الفائض منها بضغطها على الجوانب الداخلية للأنبوبة.

2- حُطِّطت البكتريا على وسط مولر- هنتون الصلب لأكثر من مرتين وباتجاهات مُختلفة لضمان نشرها بالتساوي ومن ثمّ تركت الأطباق لمدة (15) دقيقة عند درجة حرارة الغرفة لضمان أمتصاص الرطوبة.

3- وُضعت (5) أقراص من المضادات الحيوية في طبق مقاسه (100) ملم، و (12) قرصاً في طبق مقاسه (150) ملم، وحُدِّدت المسافة بين قرصٍ وآخر (24) ملم (من مركز القرص الأول إلى مركز القرص الآخر).

4- حُضِنَت الأَطْباق عند درجة حرارة 35°م لمدة 16 - 18 ساعة لجميع أنواع المضادات الحياتية، ثم قيسَت أقطار التثبيط وقورنت مع القيم القياسية المذكورة في CLSI (2014) (ملحق 3).

3-2-10: الكشف المظهري عن قابلية بكتريا المكورات العنقودية على إنتاج أنزيمات البيتالاكتام
Phenotypic Screening of *Staphylococcus* spp. Feasibility to β -lactamase Production
أستُعملت طريقة اليود القياسية السريعة الواردة في WHO (1978) للكشف عن قابلية البكتريا على إنتاج إنزيمات البيتالاكتام، وكالاتي:

- 1- نُقِلَ بواسطة الأعواد الخشبية المعقمة جزءً من المستعمرات الفتية (18 - 24 ساعة) النامية على وسط نقيع الدماغ - القلب إلى صفيحة التخافيف الدقيقة الحاوية على (100) مايكرو لتر من محلول بنسيلين G في كل حفرة من حُفَر الصفيحة، ومُزجت جيداً وحُضِنَت عند درجة حرارة 37°م لمدة (30) دقيقة.
- 2- أُضيفَ محلول النشأ بمقدار (50) مايكرو لتر إلى كل حفرة من حُفَر الصفيحة مع مزجها بصورة جيدة بالأعواد الخشبية المعقمة.
- 3- أُضيفَ محلول اليود بمقدار (20) مايكرو لتر إلى كل حفرة من حُفَر الصفيحة مع مزجها جيداً بالأعواد الخشبية المعقمة لضمان تجانس المحتويات.
- 4- دَلَّ ظهور اللون الأزرق على تفاعل اليود مع النشأ؛ وإنَّ التغير اللوني السريع من الأزرق إلى اللون الأبيض خلال (5) دقائق يعدُّ نتيجة موجبة.

3-2-11: الكشف المظهري عن بكتريا المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين

Phenotypic Screening of MRSA

تمَّ الكشف عن MRSA بطريقة أنتشار القرص من خلال تخطيط وسط مولر - هنتون الصلب بالبكتريا المراد اختبارها ثمَّ وضعت أقراص المضادين الحيويين الأوكزاسيلين والسيفوكسيتين، وحضنت الأَطْباق عند درجة حرارة 37°م لمدة (24) ساعة بعدها قيسَت الأقطار لمنطقة التثبيط (Bauer et al., 1966)، وقورنت مع القيم القياسية المذكورة في (CLSI, 2014).

3-2-12: فحص تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة PCR Test

أُجري الفحص للكشف عن بعض مورثات عوامل الضراوة والمقاومة للمضادات الحياتية عند أنواع المكورات العنقودية (*Staph. haemolyticus* و *Staph. epidermidis* و *Staph. aureus*)، وكالاتي:

أ- أستخلاص الحامض النووي الوراثي البكتيري Bacterial Genomic DNA Extraction

وفقاً لعدة الإستخلاص Genomic DNA extraction kit وتعليماتها المُجهزة من شركة Geneaid الأمريكية، أُجري الإستخلاص كالاتي:

- 1- نقل (1) مل من العالق البكتيري لكل عزلة نامية على وسط مرق نقيع الدماغ - القلب ووضعت في أنابيب إبندروف معقمة حجم (1.5) ونبذت مركزياً بسرعة (10000 دورة/ دقيقة) لمدة (1) دقيقة لغرض جمع الخلايا البكتيرية وأهمال السائل الطافي.
- 2- أضيف (200) مايكرو لتر من محلول اللايسوزايم المنظم (20 مايكروغرام/ مل) ومزج الخليط جيداً بجهاز المازج لمدة (5) ثوانٍ.
- 3- حضن المزيج بدرجة حرارة الغرفة لمدة (10) دقائق مع التقليب المستمر للأنابيب خلال فترة الحضن لضمان التحلل الكامل للخلايا في المزيج.
- 4- أضيف (200) مايكرو لتر من محلول GB buffer المجهد مع العدة إلى مزيج الخلايا المتحللة ومزجهما جيداً بجهاز المازج لمدة (5) ثوانٍ.
- 5- حضن المزيج عند درجة حرارة 60°م لمدة (10) دقائق بإستعمال الحمام المائي.
- 6- أضيف (200) مايكرو لتر من الكحول الأثيلي المطلق إلى المزيج المتحلل ومزجهما جيداً بجهاز المازج لمدة (10) ثوانٍ.
- 7- نقل الخليط من أنابيب الإبندروف إلى أنابيب الجمع حجم (2) مل الحاوية على أعمدة ذات مصفى لتتقية الحامض النووي GD filter column المُجهزة مع العدة.
- 8- وضعت أنابيب الجمع مع الأعمدة الحاوية على الخليط في جهاز النبذ المركزي (15000 دورة/ دقيقة) لمدة (1) دقيقة للتخلص من نواتج الخلايا المتحللة.
- 9- تم التخلص من المحلول الراسب للخلايا المتحللة ونقل GD column الحاوي على الحامض النووي الى أنبوبة جمع جديدة.

10- أضيف (400) مايكرو لتر من محلول W1 Buffer المُجهّز مع العدة إلى العمود الحاوي على الحامض النووي لغرض غسل الحامض النووي ووضعت الأنابيب في جهاز النبذ المركزي (10000 دورة/ دقيقة) لمدة (30) ثانية.

11- تمّ التخلص من الراسب وأضاف (600) مايكرو لتر من محلول الغسل الحاوي على الكحول الأيثلي المطلق المُجهز مع العدة إلى العمود الحاوي على الحامض النووي للتخلص من الدهون داخل العمود ووضعت الأنابيب في جهاز النبذ المركزي (15000 دورة/ دقيقة) لمدة (30) ثانية.

12- التخلص من الراسب وإعادة الأنابيب إلى جهاز النبذ المركزي (15000 دورة/ دقيقة) مرة ثانية لتجفيف الأعمدة لمدة (3) دقائق.

13- نقلت الأعمدة الحاوية على الحامض النووي إلى أنابيب إيندروف معقمة وأضيف (50) مايكرو لتر من محلول الإذابة Elution buffer المُجهّز مع العدة إلى وسط العمود وتركت لمدة (5) دقائق ومن ثمّ وضعت الأنابيب في جهاز النبذ المركزي (15000 دورة/ دقيقة) لمدة (30) ثانية لغرض إذابة الحامض النووي وحفظت بالتجميد عند درجة حرارة -20°م لحين إجراء فحص تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة.

ب- فحص الحامض النووي المستخلص DNA Examination

تمّ الكشف عن الحامض النووي DNA المستخلص بواسطة جهاز النانودروب الخاص بالكشف عن تراكيز الأحماض النووية وقياسها؛ إذ تم الكشف من خلال تحديد تركيز الحامض النووي (نانوغرام/ مايكرو لتر) وقياس نقاوته بواسطة قراءة الإمتصاصية على طول موجي يتراوح بين (260 - 280) نانومتر، وعلى النحو الآتي:

- 1- تمّ تشغيل جهاز النانودروب وأختير برنامج قياس الحامض النووي نوع DNA.
- 2- تمّ تصفير ركيزة المقياس مرتين من خلال سحب (2) مايكرو لتر من Free nuclease water بواسطة ماصة دقيقة معقمة ووضعها على سطح ركيزة المقياس وإجراء التصفير ومن ثمّ نظفت الركيزة بإستعمال ورق نشاف خاص بالجهاز.
- 3- وضع (1) مايكرو لتر من كل عينة من الـ DNA المستخلص على ركيزة مقياس الجهاز ومن ثمّ ضغط زر البدء (OK) لقياس تركيز DNA إلى جانب عملية التنظيف لقياس العينة الأخرى.

4- تمّ تحديد نقاوة عينات DNA المستخلص من خلال قراءة الإمتصاصية على جهاز النانودروب عند الطولين الموجيين (260 و 280) نانومتر؛ إذ يُعتبر الـ DNA المستخلص نقياً عندما تكون نسبة الإمتصاصية (1.8).

ج- تحضير مزيج تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة PCR Master Mix

باستعمال عدة AccuPower® PCR PreMix وتعليماتها المجهزة من شركة Bioneer

(كوريا الجنوبية)، حُضِرَ مزيج تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة، وكالاتي:

1- حُضِرَ مزيج تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة في أنابيب (PCR) مُجهزة مع العدة وحاوية على

مكونات التفاعل مع إضافة المكونات الأخرى لمزيج التفاعل (جدول 3-9).

2- غلّقت الأنابيب ومزجت بعناية بجهاز المازج لمدة (5) ثوانٍ.

3- نُقلت الأنابيب إلى جهاز المضخم الحراري Thermo cycler لإجراء عملية تضخيم DNA

وفق الظروف المُثلى للدورات الحرارية لبكتريا المكورات العنقودية المتمثلة بعمليات فصل شريط

DNA (Denaturation) وإرتباط البادئات مع الشريط المُنفصل (Annealing) وتطويل

سلسلة DNA (Extension).

4- نُقلت الأنابيب إلى جهاز PCR Thermo cycler لإجراء الدورات الحرارية Thermocycler.

جدول 3-9: مكونات وحجوم مزيج تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة (PCR Master Mix)

PCR Master Mix		Volume (µl)
DNA template		5
Primers (10 pmol)	F. primer	1.5
	R. primer	15
PCR water		12
Total		20

د- برنامج الدورات الحرارية لتضخيم DNA

Thermocycler Programme to DNA Amplified

أُجري تفاعل سلسلة إنزيم البلمرة بإستعمال المضخم الحراري لجهاز PCR، وتمت برمجة الجهاز بحسب طريقة Townsend وجماعته (2001) لكل بادئ. وكُريت الدورات الحرارية لكل بادئ إلى 30 دورة (جدول 3-10).

جدول 3-10: الظروف المثلى لتضخيم DNA بواسطة المضخم الحراري حسب نوع البادئ

لبكتريا المكورات العنقودية

PCR Step.	Repeat cycle	Temperature (°C)	Time (Min.)
Initial denaturation	1	95	5
Denaturation	30	95	½
Annealing		58	½
Extension		72	1
Final extension	1	72	5
Hold	-	4	Forever

ه- تحضير هلام الأكاروز Agarose Gel Preparation

حُضِر بحسب طريقة Sambrook وجماعته (2001)، وكالاتي:

1- أذيب (1.5) غم من هلام الأكاروز في (100) مل من المحلول الدائري TBE buffer بتركيز (X1) على الصفيحة الحرارية لمدة (15) دقيقة.

2- تركّ الهلام ليبرد بدرجة حرارة 50°م وبعدها اضيف (3) مايكرو لتر من صبغة الحامض النووي المشعّة Ethidium bromide ومزجتا معاً.

3- صبّ هلام الأكاروز في قالب الترحيل (Tray) الحاوي على المشط (Comb) وترك ليتصلب عند درجة حرارة الغرفة لمدة (15) دقيقة. بعدها ازيل المشط من الهلام بعناية لغرض عمل وتحديد الحُفر (Wells) اللازمة في الهلام لحقن العينات المضخّمة.

و- الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز Agarose Gel Electrophoresis

تمّ الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز المُحضّر بنسبة 1.5% تحت فرق جهد (100) فولت وتيار (80) ملي أمبير عند زمن (60) دقيقة لغرض الكشف عن حُزم DNA (Bands)

المُستخلص الذي يُمثل نواتج PCR (PCR products)، وحسب طريقة Sambrouk وجماعته (2001) وكما يأتي:

- تمّ تحميل (10) مايكرو لتر من العينات لكل خُفرة بصبغة التحميل Loading dye 2) مايكرو لتر) ووضعت في الخُفر.
- أستخدم سُلم القياس DNA ladder بحجم (100 – 2000) زوج قاعدي في الخُفرة الأولى لقياس ناتج أو حجم DNA المُضخَّم من خلال مقارنة حجم المورثة المُضخمة مع الحجم أو الأوزان الجزيئية لسُلم القياس (Marker).
- غمر هلام الأكاروز في محلول الترحيل الدارئ TBE Buffer بتركيز (X1) حتى وصل إلى (3 – 5) ملم اذ تم تغطية سطح الهلام، بعد ذلك وضع غطاء الترحيل بإحكام وربطت الأقطاب الكهربائية بمجهاز القدرة (Power supply) واوصل بالتيار الكهربائي وتمت عملية الترحيل بفرق جهد (100) فولت وتيار (80) ملي أمبير لمدة (60) دقيقة.
- بعد إنتهاء عملية الترحيل تم فحص الهلام للكشف عن وجود DNA بإستعمال مصدر الأشعة فوق البنفسجية (U.V Transilluminator).

3-2-13: التحليل الإحصائي Statistical Analysis

تمّ جدولة (تبويب) جميع النتائج لمعايير الدراسة الحالية بواسطة برنامج الجدولة لسطح المكتب (Excel-2013)، وُحِلَّت بيانات النتائج بإستخدام الأداة Data Analysis ضمن حزمة أدوات التحليل Analysis ToolPak الموجودة في الوظائف الإضافية لبرنامج الجدولة (الجسار، 2016)؛ إذ أعتُمِدَ تصميم العشوائي الكامل (CRD) كتصميم تجريبي لبيانات النتائج، فضلاً عن المقارنة بين المتوسطات بإستخدام إختبار أقل فرق معنوي (LSD) لتحديد الفروق المعنوية عند مستوى إحتمال ($P \leq 0.05$) (Steel et al., 1997).

الفصل الرابع

النتائج والمناقشة

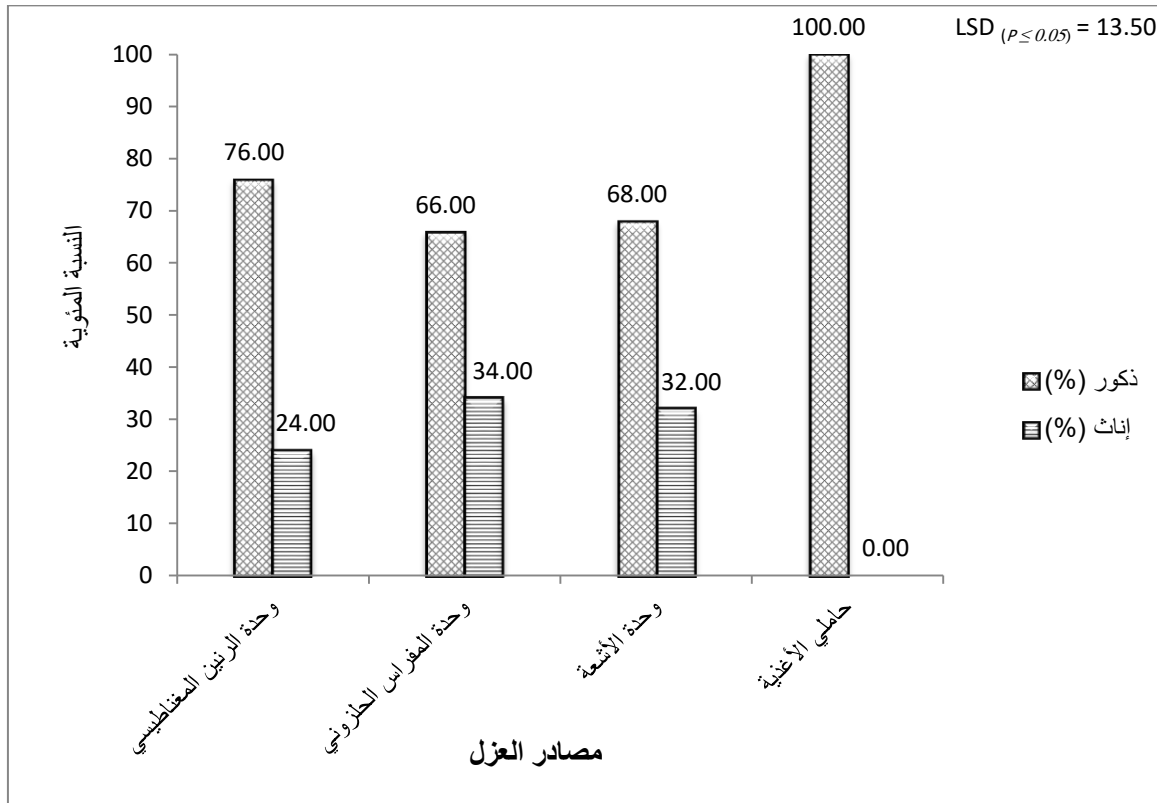
Results and Discussion

4: النتائج والمناقشة

Results and Discussion

1-4: العزل والتشخيص Isolation and Diagnosis

أظهرت نتائج التحليل الإحصائي للعزل الأولي عند مستوى المعنوية ($P < 0.05$) تسجيل أعلى نسبة عزل من الذكور مقارنةً بالإناث للعزلات البكتيرية عند وحدات الرنين المغناطيسي والمفراس الحلزوني والأشعة السينية، في حين أنعدمت نسبة الإناث لدى حاملي الأغذية مقارنةً بنسبة الذكور العالية والتي أحرزت أعلى نسبة من باقي المجاميع الأخرى قيد الدراسة، هذا وأن نسبة الذكور إلى الإناث تقاربت نوعاً ما في وحدة الرنين المغناطيسي والشيء ذاته ينطبق على مجموعتي المفراس الحلزوني والأشعة السينية من حيث تقارب نسبة الإناث عند المجموعتين وكذلك الذكور مع الفارق المعنوي فيما بينهما.



شكل 1-4: توزيع العينات البكتيرية بحسب جنس العاملين من مصادر العزل (العدد الكلي = 200)

ويمكن تفسير نتائج توزيع العزلات البكتيرية بحسب جنس العاملين من مصادر العزل إلى طبيعة العاملين في تلك الوحدات وما يترتب عليها من عمليات نظافة وتعقيم متكررة أو عدمها، فضلاً عن طبيعة العمل ونوعه المحدد لجنس الذكور على الإناث كما في حاملي الأغذية، ومن جهة

أخرى فأنَّ عملية التماس المباشر بين المرضى والعاملين في الوحدات قيد الدراسة قد تكون السبب في نتيجة العزل هذه، لِمَا لها (عملية التماس) من دور في نقل المسببات المرضية داخل وحدات الرنين المغناطيسي، والمفراس الحزوني، والأشعة السينية، والتي تمتاز بمستوى عالٍ من النظافة والتعقيم على خلاف حاملي الأغذية ذات المستوى المتدني في ذلك المجال.

كما شُخِّصت العزلات البكتيرية قيد الدراسة من خلال زراعتها وتفتيتها اعتماداً على الخصائص المزرية للمستعمرات النامية على الأوساط الصلبة، إلى جانب ذلك أَعْتُمِدت خصائص الفحص المجهرى بُغية التعرف عيانياً على أشكال الخلايا البكتيرية المعزولة وترتيبها وتلوّنها بملون كرام. كما أَسْتَعْمِلَ طيفاً من الإختبارات الكيموحيوية لإكمال عملية التشخيص للعزلات البكتيرية وتمييز الأنواع التابعة للجنس الواحد عند بعض الإختبارات التفريقية (جدول 4-1)، إذ أبدت جميع العزلات المُشَخَّصة عدا *Streptococcus pyogenes* و *Enterococcus faecalis* قدرتها على أنتاج أنزيم الكتاليز الذي يعمل على تحرير O_2 من H_2O_2 بشكل فقاعات غازية، فيما أظهرت جميع العزلات نتيجة سالبة لإختبار الأوكسيديز عدا *Micrococcus spp.* و *Pseudomonas spp.* التي أعطت نتيجة موجبة للإختبار، فضلاً عمَّا أبدتهُ جميع العزلات من عدم أنتاجها لإنزيم مخثر البلازما عدا عزلات *Staph. aureus* المنتجة له والمُخَمَّرَة للمانيتول دون الأنواع الأخرى التابعة لجنس المكورات العنقودية؛ إذ تُعرف *Staph. aureus* بقدرتها على تخمير الكلوكوز في غياب الأوكسجين وأنتاج الحامض والذي من خلاله يتم التفريق بين عزلات *Staph. aureus* عن بعض أنواع جنس *Micrococcus*، لِمَا تمتاز به من قدرة على تحمُّل الملوحة وتخمير المانيتول (Baird, 1996)، فضلاً عن ذلك فأنَّ جميع العزلات وخاصةً المكورات العنقودية كانت غير قادرة على تخمير السكريات بوجود الأوكسجين وأنتاج الحامض مقارنةً مع عزلات *Pseudomonas spp.* و *Escherichia coli* و *Klebsiella pneumoniae* التي أظهرت خلاف ذلك، وعند إجراء أختبار أنتاج أنزيم اليوريا للعزلات كانت بعضها منتجة له والبعض الآخر غير منتجة والأمر ذاته ينطبق على باقي الإختبارات ضمن الجدول ذاته، وجاءت نتائج العزل متوافقة مع ما تمَّ وروده بواسطة MacFaddin (2000)، و Prescott وجماعته (2005) و Forbes وجماعته (2007) على التوالي.

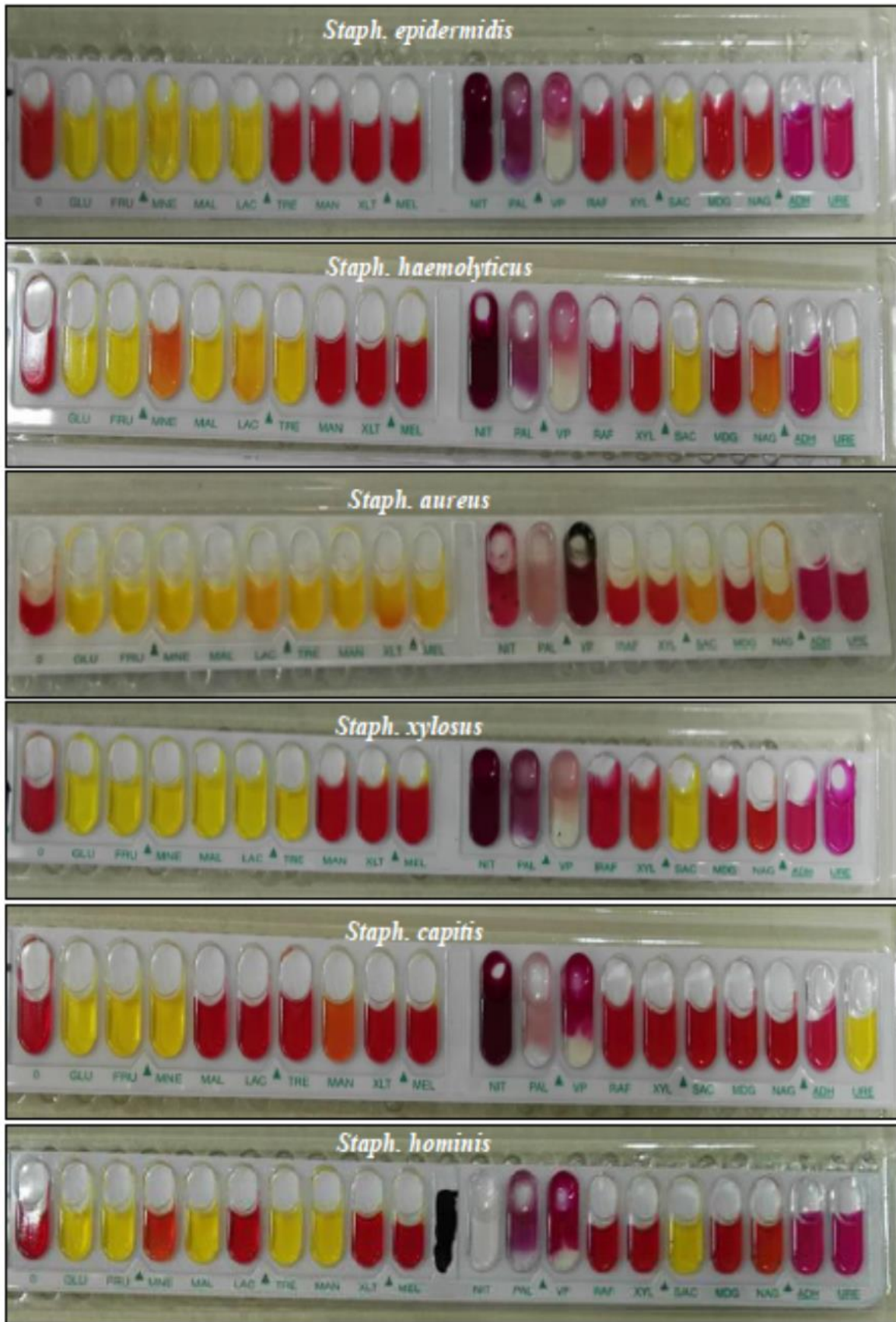
ومن جانب آخر، عُرِّزت عملية التشخيص المذكورة سلفاً للعزلات البكتيرية التابعة لجنس المكورات العنقودية بإستعمال نظام API-20 Staph. في تشخيص الأنواع التابعة لهذا الجنس؛ لِمَا

يتميز به من سرعة ودقة في الكشف عن النوع البكتيري فضلاً عن التقليل من عملية التلوث المزرعي (صورة 4-1)، إذ كان تفاعلات العزلات البكتيرية بصورة متطابقة مع إختبارات هذا النظام، وتُرجمت بعدها إلى أرقام مطابقة لنتيجة التفاعلات التي تمّ تفسيرها بواسطة دليل التحليل المصور Analytical profile index المرفق مع نظام API-20 Staph. (ملحق 2).

جدول 4-1: الإختبارات المجهرية والكيموحيوية للبكتريا المعزولة

الإختبارات الكيموحيوية											العدد	البكتريا المعزولة	ت	
IMVC tests				Haemolysis	Urease production	Mannitol salt agar	Kligler's Iron Agar	Coagulase	Oxidase	Catalase				Gram stain
Citrate utilization	Voges – Proskauer	Methyl red	Indol											
*	*	*	*	±	+	-	-	-	-	+	+	23	<i>Staph. epidermidis</i>	1
*	*	*	*	+	-	-	-	-	-	+	+	21	<i>Staph. haemolyticus</i>	2
*	*	*	*	+	+	+	-	+	-	+	+	13	<i>Staph. aureus</i>	3
*	*	*	*	±	±	-	-	-	-	+	+	6	<i>Staph. xylosus</i>	4
*	*	*	*	+	-	-	-	-	-	+	+	5	<i>Staph. capitis</i>	5
*	*	*	*	±	+	-	-	-	-	+	+	1	<i>Staph. hominis</i>	6
*	*	*	*	-	±	*	*	-	+	+	+	35	<i>Micrococcus spp.</i>	7
*	*	*	*	β	+	*	*	-	-	-	+	13	<i>Streptococcus pyogenes</i>	8
-	*	*	-	*	-	*	*	-	-	-	+	9	<i>Enterococcus faecalis</i>	9
+	-	-	-	β	±	*	K/K _{-gas}	-	+	+	-	5	<i>Pseudomonas spp.</i>	10
-	-	+	+	-	-	*	A/A _{gas}	-	-	+	-	2	<i>Escherichia coli</i>	11
+	+	-	-	-	+	*	A/A _{gas}	-	-	+	-	2	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	12

* تدل على عدم إجراء الفحص، K/A: تُخَمَّر الكلوكوز وتنتج الغاز، K/K_{-gas}: لا تُخَمَّر ولا تنتج الغاز، A/A_{gas}: تُخَمَّر الكلوكوز واللاكتوز وتنتج الغاز.



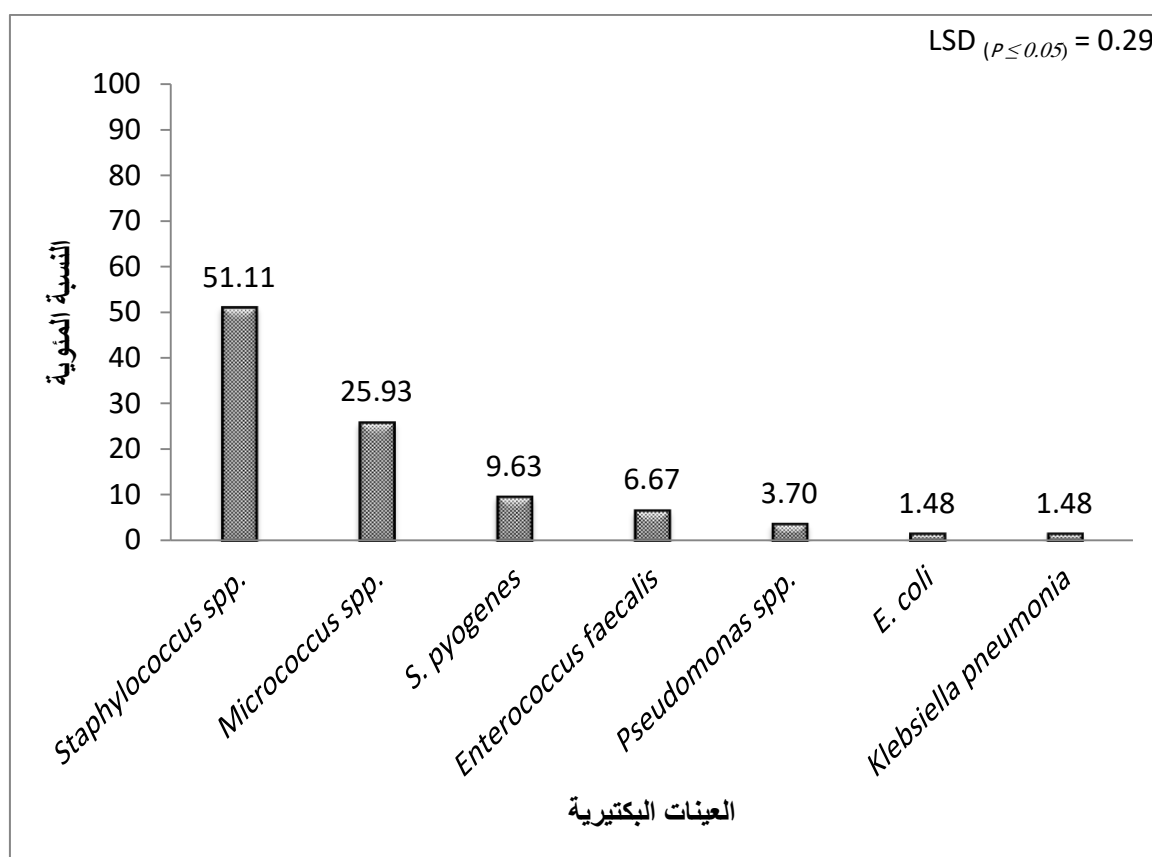
صورة 4-1: نتائج التشخيص بنظام API-20 Staph. لأنواع جنس المكورات العنقودية

بيّنت النتائج الواردة في الجدول (4-2) والخاصة بتوزيع العزلات البكتيرية بحسب مناطق عزلها من الجسم أنّ بكتريا المكورات العنقودية جاءت في المرتبة الأولى بتسجيلها أعلى نسبة عزل من جميع مناطق الجسم، إذ بلغت 34.50%، تلتها بكتريا *Micrococcus spp.* بنسبة 17.50% ثمّ *S. pyogenes* بنسبة 6.50% و *E. faecalis* بنسبة 4.50%. فيما سجّلت بكتريا *Pseudomonas spp.* نسبة عزل بلغت 2.50% فضلاً عن تساوي كلا النوعين *E. coli* و *K. pneumoniae* في نسبة العزل التي بلغت 1.00% على التوالي. كما سجّلت نسبة 32.50% للعينات غير الحاوية على أي نمو مجهري أو عزلات بكتيرية. وفيما يخص أنواع المكورات العنقودية فسجّل النوعان *Staph. epidermidis* و *Staph. haemolyticus* أعلى نسبة عزل بلغت 11.50 و 10.50%، على التوالي مقابل تسجيل النسب المئوية 6.50 و 3.00 و 2.50 و 0.50% للأنواع *Staph. aureus* و *Staph. xylosum* و *Staph. capitis* و *Staph. hominis*. أما نسبة العزل من الجسم (مناطق العزل) فيلاحظ من الجدول (4-2) تديبها في الجروح والإدرار ذوات النسب 1.54 و 4.62% على التوالي وارتفاعها بشكل مطّرد في الأنف والجلد والأذن، إذ بلغت 26.15 و 30.77 و 36.92%، على التوالي.

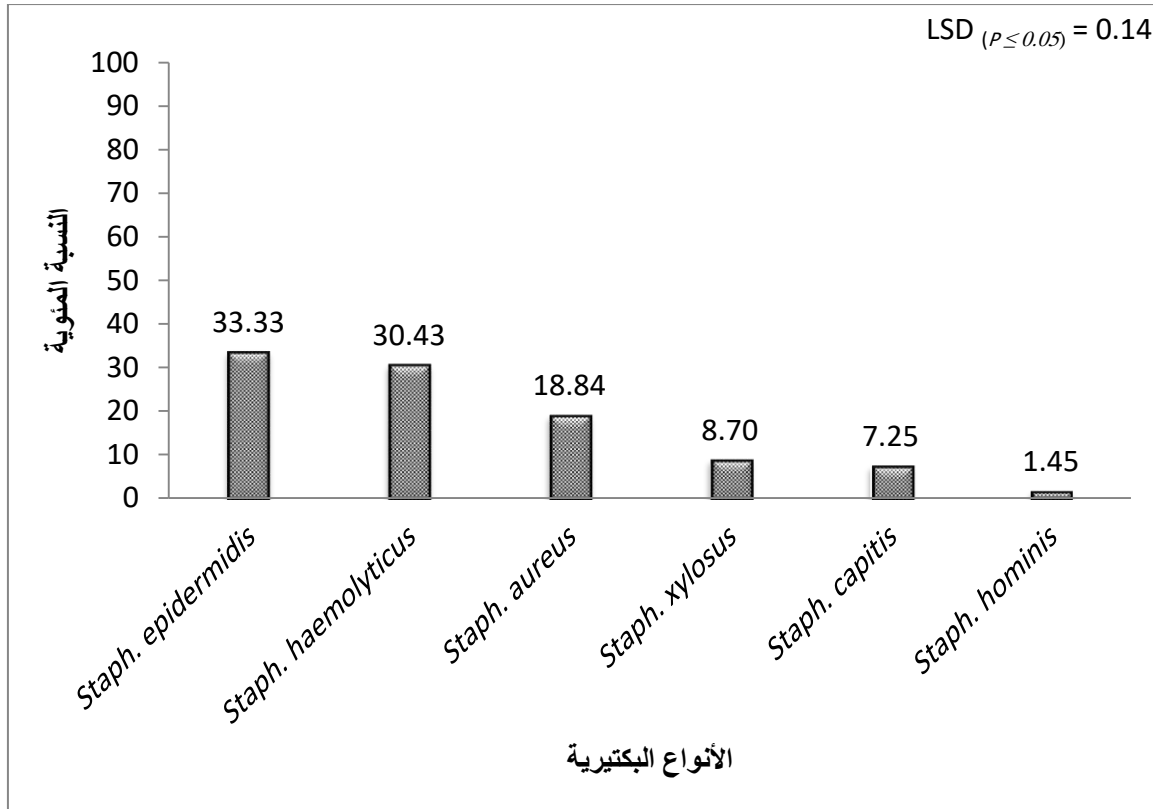
جدول 4-2: توزيع العينات البكتيرية بحسب مناطق عزلها من الجسم

النسبة الكلية للجنس (%)	النسبة الكلية (%) للعيّة	نسب العينات البكتيرية بحسب مناطق العزل					العينات البكتيرية
		جروح	أذنان	جلد	أذن	أنف	
34.50	11.50	0.00	0.00	4.35	8.70	86.95	<i>Staph. epidermidis</i>
	10.50	0.00	0.00	0.00	14.29	85.71	<i>Staph. haemolyticus</i>
	6.50	7.69	7.69	15.38	30.77	38.47	<i>Staph. aureus</i>
	3.00	0.00	0.00	16.67	0.00	83.33	<i>Staph. xylosum</i>
	2.50	0.00	0.00	0.00	40.00	60.00	<i>Staph. capitis</i>
	0.50	0.00	0.00	0.00	0.00	100.00	<i>Staph. hominis</i>
17.50	17.50	2.86	0.00	54.29	5.71	37.14	<i>Micrococcus spp.</i>
6.50	6.50	0.00	0.00	69.23	7.69	23.08	<i>S. pyogenes</i>
4.50	4.50	0.00	66.67	33.33	0.00	0.00	<i>E. faecalis</i>
2.50	2.50	100.00	0.00	0.00	0.00	0.00	<i>Pseudomonas spp.</i>
1.00	1.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	<i>E. coli</i>
1.00	1.00	0.00	100.00	0.00	0.00	0.00	<i>K. pneumoniae</i>
32.50	32.50	1.54	4.62	30.77	36.92	26.15	No growth
%100		4.00	7.00	27.50	19.00	42.50	النسبة الكلية (%) لمنطقة العزل

ومن خلال الشكل (2-4) يظهر التفوق المعنوي ($P < 0.05$) لجنس المكورات العنقودية (هدف الدراسة) بمقدار مضاعف أو أعلى قليلاً من باقي الأجناس والأنواع البكتيرية الأخرى، إذ حَقَّق نسبة عزل بلغت 51.11% مقارنةً بباقي الأجناس والأنواع البكتيرية الأخرى قيد الدراسة، كما تفوقت نسبة العزل لجنس *Micrococcus* spp. والبالغة 25.93% معنوياً على مجمل النسب الأخرى لباقي الأنواع، والتي بلغت 9.63 و 6.67 و 3.70 و 1.48 و 1.48% عند *S. pyogenes* و *E. faecalis* و *Pseudomonas* spp. و *E. coli* و *K. pneumonia*، على التوالي. أما عند مقارنة نسب العزل بين الأنواع التابعة لجنس المكورات العنقودية (شكل 3-4) فالتفوق المعنوي ($P < 0.05$) واضحاً فيما بينها، إذ أحرزت الأنواع الثلاثة الأولى *Staph. epidermidis* و *Staph. aureus* و *Staph. haemolyticus* النسب الأعلى 33.33 و 30.43 و 18.84% على التوالي وبفارق معنوي فيما بينها، فضلاً عن تسجيل النسب المتدنية للأنواع الأخرى 8.70 و 7.25 و 1.45% وكما هي واردة في الشكل ذاته.



شكل 2-4: توزيع العينات البكتيرية بحسب أجناسها (العدد الكلي = 135)



شكل 4-3: توزيع عزلات المكورات العنقودية بحسب أنواعها (العدد الكلي = 69)

إنَّ السبب وراء صدارة المكورات العنقودية لنسب العزل قيد الدراسة وتفوقها المعنوي الوارد في الأشكال المذكورة سلفاً يُعزى إلى تواجدها كنببت طبيعي في الجسم ومُسبب مرضي واسع الطيف ينتشر على نطاقٍ واسع في جميع أنحاء العالم، إلى جانب ذلك فإنه مع زيادة الإستيطان والإستعمار لأنواعه تزداد السلالات الإنتهازية منه بالتواجد والظهور خاصةً عندما تنخفض القدرات المناعية للمضيف وأمتلاك المسبب المرضي مجموعة من عوامل الضراوة ذات الفعل المرضي المباشر فضلاً عن عدّه من المسببات الرئيسة للعدوى المكتسبة في المجتمع والمستشفيات (Stryjewski and Corey, 2014; Zasshi, 2004). وعند مقارنة النتائج قيد الدراسة مع نتائج الدراسات السابقة تظهر النتيجة متوافقة مع جبار (2013) و جواد (2013) و Aziz (2013) و Ocoru وجماعته (2015) وحسن (2017) من حيث تسجيل أعلى نسبة عزل للمكورات العنقودية من مناطق الجسم المحددة قيد الدراسة (الأنف، والأذن، والجلد، والإدرار، والجروح)، ويرجع السبب في ذلك إلى أمتلاك المكورات العنقودية العديد من العوامل التي تُزيد من ضراوتها وتجعلها قادرة على التواجد في بيئاتٍ مختلفة، فتعد الإنزيمات واحدة من عوامل الضراوة التي تنتجها البكتريا (مثل الكتاليز واليورييز) وتعمل على تحطيم المركبات العضوية المعقدة التركيب وتحليلها إلى عناصرها

الأولية (Baron and Finegold, 1995)، إلى جانب ذلك فأُنَّ تكيفها مع درجات الحرارة الواطئة (10م°) وظروف العيش الجافة أو الرطبة وكذلك الملحية العالية من جهة، وأمتلكها لجدار الخلية كوسيلة حماية أوزموزية وتكوين بعض سلالاتها للمحافظة من جهةٍ أخرى تعدُّ من أهم وسائل الدفاع والحماية التي تتخذها ضد الأذى الكيميائي والميكانيكي (O'Riodan and Lee, 2004; MacFaddin, 2000).

4-2: الكشف المظهري عن بعض عوامل الضراوة

Phenotypic Investigation of Some Virulence Factors

4-2-1: إنتاج الهيموليسين Haemolysin Production

يظهر من النتائج الواردة في الجدول أدناه (4-3) قابلية الأنواع التابعة لجنس المكورات العنقودية على إنتاج الهيموليسين الحال للدم بكلا نوعيه الألفا والبيتا؛ وأظهرت نتائج التحليل الإحصائي للبيانات أنه من المجموع الكلي للعزلات (57 عزلة) سُجِلت 52 (91.23%) عزلة مُنتجة للنوع ألفا مقابل 5 (8.77%) عزلات مُنتجة للنوع بيتا. ومن جانب آخر فأُنَّ العزلات الكلية (57 عزلة) نصفها تقريباً 30 (52.63%) عزلة كانت مُنتجة للنوع بيتا من الهيموليسين مقابل عدم إنتاج النصف الآخر 27 (47.37%) لذلك النوع. هذا وأنَّ جميع عزلات *Staph. epidermidis* من مصادر عزلها المختلفة كانت أعلى إنتاجاً وبدلالة معنوية واضحة لـ α -haemolysin من β -haemolysin، في حين أنتجت عزلات *Staph. haemolyticus* المعزولة من وحدة الرنين المغناطيسي كلا النوعين للهيموليسين وبنسبٍ متساوية 14.29%، بينما تفوّقت معنوياً في إنتاجها لـ α -haemolysin من وحدة المفراس الحلزوني وحاملي الأغذية على حساب إنتاجها للنوع الآخر، وبالمقابل فأُنَّ عزلات *Staph. haemolyticus* المنتجة لـ β -haemolysin من وحدة الأشعة السينية كانت أعلى معنوياً من مثيلتها المنتجة لـ α -haemolysin. وفيما يخص *Staph. aureus* فأُنَّ عدد عزلاتها المنتجة لـ α -haemolysin تفوّقت معنوياً على المُنتجة منها لـ β -haemolysin عند مصادر عزلها (وحدة الرنين المغناطيسي، وحدة الأشعة السينية، وحاملي الأغذية)، بيدَّ أن جميع عزلات *Staph. aureus* من وحدة المفراس الحلزوني أنتجت β -haemolysin فقط والأمر ذاته ينعكس بشكلٍ تام مع ما هو عليه في حاملي الأغذية إذ كانت جميع العزلات مُنتجة لـ α -haemolysin فقط.

جدول 3-4: قابلية عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر عزلها على إنتاج الهيموليسين α و β مظهرياً

العزلات غير المنتجة للنوع β		العزلات المنتجة للنوع β		العزلات غير المنتجة للنوع α		العزلات المنتجة للنوع α		العدد الكلي	عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر العزل		
%	العدد	%	العدد	%	العدد	%	العدد				
21.74	5	8.70	2	0.00	0	30.43	7	23	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. epidermidis</i>	
21.74	5	4.35	1	0.00	0	26.09	6		وحدة المفراس الحلزوني		
8.70	2	21.74	5	0.00	0	30.43	7		وحدة الأشعة السينية		
4.35	1	8.70	2	0.00	0	13.04	3		حاملي الأغذية		
0.00	0	14.29	3	0.00	0	14.29	3	21	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. haemolyticus</i>	
4.76	1	28.57	6	0.00	0	33.33	7		وحدة المفراس الحلزوني		
4.76	1	23.81	5	9.52	2	19.05	4		وحدة الأشعة السينية		
9.52	2	14.29	3	0.00	0	23.81	5		حاملي الأغذية		
15.38	2	7.69	1	7.69	1	15.38	2	13	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. aureus</i>	
0.00	0	7.69	1	7.69	1	0.00	0		وحدة المفراس الحلزوني		
30.77	4	7.69	1	7.69	1	30.77	4		وحدة الأشعة السينية		
30.77	4	0.00	0	0.00	0	30.77	4		حاملي الأغذية		
47.37	27	52.63	30	8.77	5	91.23	52	57	المجموع الكلي		
للمقارنة بين النسب المئوية				للمقارنة بين النسب المئوية				LSD ($P \leq 0.05$)			
للقراءات العمودية = N.S.				للقراءات الأفقية = 1.44							

إنَّ السبب وراء التغيرات بين العزلات التابعة للمكورات العنقودية في إنتاجها للإنزيم الحال للدم بكلا نوعيه أو أحدهما يمكن أرجاعه إلى مصدر الدم فضلاً عن مصدر العزلة (البكتريا) ونوعها وطريقة الفحص، وهذا ما بيَّنته نتائج Kahalid وجماعته (2012) من إنتاج عزلات *Staph. epidermidis* للهيموليسين وكذلك الشمري (2014) التي أنتجت جميع عزلاتها (*Staph. aureus* و *Staph. haemolyticus*) للهيموليسين بنسبة 100%، علاوةً على ذلك فقد بيَّنت نتائج حسن (2017) التحليل التام للدم بواسطة جميع عزلات *Staph. aureus* و *Staph. haemolyticus* و *Staph. epidermidis*، وهذا قد يعود إلى نفس الأسباب الواردة سلفاً بيِّد أنَّ نتائج الدراسة الحالية جاءت متوافقة مع نتائج الدراسات المذكورة في إنتاج العزلات البكتيرية لإنزيم الهيموليسين الحال للدم.

4-2-2: تكوين المحفظة Capsaule Formation

أشارت نتائج التحليل الإحصائي للجدول (4-4) أنّ قابلية العزلات البكتيرية لأنواع المكورات العنقودية على تكوين المحفظة بلغت نسبتها 50.88% لـ 29 عزلة من مجمل 57 عزلة، إذ بلغ أعلى عدد لعزلات *Staph. epidermidis* المكونة للمحفظة 4 (17.39%) عزلات عند وحدة الرنين المغناطيسي مقابل 4 (19.05%) عزلات مكونة للمحفظة من *Staph. haemolyticus* معزولة من حاملي الأغذية، في حين كانت عزلات *Staph. aureus* المكونة للمحفظة متساوية في الأعداد والنسب عند وحدتي الرنين المغناطيسي والأشعة السينية فضلاً عن حاملي الأغذية إذ بلغت 2 (15.38%) عزلة، إلى جانب ذلك لم تُسجّل أي قابلية لعزلات *Staph. epidermidis* المعزولة من حاملي الأغذية على تكوين المحفظة وانخفاضها إلى عزلة واحدة من *Staph. aureus* المعزولة من وحدة المفراس الحلزوني بنسبة 7.69%. كما أنّ النسبة الكلية لكل نوع قيد الدراسة مكوّن للمحفظة من مجمل مصادر العزل المختلفة بلغت 43.47% (10 عزلات) من *Staph. epidermidis* و 57.14% (12 عزلة) من *Staph. haemolyticus* و 53.85% (7 عزلات) من *Staph. aureus* على التوالي، وجاءت تلك النتائج مقارنة نوعاً ما لنتائج Al-Rubaey وجماعته (2007) التي سجّلت 42% من *Staph. aureus* قادرة على تكوين المحفظة، ونتائج حسن (2017) التي كوّنت عزلاتها *Staph. aureus* و *Staph. haemolyticus* للمحفظة بنسبة (25 و 35%) على التوالي. في حين جاءت النتائج غير متوافقة مع نتائج الشمري (2014) التي كوّنت جميع عزلاتها (*Staph. epidermidis* و *Staph. haemolyticus* و *Staph. aureus*) المحفظة بنسبة 100%، ونتائج Al-Hilu (2014) التي لم تكوّن عزلاته *Staph. haemolyticus* للمحفظة، علاوةً على ذلك فإنّ نتائج حسن (2017) الخاصة بعزلات *Staph. epidermidis* التي لم تكوّن المحفظة إطلاقاً كانت على خلاف مع نتائج الدراسة الحالية التي كوّنت المحفظة بنسبة 43.47%، والسبب وراء تلك التغيرات قد يعود إلى مناطق العزل لأنواع البكتيرية ومصادرها؛ لما للمحفظة من دور وقائي وحامي للخلية البكتيرية من الظروف الخارجية فضلاً عن أكسابها صفة المقاومة للجفاف وعمليات البلعمة بسبب تكونها من سكريات متعددة بشكل طبقة مخاطية تُسهّل عملية الإستعمار البكتيري وتُنظّم مرور الجزيئات من خلال غلاف الخلية (Ganal et al., 2007; Taylor and Roberts, 2005).

جدول 4-4: قابلية عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر عزلها على تكوين المحفظة مظهرياً

النسبة المئوية للعزلات المكونة للمحفظة	العزلات المكونة للمحفظة	العزلات غير المكونة للمحفظة	العدد الكلي	عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر العزل	
17.39	4	3	7	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. epidermidis</i> (n = 23)
13.04	3	3	6	وحدة المفراس الحلزوني	
13.04	3	4	7	وحدة الأشعة السينية	
0.00	0	3	3	حاملي الأغذية	
14.29	3	0	3	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. haemolyticus</i> (n = 21)
14.29	3	4	7	وحدة المفراس الحلزوني	
9.52	2	4	6	وحدة الأشعة السينية	
19.05	4	1	5	حاملي الأغذية	
15.38	2	1	3	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. aureus</i> (n = 13)
7.69	1	0	1	وحدة المفراس الحلزوني	
15.38	2	3	5	وحدة الأشعة السينية	
15.38	2	2	4	حاملي الأغذية	
29	29	28	57	المجموع الكلي	
العزلات المكونة للمحفظة = 0.013				LSD ($P \leq 0.05$)	

4-2-3: تكوين الغشاء الحيوي Biofilm Formation

قابلية العزلات البكتيرية المعزولة من مصادرها المختلفة على تكوين الغشاء الحيوي تتوضح بدلالاتها الإحصائية من خلال الجدول (4-5)؛ إذ بلغ المجموع الكلي للعزلات المكونة للغشاء الحيوي 40 عزلة من أصل 57 عزلة وبنسبة 70.18% فضلاً عن ذلك فإن 14 عزلة من أصل 23 عزلة تابعة لـ *Staph. epidermidis* كوّنت الغشاء الحيوي أي بنسبة 60.87% من العدد الكلي في حين كانت هناك 5 عزلات فقط من مجموع 21 عزلة لـ *Staph. haemolyticus* غير مكوّنة للغشاء الحيوي، إلى جانب ذلك تكوين غالبية العزلات التابعة لـ *Staph. aureus* للغشاء الحيوي 10 عزلات (76.92%) عزلات عدا 3 عزلات فقط كانت عديمة القابلية على تكوين الغشاء الحيوي. وعند مقارنة نتائج الدراسة الحالية مع نتائج الدراسات الأخرى تظهر متوافقة مع نتائج Silva وجماعته (2013) بخصوص عزلات *Staph. haemolyticus* التي كوّنت الغشاء الحيوي بنسبة 60% مقارنةً بـ 57.14% لعزلات الدراسة الحالية، ومتوافقة مع نتائج Al-Omari وجماعته (2013) بخصوص عزلات *Staph. aureus* المكوّنة للغشاء الحيوي بنسبة 87.50% مقابل 76.92% للعزلات قيد الدراسة. أما بخصوص عزلات *Staph. epidermidis* المكوّنة للغشاء

الحيوي بنسبة 43.47% فجاءت أعلى نوعاً ما مما سجّلته نتائج Al-Hilu (2014) من نسبة 26% وكذلك نتائج حسن (2017) ذي النسبة 25% للبكتريا أنفة الذِكر، وأقل مما سجّلته نتائج Gad وجماعته (2009) من نسبة تكوين بلغت 88.60%.

جدول 4-5: قابلية عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر عزلها على تكوين الغشاء الحيوي مظهرياً

العزلات المكونة للغشاء الحيوي	العزلات غير المكونة للغشاء الحيوي	العدد الكلي	عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر العزل	النسبة المئوية للعزلات المكونة للغشاء الحيوي
5	2	7	وحدة الرنين المغناطيسي	21.74
5	1	6	وحدة المفراس الحلزوني	21.74
3	4	7	وحدة الأشعة السينية	13.04
1	2	3	حاملي الأغذية	4.35
3	0	3	وحدة الرنين المغناطيسي	14.29
4	3	7	وحدة المفراس الحلزوني	19.05
4	2	6	وحدة الأشعة السينية	19.05
5	0	5	حاملي الأغذية	23.81
2	1	3	وحدة الرنين المغناطيسي	15.38
1	0	1	وحدة المفراس الحلزوني	7.69
3	2	5	وحدة الأشعة السينية	23.08
4	0	4	حاملي الأغذية	30.77
40	17	57	المجموع الكلي	70.18
العزلات المكونة للغشاء الحيوي = 0.004			LSD ($P \leq 0.05$)	

إنَّ السبب في تكوين الغشاء الحيوي من قبل العزلات البكتيرية قيد الدراسة يعدُّ من أكثر عوامل الضراوة أنتشاراً كونه يشير إلى مدى تواجد البكتريا في بيئات ملوثة وممرضة (Hola et al., 2006)، ويعمل على توفير الحماية لها من المثبطات المناعية الكامنة لدى المضيف فيعمل على تركيز المواد المغذية وحماية الخلايا البكتيرية من المضادات الحياتية والملتهبات "الخلايا البلعمية" (Garofalo et al., 2007). ومن جانب آخر تمتلك المكورات العنقودية قابلية الإستيطان داخل المضيف والإلتصاق بالأسطح الحية بواسطة تكوينها الأغشية الحيوية التي تقيها من الدفاعات المناعية التي يُبديها المضيف وكذلك العلاج بالمضادات الحياتية (Ermolaeva et al., 2011).

3-4: الكشف عن مقاومة بكتريا المكورات العنقودية للمضادات الحيوية

Screening of *Staphylococcus* spp. Resistance to Antibiotics

لوحظ من الشكل (4 - 4) الدلالة المعنوية ($P < 0.05$) لجميع عزلات *Staph. epidermidis* المعزولة من وحدات الرنين المغناطيسي والمفراس الحلزوني والأشعة السينية فضلاً عن حاملي الأغذية التي لم تُبَدِ أيّة مقاومة لمضادات Amikacin و Amoxicillin - Clavulanic acid و Gentamicin و Imipenem و Vancomycin في حين أبدت عزلات حاملي الأغذية فقط مقاومتها الكلية لمضادات Amoxicillin و Ampicillin و Penicillin G، ومقاومتها المتوسطة (66.67%) لـ Ceftriaxone، فيما أبدت باقي عزلات *Staph. epidermidis* من حاملي الأغذية مقاومتها الضعيفة للمضادات الأخرى قيد الدراسة. ومن جانب آخر أظهرت عزلات وحدة الرنين المغناطيسي مقاومتها فقط لمضادات Amoxicillin و Ampicillin و Cefoxitin و Oxacillin و Penicillin G بالنسب 71.43 و 71.43 و 85.71 و 85.71%، على التوالي. أما عزلات وحدة المفراس الحلزوني فكانت مقاومة فقط لمضادات Amoxicillin و Ampicillin و Cefoxitin و Oxacillin و Penicillin G و Trimethoprim وفقاً للنسب التالية 83.33 و 83.33 و 83.33 و 83.33 و 83.33 و 66.67%، بالترتيب. وأعطت عزلات وحدة الأشعة السينية مقاومتها فقط لمضادات Amoxicillin و Ampicillin و Azithromycin و Cefoxitin و Ceftriaxone و Chloramphenicol و Oxacillin و Penicillin G ضمن النسب 71.43 و 71.43 و 71.43 و 71.43 و 57.14 و 57.14%، على التوالي.

كما ظهر من بيانات الشكل ذاته فوارق واضحة لمقاومة العزلات اعتماداً على مصدر العزل؛ إذ قاومت عزلات وحدة الأشعة السينية مضاد Chloramphenicol بنسبة 57.14% مقابل الحساسية التي أبدتها عزلات الوحدات الأخرى، وكذلك مقاومة المضاد Trimethoprim فقط من قبل عزلات وحدة المفراس الحلزوني وتحسس باقي عزلات الوحدات الأخرى بما فيها حاملي الأغذية.

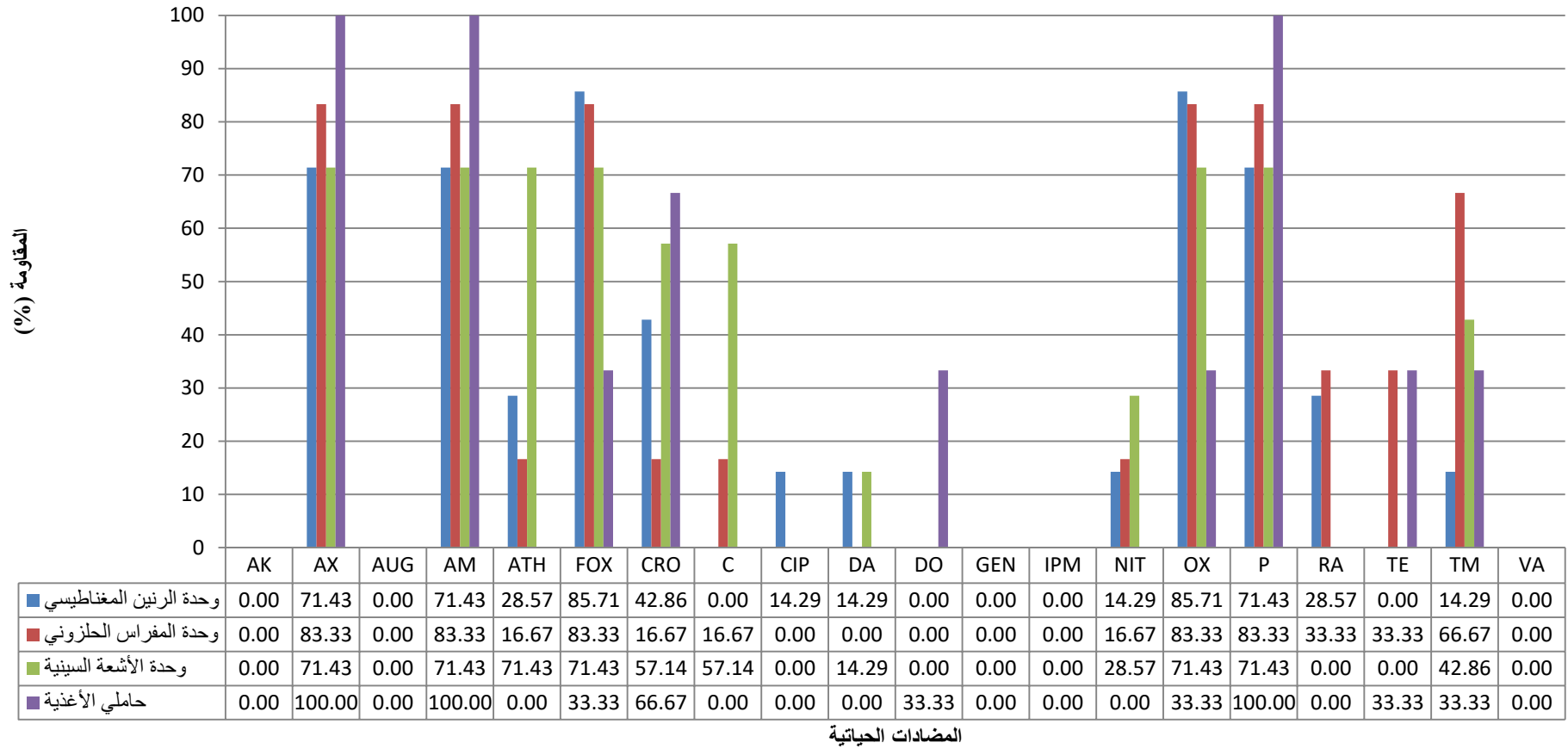
أبدت عزلات *Staph. haemolyticus* المعزولة من مصادرها المختلفة مقاومتها التامة لمضادات Amoxicillin و Ampicillin و Penicillin G وكما هي واردة في الشكل (4 - 5)، ويُلاحظ أنّ جميع العزلات لم تسجّل أيّة مقاومة لمضادات Amikacin و Amoxicillin - Clavulanic acid و Gentamicin و Imipenem و Vancomycin.

وتتوضح الدلالة المعنوية ($P < 0.05$) للمقاومة من مقاومة عزلات وحدة الرنين المغناطيسي وحاملي الأغذية للمضادين Cefoxitin و Oxacillin بنسبة 100% بينما قاومتها عزلات وحدة المفراس الحلزوني بنسبة 57.14% إلى جانب أظهر عزلات وحدة الأشعة السينية مقاومة وحساسية متساوية بلغت 50%. ولوحظ من بيانات الشكل ذاته مقاومة عزلات وحدة المفراس الحلزوني لمضاد Azithromycin بنسبة 57.14% على حساب التحسس اتجاه هذا المضاد من قبل عزلات المصادر الأخرى، فضلاً عن ذلك فأَنَّ عزلات وحدة الرنين المغناطيسي قاومت المضاد Trimethoprim بنسبة 66.67% بينما أظهرت بقية العزلات حساسيتها اتجاهه.

أظهرت النتائج الواردة في الشكل (4 - 6) مقاومة عزلات *Staph. aureus* من وحدة الرنين المغناطيسي وبشكلٍ معنوي ($P < 0.05$) لمضاد Amikacin بنسبة 100% مقارنةً بالعزلات ذاتها من مصادر العزل الأخرى التي أظهرت حساسيتها اتجاهه، هذا وأنَّ جميع عزلات *Staph. aureus* من مصادر العزل المختلفة قاومت بنسبة 100% لمضادات Amoxicillin و Ampicillin و Penicillin G، وتحسَّست بنسبة 100% لمضادات Amoxicillin - Clavulanic acid و Imipenem و Vancomycin. ومن جانب آخر أبدت العزلات مقاومتها المتفاوتة لمضادَي Oxacillin و Cefoxitin؛ إذ قاومتها عزلات وحدة المفراس الحلزوني وحاملي الأغذية بنسب متساوية (100%) بينما بلغت نسبة المقاومة لعزلات وحدتي الرنين المغناطيسي والأشعة السينية 66.67 و 80.00%، على التوالي. كما أبدت عزلات وحدة الرنين المغناطيسي مقاومتها بنسبة 66.67% لمضاد Azithromycin مقابل المقاومة الضعيفة التي أبدتها عزلات الوحدات الأخرى اتجاهه.

للتداخل

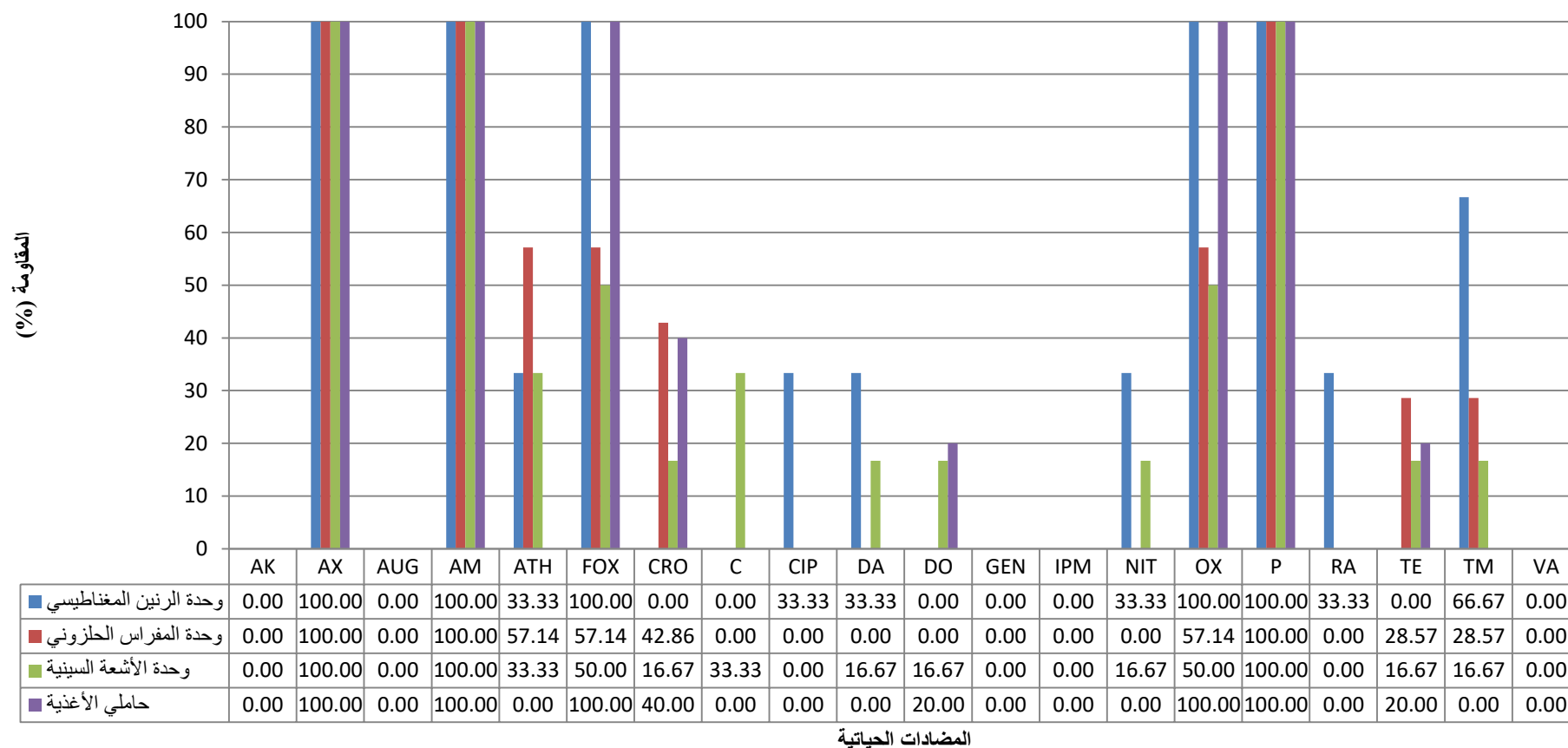
LSD ($p \leq 0.05$) = 10.54



شكل 4-4: مقاومة عزلات *Staph. epidermidis* (العدد الكلي = 23) المعزولة من مصادر عزل مختلفة لطيف واسع من المضادات الحيوية

للتداخل

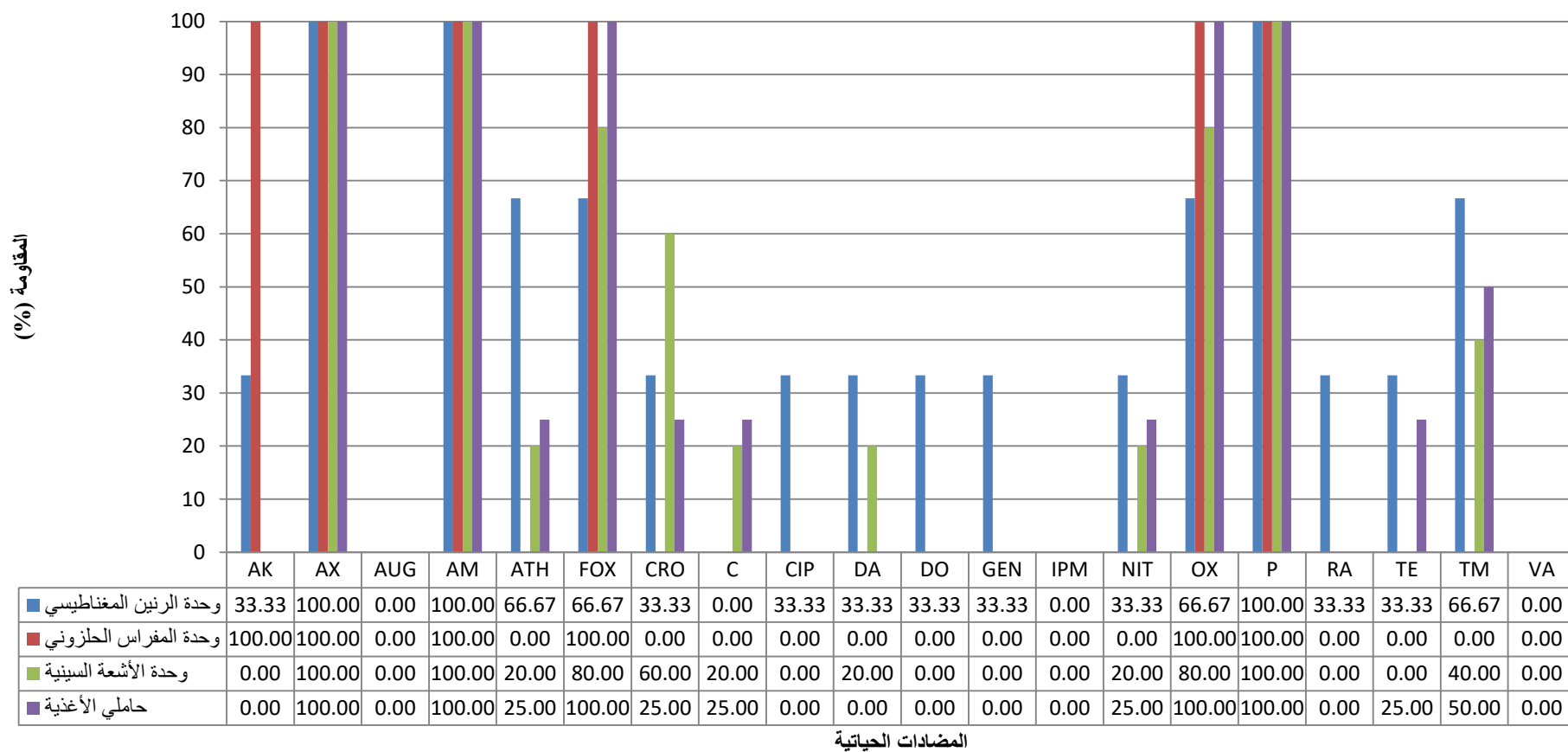
LSD ($P \leq 0.05$) = 9.82



شكل 4-5: مقاومة عزلات *Staph. haemolyticus* (العدد الكلي = 21) المعزولة من مصادر عزل مختلفة لطيف واسع من المضادات الحيوية

للتداخل

LSD ($p \leq 0.05$) = 11.83



شكل 4-6: مقاومة عزلات *Staph. aureus* (العدد الكلي = 13) المعزولة من مصادر عزل مختلفة لطيف واسع من المضادات الحيوية

ربطاً بما وردَ آنفاً من عرض لنتائج مقاومة العزلات البكتيرية لبعض المضادات الحيوية وحساسيتها لبعض الآخر كما هي واردة في الأشكال (4-4 و 5-4 و 6-4) فإنَّ عزلات *Staph. epidermidis* و *Staph. haemolyticus* أبدت حساسيتها التامة لمضادات مجموعة الأمينوكلايكوسيدات (Amikacin و Gentamycin) والأمر ذاته ينطبق على عزلات *Staph. aureus* عدا عزلاتها من وحدة المفراس الحلزوني التي قاومت مضاد Amikacin بنسبة تامة (100%) وكذلك عزلاتها من وحدة الرنين المغناطيسي التي قاومت مضاد Gentamycin بنسبة 30%، وهذه النتائج جاءت متوافقة نوعاً ما مع نتائج الشمري (2014) وحسن (2017) من أنعدام المقاومة لمضاد Amikacin عند عزلات *Staph. epidermidis* و *Staph. haemolyticus* وكذلك *Staph. aureus* عند غالبية الوحدات، ومتفقة مع نتائج الشمري (2014) بخصوص الحساسية لمضاد Gentamycin ومخالفة لنتائج حسن (2017) بخصوص المقاومة لهذا المضاد عند العزلات ذاتها، والسبب في ذلك قد يعود إلى تأثير الإشعاع في غياب المورثة المشفرة في العزلات الحساسة لإحداث التغيير في الوحدة الرايبوسومية الثانوية 30S (الموقع الهدف) التي يرتبط بها المضاد فتتمنع حدوث المقاومة، بعكس العزلات المقاومة نتيجة وجود المورثة المشفرة لإحداث التغيير في الموقع الهدف والذي يرتبط به المضاد الحيوي مسبباً المقاومة البكتيرية (Hanaki, 2004).

وفيما يخص مقاومة العزلات البكتيرية لمضادات البيتا لكتام (البنسلينات والسيفالوسبورينات) فقد أبدت عزلات *Staph. aureus* و *Staph. haemolyticus* حساسيتها التامة لمضادات (Amoxicillin و Ampicillin و Penicillin G) فضلاً عن مقاومة عزلات *Staph. epidermidis* للمضادات المذكورة بنسب متفاوتة بحسب وحدة العزل عدا مقاومتها التامة لمضاد Amoxicillin - Clavulanic acid، هذا وأنَّ مقاومة العزلات لمضاد Oxacillin تدرجت بين التامة إلى النصفية (50%) بحسب وحدة العزل عدا عزلات *Staph. epidermidis* من حاملي الأغذية والتي أظهرت مقاومتها الضعيفة 33.33% لهذا المضاد. وفي الإتجاه ذاته فإنَّ التغير في المقاومة إلى الحساسية بين عزلات النوع البكتيري الواحد باختلاف مصدر العزل لمضادات السيفالوسبورينات من خلال مقاومة عزلات *Staph. epidermidis* من وحدات الرنين المغناطيسي والمفراس الحلزوني والأشعة لمضاد Cefoxitin بنسب عالية بينما كانت ضعيفة (33.33%) مع عزلات حاملي الأغذية مقارنةً مع عزلات *Staph. haemolyticus* التي أبدت أدنى مقاومة لها

للمضاد مع عزلاتها من وحدة الأشعة السينية بنسبة 50% بينما سجّلت عزلات *Staph. aureus* من وحدة الرنين المغناطيسي نسبة 66.67% كأدنى مقاومة لهذا المضاد، ومن جانب آخر فإنّ مقاومة المضاد Ceftriaxone بنسبة أعلى من 50% أقتصرت على عزلات وحدة الأشعة السينية وحاملي الأغذية من *Staph. epidermidis* وعزلات وحدة الأشعة السينية من *Staph. aureus* فقط مقابل المقاومة المتدنيّة لباقي العزلات بضمنها عزلات *Staph. haemolyticus*.

إنّ السبب وراء المقاومة المتباينة للعزلات البكتيرية أتجاه مضادات البيتالاكتام قد يعود إلى التنوع في آليات المقاومة لعزلات المكورات العنقودية لمضادات البيتالاكتام من خلال إنتاج أنزيمات البيتالاكتام المثبّطة لفعالية هذه المضادات أو من خلال تغيير مواقع الهدف "ارتباط البروتينات الرابطة للبنسلين (PBPs)" (Hiramatsu et al., 2001)، أو قد يعود السبب إلى عوامل الضراوة للبكتيريا ذاتها؛ فتظهر بعض العزلات مقداراً أعلى من المقاومة على حساب غيرها فضلاً عن الاختلاف في ظروف الإختبارات ونوع التقنيات المُستعملة قد يُوجد أو يفسّر الاختلاف في مستويات المقاومة (Brown et al., 2005). ومن جانب آخر فإنّ التغيرات في مستويات المقاومة للنوع البكتيري الواحد ضمن مناطق العزل المختلفة وهو ما لوحظ في نتائج الدراسة الحالية وخاصةً في عزلات الوحدات الإشعاعية قد يفسر سبب الاختلاف بين عزلة وأخرى في آلية مقاومتها عند اختلاف مصدر عزلها؛ ذلك لأنّ المقاومة لمجموعة البنسلينات قد تتعدى إنتاج الإنزيمات (البنسلين والبيتالاكتام) والبروتينات الرابطة للبنسلين ذات الفعالية الإنزيمية العالية مثل Transpeptidases و Carboxypeptidases (توجد في الغشاء الساييتوبلازمي المرتبط بجدار الخلية) بإستهدافها لمضادات البيتالاكتام وتغييرها موقع الهدف المُنتج للمقاومة البكتيرية لهذه المضادات (Rajalakshmi and Amsaveni, 2012; Pappu et al., 2011; Fuda et al., 2004). علاوة على ذلك فقد أشار Fuda وجماعته (2006) بأنّ معظم المقاومة التي تُبديها المكورات العنقودية أتجاه مضادات البيتالاكتام يكون مصدرها بلازميدي، وهنا يمكن أن يُعزى سبب التغيرات في مقاومة مضادات البيتالاكتام بواسطة العزلة الواحدة عند عزلها من أجسام العاملين في الوحدات الإشعاعية إلى الإشعاع وما يمكن أن تتعرض له تلك العزلات من موجات أشعاعية تكون كفيلة في التأثير على المستوى الجزيئي أو الوظيفي للبلازميدات ودورها في إنتاج الإنزيمات إلى جانب التغيير في آلية البلازميدات لتشفير بعض البروتينات الرابطة للبنسلين من خلال إحداث طفرة أو فقد مورثة

ما تنتج آلية جديدة تقاوم أو تتحسس فيها البكتيريا للمضاد الحياتي، وهو ما تؤول إليه بعض نتائج الدراسة الحالية.

أما مضادات مجموعة الماكروليدات (Azithromycin و Clindamycin) فإختلفت العزلات في مقاومتها لها باختلاف مصدر العزل، إذ أبدت جميع العزلات مقاومتها الضعيفة (عالية الحساسية) للمضادين عدا عزلات وحدة الأشعة السينية لبكتريا *Staph. epidermidis*، ووحدة المفراس الحلزوني لبكتريا *Staph. haemolyticus*، ووحدة الرنين المغناطيسي لبكتريا *Staph. aureus* فإنها قاومت مضاد Azithromycin فقط بنسبة 71.43 و 57.14 و 66.67%، على التوالي وهذا ما يدل على التأثير الإنتخابي للإشعاع في النوع البكتيري من خلال التأثير على آلية ارتباط الماكروليدات بالوحدة الريبوسومية الثانوية 50S التي في الحالة الطبيعية ترتبط معها بشكل معكوس لمنع تشكيل الروابط الببتيدية بين الأحماض الأمينية وكذلك الوحدة الريبوسومية الثانوية 70S من التحرك أسفل mRNA (العمر، 2010) إلا أنه في الحالات غير الطبيعية (العزلات المقاومة قيد الدراسة) فإن الإشعاع قد يُغير من الإرتباط العكسي للماكروليدات بالوحدة الريبوسومية الثانوية 50S إلى الإرتباط غير العكسي فتتشكل الروابط الببتيدية ما بين الأحماض الأمينية وتتحرك الوحدة الريبوسومية الثانوية 70S إلى أسفل mRNA. كما أن نتائج العزلات الحساسة لمضاد Azithromycin جاءت متوافقة مع نتائج Pappu وجماعته (2011) و Umadevi وجماعته (2011) التي سجلت نسب مقاومة ضعيفة للمضادين على التوالي، وهذا يُشير إلى ضعف قدرة العزلات الحساسة على إنتاج أنزيم RNA methylase الذي يتم تشفيره من خلال مورثة *erm* (Jorgensen et al., 2004)، وهو على عكس العزلات المقاومة المذكورة أعلاه، علاوةً على ذلك فإن الحساسية العالية التي أبدتها العزلات قيد الدراسة لمضاد Clindamycin تُشير إلى أنعدام المورثة *inuA* المسؤولة عن مقاومة هذا المضاد (Murray et al., 2013) أو إلى ضعف دورها نتيجة تأثير الإشعاع على بُنيّتها الجزيئية.

وفيما يتعلق بالمقاومة الضعيفة التي أبدتها عزلات المكورات العنقودية لمضاد Chloramphenicol عدا عزلات *Staph. epidermidis* من وحدة الأشعة السينية التي قاومت المضاد بنسبة 57.14%، فإن المقاومة الضعيفة تُعزى إلى ندرة أستعمال هذا المضاد في العلاج بالنظر لمضاعفاته الجانبية أو عن وجود مورثة محمولة على بلازميد تُشفر إلى أنزيم Chloramphenicol acetyl transferase الذي يعمل على إيقاف المضاد الحياتي عن العمل

كمثبط للبروتين من خلال تأثيره على الوحدة الريبوسومية الثانوية 50S (Fluit *et al.*, 2001). وإن تأثير الإشعاع كان ينسب متفاوتة على العزلات قيد الدراسة ذات المقاومة الضعيفة مقارنةً بعزلات *Staph. epidermidis* التابعة لوحدة الأشعة السينية والتي سجّلت أعلى مقاومة؛ لسبب قد يعود إلى اتحاد الريبوسومات الموجودة على tRNA مع الريبوسومات المقابلة لها (الموجودة على mRNA) مما تعمل على إنتاج أنزيم Chloramphenicol acetyl transferase الخاضع لسيطرة بلازميدية ويعمل بدوره على تحليل المضاد الحيوي (Booth *et al.*, 2001). وتتفق النتائج أعلاه نوعاً ما مع نتائج Al-Hilu (2014) وحسن (2017) من حيث المقاومة المتباينة للمضاد. إنّ المقاومة الضعيفة إلى المنعومة التي أظهرتها عزلات المكورات العنقودية لمضاد Ciprofloxacin جاءت مختلفة مع نتائج حسن (2017) التي حصلت على مقاومة للمضاد بلغت (55 و 75 و 50%) على التوالي للعزلات قيد الدراسة كما هي واردة في النتائج، مما يشير إلى عدم حدوث طفرات كروموسومية في المورثات المشفرة لإنتاج الإنزيمات DNA gyrase و Topoisomerase type IV أو أتباع العزلات البكتيرية آليات مقاومة أخرى تقلل من أمتصاص المضاد نتيجة حدوث الطفرات على مستوى المورثات المنظمة لأغشية النفاذية أو عن طريق أنظمة الدفع Efflux systems (Murray *et al.*, 2013)، فضلاً عن ذلك فإنّ هكذا نوع من المضادات تستهدف DNA gyrase وتمنع نهايتي DNA المقطوع من عودة الإلتحام، وهو ما آلت إليه نتائج الدراسة الحالية. كما أنّ المقاومة الضعيفة لمضادات مجموعة التتراسايكلينات (Doxycyclin و Tetracycline) يمكن تفسيرها على ضوء حدوث طفرة أثّرت في نضوحية الغشاء الخارجي لهذا المضاد أو إلى آلية الإستعمال الموضعي للمضاد في علاج الأخماج (Booth *et al.*, 2001)، أو إلى ارتباطه العكسي مع الوحدة الريبوسومية الثانوية 30S مما يعيق اتحاد الوحدات الريبوسومية الموجودة على tRNA مع الوحدات الريبوسومية المقابلة لها على mRNA (العمر، 2010).

كما أنّ الحساسية التامة لمضادات Imipenem و Vancomycin تشير إلى أنعدام المقاومة من قبل عزلات المكورات العنقودية وهذه النتيجة تتفق تماماً مع نتائج Al-Hilu (2014) في حين تتفق مع نتائج Shah and Kumar (2014) وحسن (2017) بخصوص مضاد Vancomycin فقط، والسبب في ذلك يعود إلى عدم إكتساب العزلات لمورثة المقاومة van ذات الفعالية في تغيير ارتباط أنزيم D, D-peptidase ذي الدور الأساس في بناء جدار الخلية (Clark *et al.*, 2005)، أو قد يعود السبب إلى زيادة سماكة الجدار الخلوي الحساس للمضاد، أو إلى قلة

الإرتباطات العرضية، أو إلى زيادة النهاية (D-Ala. D-Ala) التي تؤدي إلى إحداث تغييرات في موقع الهدف لذلك المضاد (Reipert *et al.*, 2003). وتشير نتائج المقاومة أيضاً لمضادات Nitrofurantoin و Rifampin بواسطة عزلات المكورات العنقودية إلى أن جميع العزلات أبدت مقاومة ضعيفة إلى منعدمة باختلاف مصدر العزل، إذ تُعزى تلك المقاومة الضعيفة لمضاد Nitrofurantoin إلى إنتاج البكتريا لمواد تنافسية تدخل المسار الحيوي وتنافس المضاد أو من خلال إنتاج أنزيمات ذات حساسية قليلة لذلك المضاد إلى جانب تطوير قابليتها على أمتصاص حامض الفوليك من المحيط الخارجي (Davis *et al.*, 1990). كما أن المقاومة الضعيفة لمضاد Rifampin تنشأ نتيجة لحدوث طفرات وراثية على مستوى تركيب الإنزيم RNA polymerase تُفقِد المضاد القدرة على الإرتباط به (Jawetz and Adelberg's, 2016)، وهو ما تقول إليه نتائج المقاومة الضعيفة التي أبدتها العزلات قيد الدراسة فضلاً عن توافق النتائج إلى مدى معين مع نتائج Al-Hilu (2014) عن بكتريا *Staph. haemolyticus* ذات النسبة 47.17%، ونتائج حسن (2017) عن بكتريا *Staph. epidermidis* ذات النسبة 25%، ونتائج الغزي (2008) عن بكتريا *Staph. aureus* ذات النسبة 33.33%.

وأخيراً فإن مقاومة العزلات البكتيرية لمضاد Trimethoprim أيضاً باختلاف مصدر العزل ونوع العزلة وإن أعلى مقاومة للمضاد سجّلتها عزلات *Staph. epidermidis* كانت 66.67% من وحدة المفراس الحلزوني، وعند وحدة الرنين المغناطيسي سجّلت المقاومة ذاتها لبكتريا *Staph. haemolyticus* وكذلك *Staph. aureus* مقارنةً بوحدات العزل الأخرى للنوع البكتيري الواحد والتي أظهرت جميعها مقاومة ضعيفة لهذا المضاد وصلت في بعضٍ منها إلى إنعدامها (0.00%)، وإن سبب المقاومة عند بعض العزلات تشير إلى حدوث طفرة على المستوى الإنزيمي يمكن أن تكون بسبب البيئة المعرضة للإشعاع التي عُزلت منها فتسبب تحويراً في تركيب الإنزيم Dihydrofolate reductase سيما وأن مقاومة هذا المضاد تتم من خلال مورثات محمولة على بلازميد يحل فيها الإنزيم المحوّر محل الإنزيم الكروموسومي المثبّط والذي يسمح بإستمرار وظيفة المسار المغلق والنمو بوجود مضاد Trimethoprim.

4-4: الكشف المظهري عن قابلية بكتريا المكورات العنقودية على أنتاج أنزيمات البيتالاكتام

Phenotypic Screening of *Staphylococcus* spp. Feasibility to β -lactamase Production

الجدول (4 - 6) تُظهر بياناته ذات الطابع المعنوي ($P < 0.05$) أنّ 52 (91.23%) عزلة من مجمل 57 عزلة للمكورات العنقودية قيد الدراسة أنتجت أنزيمات البيتالاكتام، كما أنّ جميع عزلات *Staph. aureus* و *Staph. haemolyticus* من وحدات عزلها المختلفة أنتجت أنزيمات البيتالاكتام بنسبة 100% مقارنةً مع عزلات *Staph. epidermidis* التي بلغت نسبة إنتاجها من جميع مصادر عزلها 78.26% لـ 18 عزلة من مجموع 23 عزلة تابعة لها، هذا وأنّ أعلى نسبة إنتاج للإنزيمات وبفارق معنوي واضح سجلتها 5 عزلات *Staph. aureus* من وحدة الأشعة السينية إذ بلغت 38.46% مقابل أعلى نسبة 33.33% سجلتها 7 عزلات *Staph. haemolyticus* من وحدة المفراس الحلزوني، إلى جانب ذلك سُجّلت نسبٌ متساوية لعزلات *Staph. epidermidis* من وحدات الرنين المغناطيسي والمفراس الحلزوني والأشعة السينية في إنتاجها لأنزيمات البيتالاكتام إذ بلغت 21.74% لكلٍ منها. ومن خلال النتائج الواردة أعلاه يتضح أنّ جميع عزلات *Staph. aureus* و *haemolyticus* أنتجت أنزيمات البيتالاكتام بنسبة 100% مقابل 78.26% فقط من عزلات *Staph. epidermidis* كانت مُنتجة لهذه الإنزيمات، ويُعزى ذلك الإرتفاع في النسب الحالية إلى أسبابٍ عدة منها ما هو خارجي يتعلق بالتعاطي العشوائي للمضادات الحياتية بمعزل عن الإستشارة الطبية، وعدم وجود ضوابط تمنع من صرف الدواء إلا بوجود وصفة طبية إلى جانب تدني الوعي الصحي في استعمال المضادات الحياتية، أما الداخلي فتتعلق بالمستوى الخلوي والجزيئي للبكتريا فضلاً عن دور الإشعاع المغناطيسي والمؤين على المستوى الجزيئي وما ينتج عنه من تغييرات فسلجية تُترجم على شكل مقاومة نتيجة الإنزيمات المُنتجة بواسطتها، وهذا ما توصلت إليه الدراسة الحالية والدراسات السابقة من أنّ السلالات المُنتجة لإنزيمات البيتالاكتام تعد مقاومة لمجموعة البنسلينات والسيفالوسبورينات من خلال كسر حلقة البيتالاكتام (Andrews et al., 2002)، وفي دراسة سابقة بيّن كلاً من Firth and Skurray (1998) أنّ إنتاج أنزيمات البيتالاكتام بواسطة المكورات العنقودية لا تعد الآلية الوحيدة للمقاومة على غرار ما بيّنه Jawetz and Adelberg's (2016) من وجود ثلاثة آليات مقاومة لمضادات البيتالاكتام تنحصر بتحمّل التأثير القاتل للمضاد، ووجود العوامل الخلوية مثل البروتينات ضعيفة الألفة للبنسلينات، وإنتاج أنزيمات البيتالاكتام. علاوة على ذلك فإنّ نتائج الدراسات السابقة عزّزت ما تمّ ذكره آنفاً بإنتاج

عزلاتها لإنزيمات البيتا لاكتام بنسب مرتفعة بلغت 95.23% لدى Ghadiri وجماعته (2012)، و 81.80% لدى جواد (2013)، و 93.45% لدى Czekaj وجماعته (2015).

جدول 4-6: قابلية عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر عزلها على إنتاج إنزيمات

البيتا لاكتام مظهرياً

النسبة المئوية للعزلات المنتجة لإنزيمات البيتا لاكتام	العزلات المنتجة لإنزيمات البيتا لاكتام	العزلات غير المنتجة لإنزيمات البيتا لاكتام	العدد الكلي	عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر العزل	
21.74	5	2	7	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. epidermidis</i> (n = 23)
21.74	5	1	6	وحدة المفراس الحلزوني	
21.74	5	2	7	وحدة الأشعة السينية	
13.04	3	0	3	حاملي الأغذية	
14.29	3	0	3	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. haemolyticus</i> (n = 21)
33.33	7	0	7	وحدة المفراس الحلزوني	
28.57	6	0	6	وحدة الأشعة السينية	
23.81	5	0	5	حاملي الأغذية	
23.08	3	0	3	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. aureus</i> (n = 13)
7.69	1	0	1	وحدة المفراس الحلزوني	
38.46	5	0	5	وحدة الأشعة السينية	
30.77	4	0	4	حاملي الأغذية	
91.23	52	5	57	المجموع الكلي	
للعزلات المنتجة لإنزيمات البيتا لاكتام = 0.023				LSD ($P \leq 0.05$)	

4-5: الكشف المظهري عن المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين

Phenotypic Screening of MRSA

نتائج التحليل الإحصائي الواردة في الجدول (4-7) أظهرت أن 43 عزلة من أصل 57 عزلة قاومت المثيسيلين مسجلةً بذلك نسبةً أجمالية بلغت 75.44%. كما أن 17 عزلة من مجموع 23 عزلة تابعة لـ *Staph. epidermidis* قاومت المثيسيلين محققةً نسبة 73.91%، وهي أعلى معنوياً مما حققتُه عزلات *Staph. haemolyticus* (71.43%) التي قاومت المثيسيلين بواسطة 15 عزلة من مجمل 21 عزلة تابعة لها، إلا أن كلا النوعين السابقين أنخفضت مقاومتها للمثيسيلين معنوياً عما حققته عزلات *Staph. aureus* من نسبة مقاومة بلغت 84.62% لـ 11 عزلة من أصل 13 عزلة، وكما هي واردة في الجدول ذاته.

جدول 4-7: الكشف المظهري عن المكورات العنقودية المقاومة للمثيسيلين

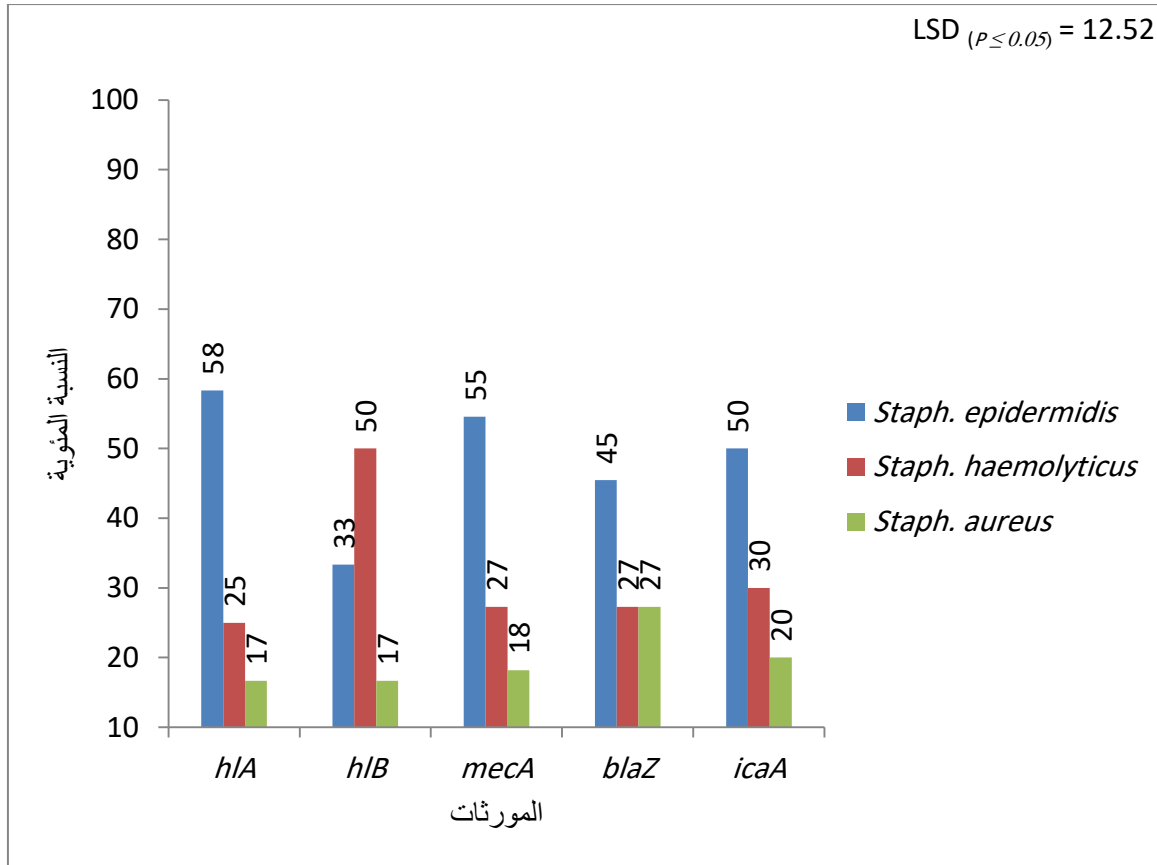
النسبة المئوية للعزلات المقاومة للمثيسيلين	العزلات المقاومة للمثيسيلين	العزلات غير المقاومة للمثيسيلين	العدد الكلي	عزلات المكورات العنقودية بحسب مصادر العزل	
26.09	6	1	7	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. epidermidis</i> (n = 23)
21.74	5	1	6	وحدة المفراس الحلزوني	
21.74	5	2	7	وحدة الأشعة السينية	
4.35	1	2	3	حاملي الأغذية	
14.29	3	0	3	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. haemolyticus</i> (n = 21)
19.05	4	3	7	وحدة المفراس الحلزوني	
14.29	3	3	6	وحدة الأشعة السينية	
23.81	5	0	5	حاملي الأغذية	
15.38	2	1	3	وحدة الرنين المغناطيسي	<i>Staph. aureus</i> (n = 13)
7.69	1	0	1	وحدة المفراس الحلزوني	
30.77	4	1	5	وحدة الأشعة السينية	
30.77	4	0	4	حاملي الأغذية	
75.44	43	14	57	المجموع الكلي	
للعزلات المقاومة للمثيسيلين = 0.020				LSD ($P \leq 0.05$)	

إنَّ الكشف المظهري عن صفة المقاومة للمثيسيلين بواسطة عزلات المكورات العنقودية قيد الدراسة تلخّصت بإستعمال مضادّي الأوكزاسيلين والسيفوكسيتين دون المثيسيلين، لِمَا للأخير من نتائج سلبية تنجم عن تأثره بظروف الإختبار وأعطائه نتائج خاطئة لا يمكن بواسطتها الكشف عن المقاومة بإستعماله أيّ المضاد الحياتي المثيسيلين (García-Álvarez et al., 2011)، فيستعمل مضاد الأوكزاسيلين بنسبة عالية في الكشف عن المكورات العنقودية مقارنةً بالمثيسيلين؛ لمقاومته العالية لظروف التخزين وقدرته العالية في الكشف عن العزلات ذات المقاومة غير المتجانسة من المكورات العنقودية (CLSI, 2014). أما مضاد السيفوكسيتين فيعدُّ مُحَفِّزاً جيداً لمورثة المقاومة للمثيسيلين (*mecA*)، ومؤشراً أولياً مع الأوكزاسيلين على مقاومة المثيسيلين (Weigelt, 2007). كما أنّ عزل أنواع المكورات العنقودية قيد الدراسة من العاملين في مصادر الإشعاع المختلفة تكون كفيّلة في التأثير على المحددات الوراثية المُشَفِّرة لمقاومة العديد من المضادات (Neidell et al., 2012)، وهذا ما تمَّ أحصاءه في نتائج الدراسة الحالية، إذ قاومت عزلات *Staph. aureus* المعزولة من وحدات العاملين المعرّضين للإشعاع وكذلك حاملي الأغذية المثيسيلين بنسبة عالية بلغت 84.62% تلتها عزلات *Staph. epidermidis* بنسبة 73.91% ثمَّ عزلات *Staph.*

haemolyticus بنسبة 71.43%، والسبب وراء النسبة العالية في المقاومة التي أبدتها العزلات أتجاه الميثيسيلين قد يعود إلى الآلية ذاتها في مقاومة مضادات البييتالاكتام من خلال إنتاج أنواعاً محوّرة من أنزيمات البروتينات الرابطة للبنسلينات (PBPs) تعمل على إغلاق مواقع ارتباط مضادات البييتالاكتام مع البروتينات الرابطة للبنسلينات مما ينتج عنها مقاومة غالبية مضادات البييتالاكتام (Hiramatsu et al., 2001). وجاءت نتائج المقاومة العالية للميثيسيلين التي أبدتها عزلات المكورات العنقودية وبالأخص *Staph. aureus* أعلى مما سجّلته نتائج Al-Fu'adi (2010)، و Al-hassnawi (2012)، و جواد (2013) إذ بلغت 32.30 و 29.50 و 45.50%، على التوالي.

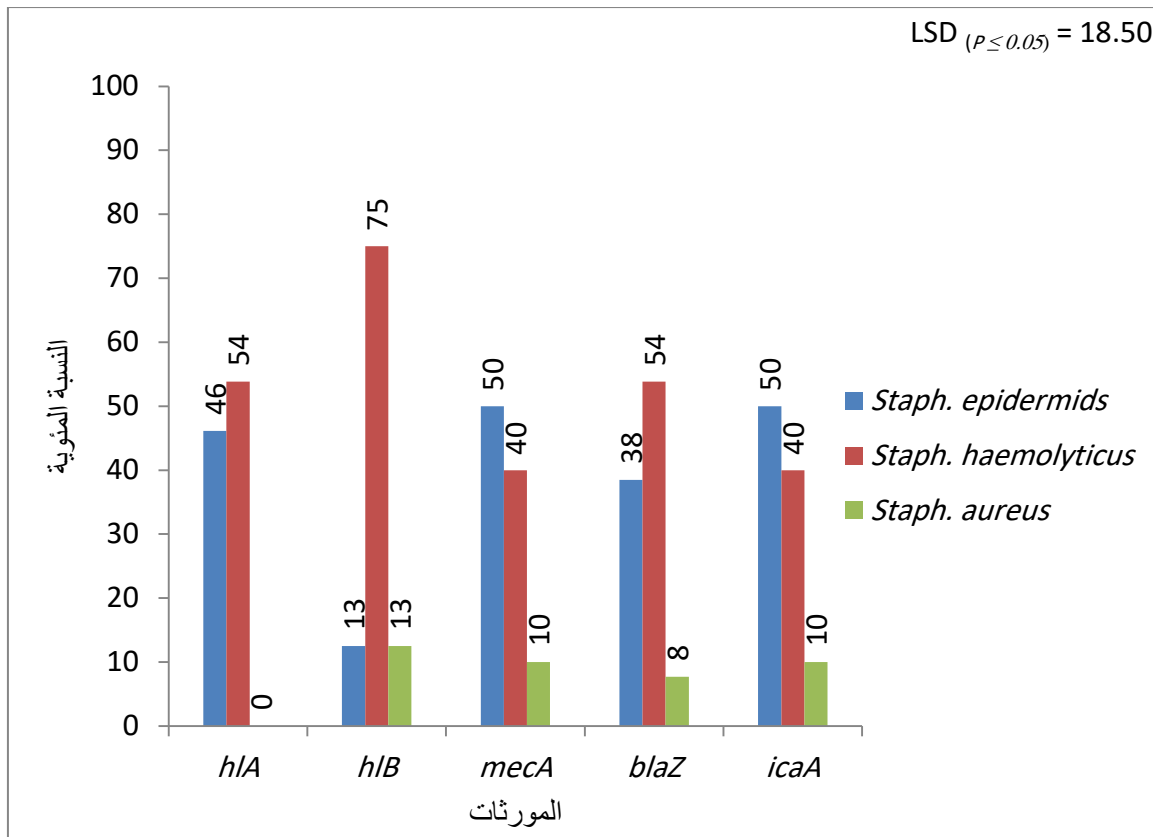
4-6: الكشف الوراثي عن هوية المكورات العنقودية وبعض عوامل ضراوتها ومقاومتها للمضادات الحياتية المحددة مظهرياً

يتبيّن من خلال الشكل (4-7) الكشف الوراثي عن مورثات بعض عوامل الضراوة ومقاومتها للمضادات الحياتية المحددة مظهرياً؛ إذ تُظهِر النسب المئوية ذات الدلائل الإحصائية ضمن الشكل أدناه التفوّق المعنوي لبكتريا *Staph. epidermidis* في امتلاكها أعلى النسب المئوية من مورثة إنتاج α -haemolysin، ومورثة مقاومة الميثيسيلين، ومورثة تكوين الغشاء الحيوي مقارنةً مع *Staph. haemolyticus* التي امتلكت أعلى نسبة من مورثة إنتاج أنزيمات البييتالاكتام، وبالمقابل فإنّ عزلات *Staph. aureus* تساوت مع *Staph. haemolyticus* في النسبة المئوية لمورثة *blaZ* وأنخفضت عند كلاً من المورثات *hla* و *hlb* و *mecA* و *icaA* إلى 17 و 17 و 18 و 20%، على التوالي، وهو ما توكّده صوّر الكشف الوراثي (4-2 و 4-3 و 4-4 و 4-5)، ويتبع التفسيرات السابقة التي تمّ الإسهاب فيها.



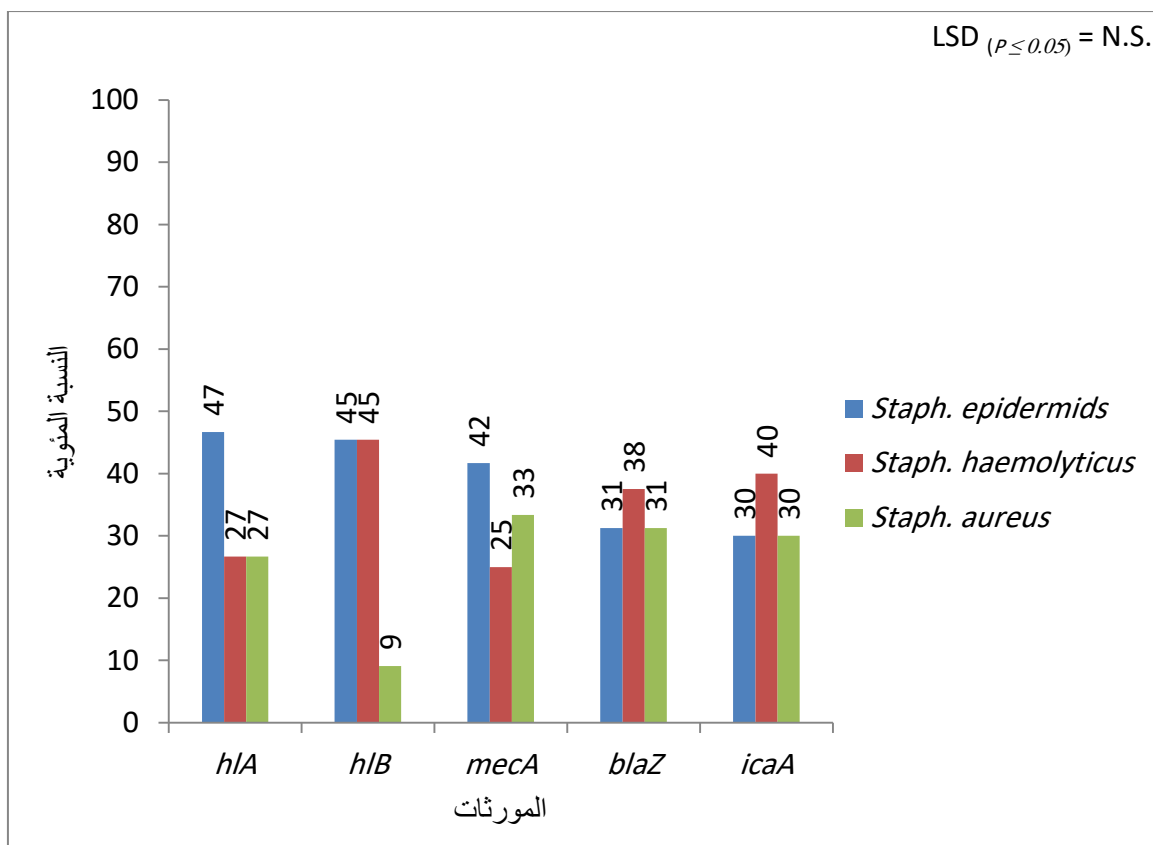
شكل 4-7: مورثات بعض عوامل الضراوة ومقاومة المضادات الحيوية لأنواع المكورات العنقودية (العدد الكلي = 69) المعزولة من وحدة الرنين المغناطيسي

وفيما يخص وحدة المفراس الحلزوني (الشكل 4-8) فأُنْ الكشف الوراثي عن بعض مورثات عوامل الضراوة لأنواع المكورات العنقودية الثلاثة ظهرَ من خلال التفوق المعنوي الواضح لبكتريا *Staph. haemolyticus* بإمتلاكها للنسبِ العالية من المورثات *hla* و *hlb* و *blaZ* وبالباغة 54 و 75 و 54%، على التوالي مقابل أمتلاك *Staph. epidermidis* لمورثتي *mecA* و *icaA* بنسبة 50% وهي أعلى مما هو موجود في الأنواع الأخرى، فضلاً عن تدني النسبِ إلى الصفر (0%) في عزلات *Staph. aureus* من وحدة المفراس الحلزوني.



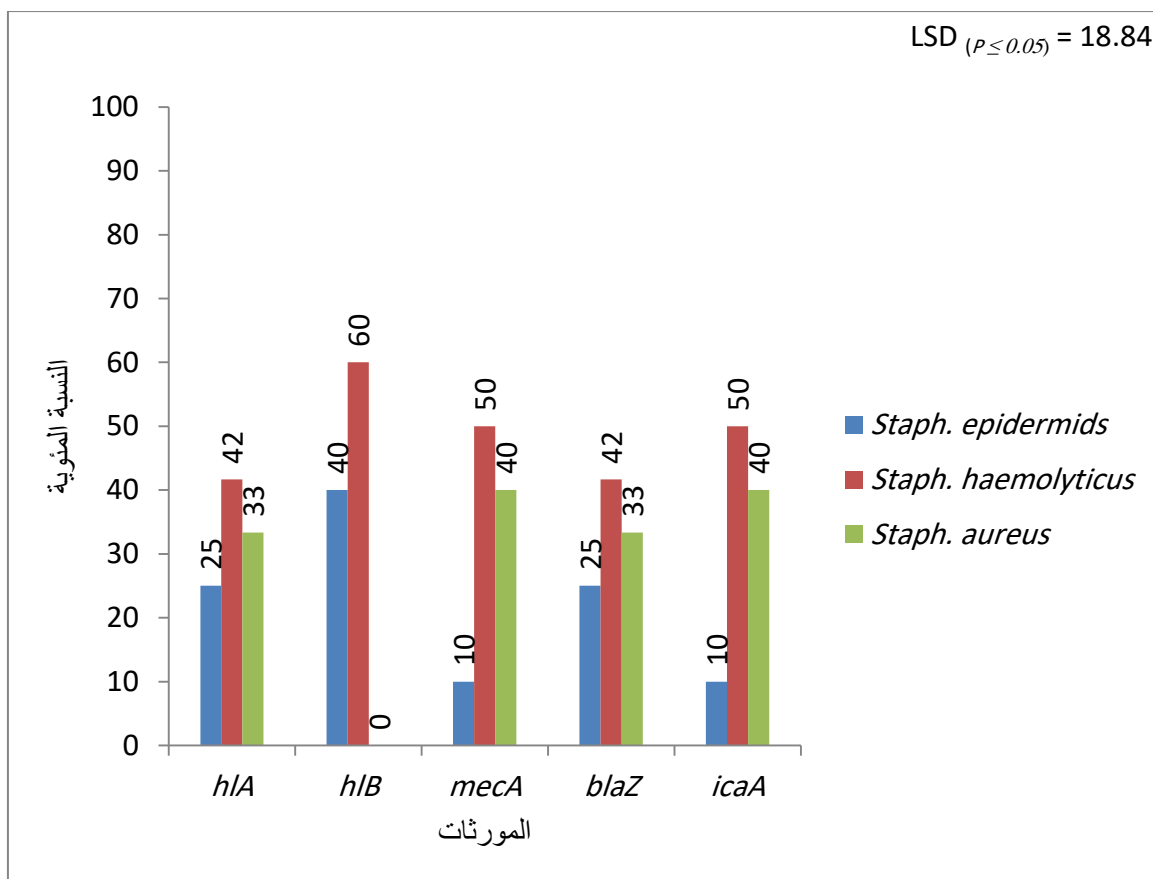
شكل 4-8: مورثات بعض عوامل الضراوة ومقاومة المضادات الحيوية لأنواع المكورات العنقودية (العدد الكلي = 69) المعزولة من وحدة المفراس الحلزوني

أما مورثات عزلات وحدة الأشعة السينية ذات الدلالة غير المعنوية ($P > 0.05$) ف لوحظت من خلال الشكل (4-9) تفوق بكتريا *Staph. epidermidis* أمتلاكها أعلى النسب المئوية لمورثة إنتاج α -haemolysin 47%، ومورثة مقاومة الميثيسيلين 42% إلى جانب تساويها في النسبة مع بكتريا *Staph. haemolyticus* عند مورثة إنتاج β -haemolysin 45%، هذا وأن بكتريا *Staph. haemolyticus* احتلت الصدارة بإمتلاكها أعلى النسب لمورثة إنتاج أنزيمات البيتالاكتام 38% ومورثة تكوين الغشاء الحيوي 40%، وعند المورثتين الأخيرتين تساوى النوعين الآخرين لبكتريا المكورات العنقودية من ناحية تسجيل النسبة ذاتها 31 و 30% على التوالي، بيد أن النسبة المئوية لمورثة المقاومة للميثيسيلين عند *Staph. aureus* 33% بلغت أعلى من مثيلتها لـ *Staph. haemolyticus* 25%.



شكل 4-9: مورثات بعض عوامل الضراوة ومقاومة المضادات الحيوية لأنواع المكورات العنقودية (العدد الكلي = 69) المعزولة من وحدة الأشعة السينية

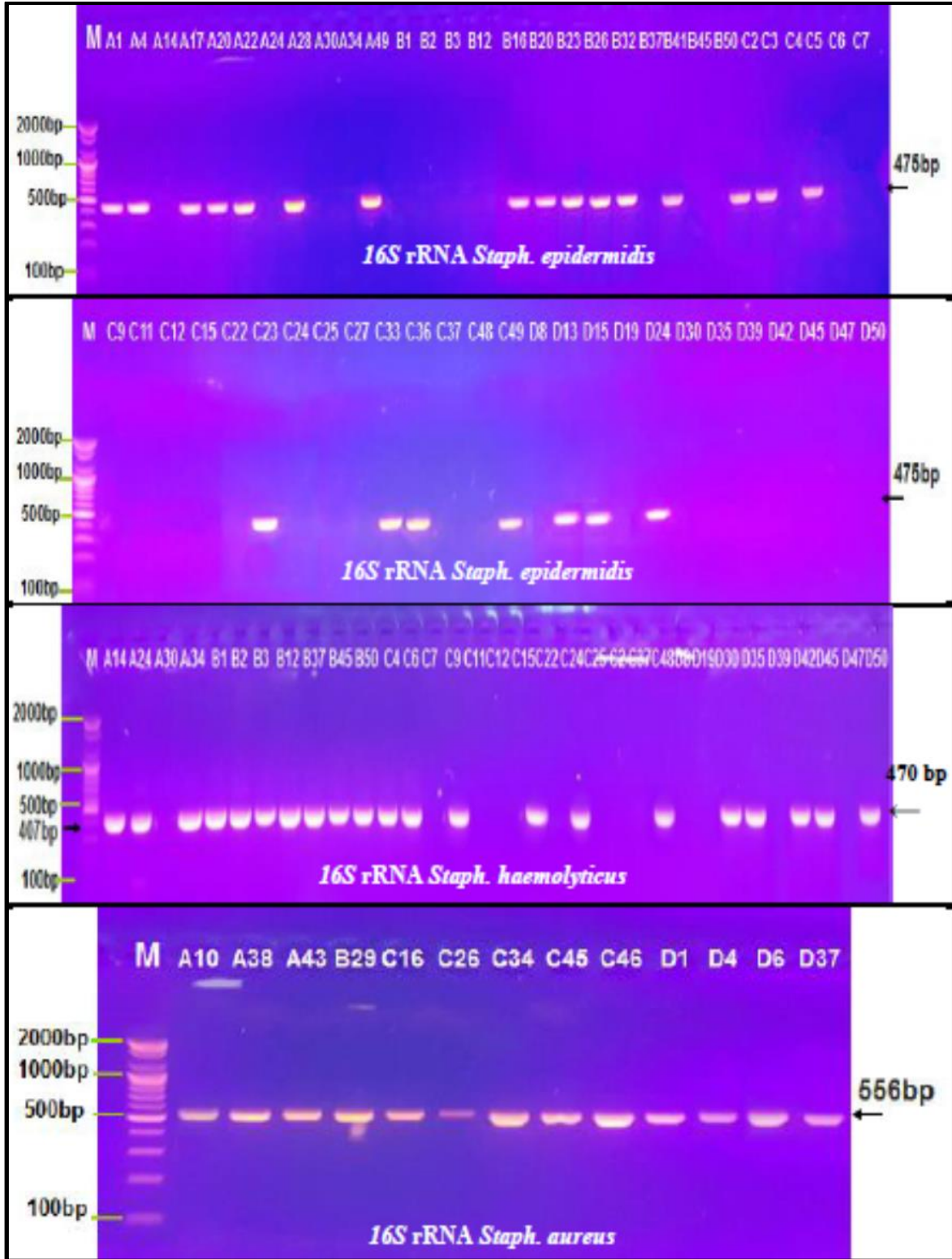
كما أظهرت أنواع المكورات العنقودية المعزولة من حاملي الأغذية (الشكل 4-10) غياب المورثة المسؤولة عن إنتاج β -haemolysin لدى *Staph. aureus*، وأنخفاض النسب المئوية لجميع المورثات بشكلٍ معنوي لدى *Staph. epidermidis* مقابل التفوق المعنوي لـ *Staph. haemolyticus* في جميع المورثات قيد الدراسة من خلال تسجيل أعلى النسب المئوية 42 و 60 و 50 و 42 و 50%، على التوالي وكما هي واردة في الشكل ذاته، فضلاً عن تفوق *Staph. aureus* على *Staph. epidermidis* في جميع النسب المئوية للمورثات قيد الدراسة عدا ما ذُكر آنفاً بخصوص *hIB*.



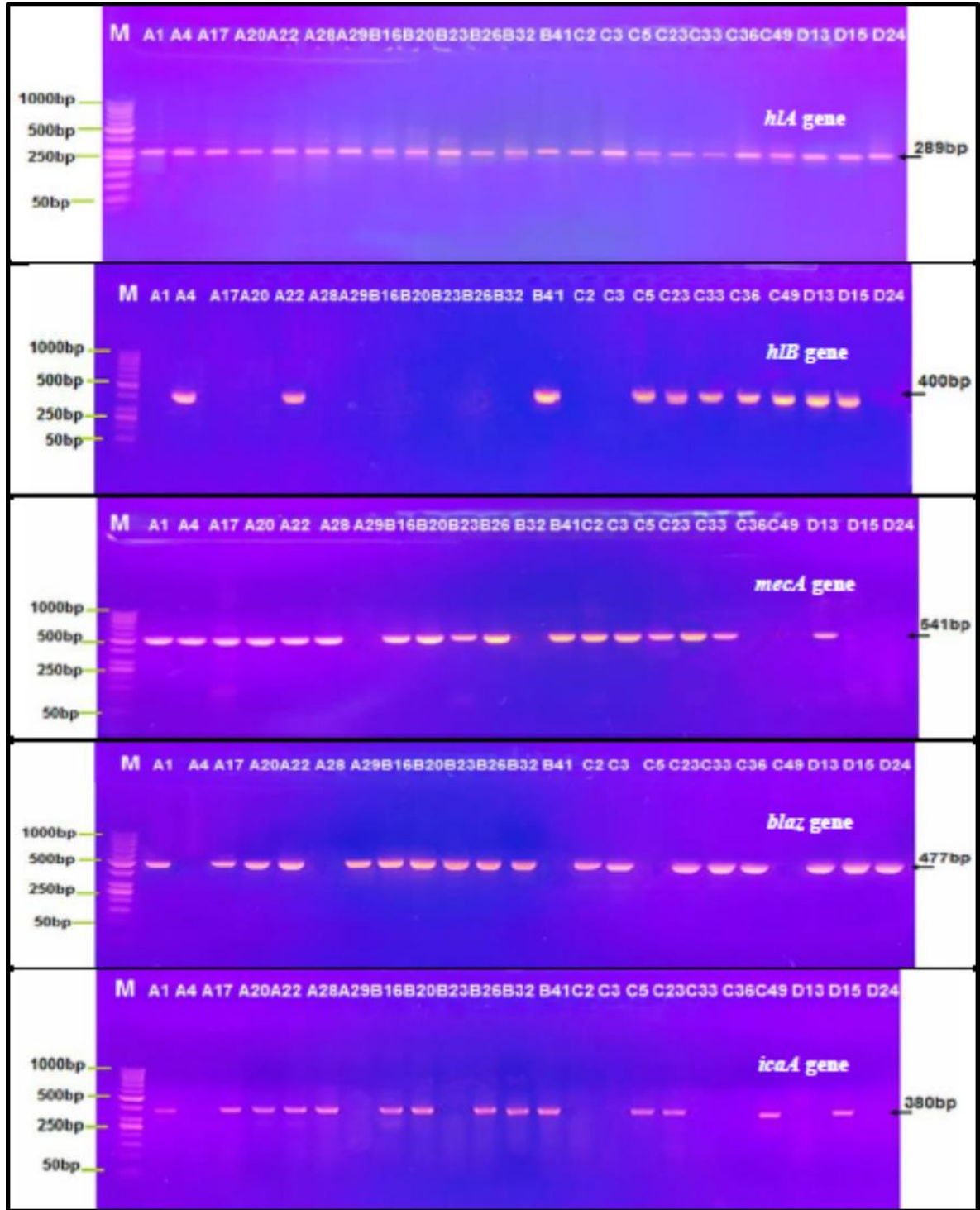
شكل 4-10: مورثات بعض عوامل الضراوة ومقاومة المضادات الحيوية لأنواع المكورات العنقودية (العدد الكلي = 69) المعزولة من حاملي الأغذية

إنَّ الكشف الوراثي عن مورثات بعض عوامل الضراوة لكل نوع من أنواع المكورات العنقودية قيد الدراسة بما فيها المورثة المسؤولة عن إنتاج الهيموليسين بكِلا نوعيه، ومورثة المقاومة للمثيسيلين، ومورثة إنتاج أنزيمات البيتالاكتام، ومورثة تكوين الأغشية الحيوية أثبتتها النتائج أعلاه والتي من خلالها تمَّ تأكيد نتائج الكشف المظهري عن تلك المحددات (عوامل الضراوة)، علاوةً على ذلك فإنَّ ما ذُكِرَ سلفاً من تفسيرات تتعلق بنتائج الكشف المظهري جاءت متوافقة تماماً مع نتائج الكشف الوراثي؛ كما يُلاحظ من خلال الصورة (4-2) أنَّ الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز الحاوي على نتائج فحص تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة الخاص بالكشف عن المورثة التشخيصية 16S rRNA أثبتت أمتلاك جميع العزلات لها، والتي تمثل بدورها المورثة التشخيصية House-Keeping لكل بكتريا، وتحمل وزناً جزيئياً يبلغ 475 زوجاً قاعدياً لبكتريا *Staph. epidermidis* و 407 زوجاً قاعدياً لبكتريا *Staph. haemolyticus* و 556 زوجاً قاعدياً لبكتريا *Staph. aureus* على التوالي (Ghebremedhin et al., 2008)، مما يثبت هوية كل نوع من الأنواع البكتيرية الثلاثة. وبالنسبة

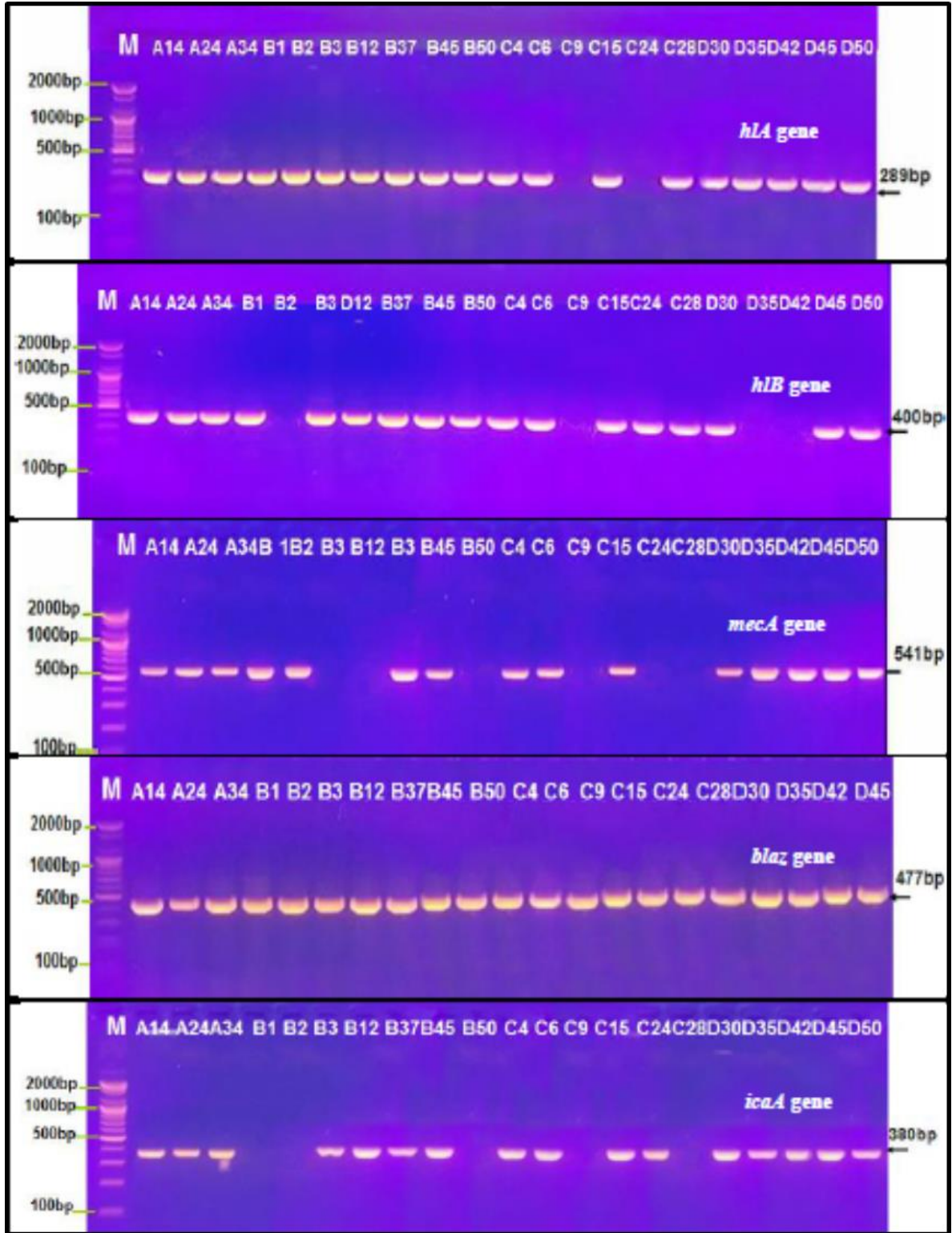
لمورثات إنتاج الهيموليسين بكِلا نوعيه من خلال العزلات قيد الدراسة فتشير إلى أمراضيتها المشفرة بعامل الفوعة الرئيس الذي ينشط ضد كريات الدم الحمر (Berube and Wardenburg, 2013)، ويكون أنزيم α -haemolysin المُشفر بمورثة *hla* مع الحالات السريرية شديدة الإراضية عدا أخماج المسالك البولية (Marrs *et al.*, 2005)، التي يترافق معها دائماً أنزيم β -haemolysin المُشفر بمورثة *hlyB* (Ariyanti *et al.*, 2011). وعلى الرغم من الإختلاف الواضح لنتائج الترحيل ضمن عزلات النوع الواحد لمناطق العزل المختلفة إلا أنّها جاءت متوافقة نوعاً ما من حيث نسب الظهور للمورثات مع Moraveji وجماعته (2014) و Pinheiro وجماعته (2015). كما أن أملاك بعض العزلات قيد الدراسة لمورثة *mecA* المشفرة لمقاومة الميثيسيلين، ومورثة *blaz* المشفرة لإنتاج أنزيمات البييتالاكتام، ومورثة *icaA* المشفرة لتكوين الغشاء الحيوي تعزى للأسباب ذاتها المذكورة ضمن نتائج الكشف المظهري وكذلك عوامل الضراوة، وهذا ما حصل عليه كلاً من Prasad وجماعته (2012) على بكتريا *Staph. epidermidis* و Pinheiro وجماعته (2015) على بكتريا *Staph. epidermidis* و *Staph. haemolyticus*، و Duran وجماعته (2012) و جبار (2013) و Santos وجماعته (2014) على بكتريا *Staph. aureus*، كما أنّ الإختلاف في النتائج عن الدراسات السابقة قد يعزى إلى تأثير الإشعاع على المستوى الوراثي في إحداث طفرة تؤدي إلى فقدان مورثة معينة أو اكتساب مورثة جديدة تحمل صفات تختلف عمّا هي عليه في سلالاتها الطبيعية.



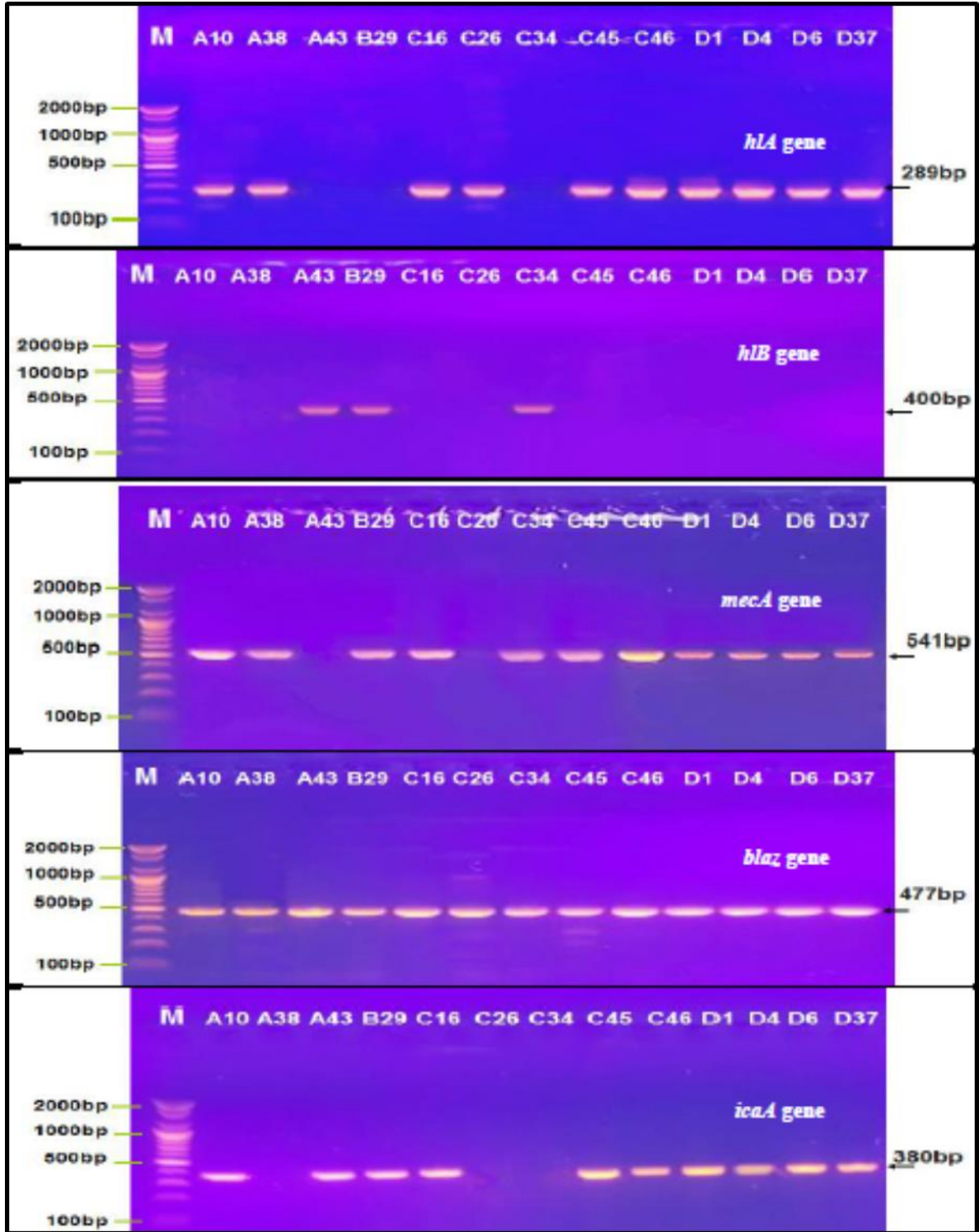
صورة 4-2: الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز الحاوي على نتائج فحص تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة (PCR) الخاص بالكشف عن المورثة التشخيصية (*16S rRNA*) لأنواع المكورات العنقودية تحت فرق جهد 100 فولت وتيار 80 ملي أمبير وزمن 60 دقيقة، ويمثل M (Marker) من 100 - 2000 زوج قاعدي (bp)، بينما تشير الرموز إلى تسلسل العزلات كما هي واردة في الملحق (4)



صورة 4-3: الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز الحاوي على نتائج فحص تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة (PCR) الخاص بالكشف عن مورثات أنتاج الهيموليسين (*hIA* و *hIB*) ومقاومة الميثيسيلين (*mecA*) وأنتاج أنزيمات البيبتالكتام (*blaZ*) وتكوين الغشاء الحيوي (*icaA*) في بكتريا *Staph. epidermidis* تحت فرق جهد 100 فولت وتيار 80 ملي أمبير وزمن 60 دقيقة، ويمثل M (Marker) من 50 - 1000 زوج قاعدي (bp) بينما تشير الرموز إلى تسلسل العزلات كما هي واردة في الملحق (4)



صورة 4-4: الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز الحاوي على نتائج فحص تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة (PCR) الخاص بالكشف عن مورثات إنتاج الهيموليسين (*hla* و *hlyB*) ومقاومة الميثيسيلين (*mecA*) وأنتاج أنزيمات البيبتالكتام (*blaZ*) وتكوين الغشاء الحيوي (*icaA*) في بكتريا *Staph. haemolyticus* تحت فرق جهد 100 فولت وتيار 80 ملي أمبير وزمن 60 دقيقة، ويمثل M (Marker) من 100 - 2000 زوج قاعدي (bp)، بينما تشير الرموز إلى تسلسل العزلات كما هي واردة في الملحق (4)



صورة 4-5: الترحيل الكهربائي لهلام الأكاروز الحاوي على نتائج فحص تفاعل سلسلة أنزيم البلمرة (PCR) الخاص بالكشف عن مورثات إنتاج الهيموليسين (*hIA* و *hIB*) ومقاومة الميثيسيلين (*mecA*) وأنتاج أنزيمات البيتا لكتام (*blaZ*) وتكوين الغشاء الحيوي (*icaA*) في بكتريا *Staph. aureus* تحت فرق جهد 100 فولت وتيار 80 ملي أمبير وزمن 60 دقيقة، ويمثل M (Marker) من 100 - 2000 زوج قاعدي (bp)، بينما تشير الرموز إلى تسلسل العزلات كما هي واردة في الملحق (4)

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

Conclusions and Recommendations

5: الأستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations

1-5: الأستنتاجات

1. صدارة المكورات العنقودية بأنواعها المختلفة وخاصةً الأنواع *Staph. epidermidis* و *Staph. aureus* و *Staph. haemolyticus* في نسبة العزل والتشخيص على باقي الأنواع الأخرى من العزلات البكتيرية.
2. نتائج الكشف المظهري عن عوامل الضراوة لعزلات المكورات العنقودية أثبتت إنتاج غالبيتها للهيموليسين من نوع α مقارنةً بالنوع β ، وتفاوتها في تكوين المحفظة والغشاء الحيوي.
3. قابلية العزلات البكتيرية على إبداء مقاومة متعددة للمضادات الحياتية، فضلاً عن إنتاج غالبية تلك العزلات لإنزيمات البييتالاكتام ومقاومتها للمثيسيلين.
4. توافق نتائج الكشف الوراثي مع نتائج الكشف المظهري من حيث أمتلاك العزلات المنتجة للهيموليسين α و β للمورثات المُشفِّرة لها *hla* و *hlyB*، والمورثة المُشفِّرة لمقاومة المثيسيلين *mecA*، والمورثة المُشفِّرة لإنتاج أنزيمات البييتالاكتام *blaZ*، والمورثة المُشفِّرة لتكوين الغشاء الحيوي *icaA*، فضلاً عن المورثة التشخيصية *16S rRNA* لكل نوع من أنواع المكورات العنقودية.

2-5: التوصيات

1. ألزام العاملين في وحدات التصوير الشعاعي بإتخاذ الإجراءات الوقائية من التعرُّض المباشر وغير المباشر للإشعاعات المؤينة وغير المؤينة الصادرة عن أجهزة الرنين المغناطيسي والمفراس الحلزوني والأشعة السينية.
2. دراسة النسق البلازميدي للعزلات المُنتجة لعوامل الضراوة والمقاومة لجميع المضادات الحياتية.
3. الكشف بواسطة تقنية تسلسل الحامض النووي DNA sequence عن الطفرات الوراثية الناجمة عن الإشعاع والمُسببة لضراوة العزلات البكتيرية.

الفصل السادس

المصادر

References

References

6: المصادر

1-6: المصادر العربية

إنكا (1982). مقدمة في الفيزياء النووية. ترجمة عاصم عزوز، مطبعة مؤسسة دار الكتب، جامعة الموصل، العراق، الجزء 109.

جبار، علي أياذ (2013). دراسة بكتريولوجية ووراثية على العنقوديات الذهبية المعزولة من مرضى بداء السكري في مدينة الديوانية. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة القادسية، العراق.

الجسار، أحمد جمال (2016). مبادئ علم الإحصاء مع تطبيقات عملية باستخدام EXCEL 2013. شركة الجسور للتدريب والإستشارات الإحصائية المحدودة، الطبعة الأولى، العراق، 80 صفحة.

جواد، مصطفى رعد (2013). الكشف عن بعض الجينات المسؤولة عن عوامل الضراوة والمقاومة للمضادات الحيوية في بكتريا المكورات العنقودية *Staphylococcus aureus* المعزولة من حالات سريرية مختلفة في مدينة الديوانية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة القادسية، العراق.

حسن، ريام وسام (2017). دراسة جزيئية للجينات المسؤولة عن أنتاج الهيموليسين في البكتريا المسببة لأخماج المسالك البولية ومقاومتها لعوامل السيطرة. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة القادسية، العراق.

الشمري، زهراء باسم شاکر (2014). دراسة بكتريولوجية وجزيئية للمسببات البكتيرية المعزولة من مرضى التهاب المجاري البولية في النجف. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الكوفة، العراق.

الظاهر، عدنان (1983). مخاطر الأشعة الذرية. مجلة الثقافة العربية، 1(2): 93 - 98.
العمر، عبد السلام (2010). المضادات الحيوية والمقاومة الجرثومية. مجلة التشخيص المخبري، 5(9): 25 - 36.

الغزي، زينة زامل تركي (2008). النشاط الهيموليسيني لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حالات مرضية مختلفة ومقاومتها لمضادات الحياة. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة ذي قار، العراق.

- Aires de Sousa, M.; Bartzavali, C.; Spiliopoulou, I.; Sanches, I.S.; Crisostomo, M.I. and de Lencastre, H. (2003).** Two international methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clones endemic in a university hospital in Patras. Greece J. Clin. Microbiol., 41: 2027-2032.
- Al-camo, I.E. (2001).** Fundamental of Microbiology. 6th ed., Jones and Bartelett, London, UK, p: 25-34.
- 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, College of Medicine, University of Babylon, Iraq.
- 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. Ph.D. Thesis, College of Medicine, University of Babylon, Iraq.
- Al-Hilu, S.A. (2014).** Molecular study of virulence factors of some coagulase negative *Staphylococci* isolated from different infections. Ph.D. Thesis, Faculty of Science, University of Kufa, Iraq.
- Al-Jumaily, E.F.; Saeed, N.M. and Khanaka, H.H. (2014).** Study the biological characterization of *Staphylococcus aureus* enterotoxin. World J. Pharm. Pharmaceutical Sci., 3(6): 13-30.
- Al-Omari, A.W.; Mohamad, A.M. and Raof, W.M. (2013).** Detection of biofilm formation in some pathogenic bacteria using tube and Congo red agar methods. J. Rafidain Sci., 24(6): 55-65.
- 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.

Al-Rubaey, N.K.F.; Sabri, M. and Al-Rubaey, O.K. (2007). Isolation and characterization of bacteria from patients of conjunctivitis in Hilla Province. J. Med. Babylon, 4(1): 44-63.

Anderson, M.; Lefebvre, S. and Weese, J. (2008). Evaluation of prevalence and risk factors for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in veterinary personnel attending an international equine veterinary conference. Vet. Microbiol., 129(3-4): 410-417.

Andrei, T.; Kenyl, E.P. and James, M.S. (2006). Effect of gamma irradiation viability and DNA of *Staphylococcus epidermidis* and *Escherichia coli*. J. Med. Microbiol., 55: 1271-1275.

Andrews, S.J.; Brooks, P.T. and Hanbury, D. (2002). Ultrasonography and abdominal radiography versus intravenous urography in investigation of urinary tract infection in men: prospective incident cohort study. J. Med. Microbiol., 324(7335): 454-456.

Ansari, S.A.; Baqai, R.; Memon, M.R.; Aziz, M. and Khan, M.K. (2011). Biofilm formation and isolation of *Staphylococcus aureus* from blood culture of patient under going oral surgical procedures. J. Pak. Dent. Assoc., 20(3): 181-184.

Anstead, G.M.; Cadena, J. and Javeri, H. (2014). Treatment of Infections Due to Resistant *Staphylococcus aureus*. In: Ji Y. (eds) Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) Protocols. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols), Vol. 1085. Humana Press, Totowa, NJ., p: 259-309.

Ariyanti, D.; Salasia, S.I.O. and Tato, S. (2011). Characterization of haemolysin of *Staphylococcus aureus* isolated from food of animal origin. Indonesian J. Biotech., 16(1): 32-37.

- Atlase, R.M.; Brown, A.E. and Parks, L.C. (1995).** Laboratory Manual Experimental Microbiology. Mosby Company, Inc.
- Aziz, S.A. (2013).** Bacterial urinary tract infection in diabetic patients in Al-Najaf city. M.Sc. Thesis, Collage of Medicine, University of Kufa, Iraq.
- Baele, M.; Storms, V.; Haesebrouck, F.; Devriese, L.A.; Gillis, M.; Verschraegen, G.; de Baere, T. and Vaneechoutte, M. (2001).** Application and evaluation of the interlaboratory reproducibility of tRNA intergenic length polymorphism analysis (tDNA PCR) for identification of *Streptococcus* species. J. Clin. Microbiol., 39: 1436-1442.
- Bagge, D.; Hjelm, M.; Johansen, C.; Huber, I. and Gram, L. (2001).** *Shewnella putrefaciens* adhesion and biofilm formation on food processing surfaces. Appl. Environ. Microbiol., 67(5): 2319-2325.
- Baird, D. (1996).** *Staphylococcus*. Cluster-forming gram positive cocci. chapter 11 in Mackie and Mc Cartney practical medical microbiology 14th ed., Collee, J.G.; Marmion, B.P.; Fraser, A.G., Anthony Simmons Churchill Livingstone, NewYork, Edinburgh, London, p: 245-261.
- Ballarini, F.; Alloni, D.; Facchetti, A. and Ottolenghi, A. (2008).** Heavy-ion effects: from track structure to DNA and chromosome damage. New J. Physics, 10(7): 2-18.
- Baron, E.J. and Finegold, S.M. (1995).** Diagnostic Microbiology. 1st ed., Bailey and Scott's, Mosbey Company, Baltimore, Philadelphia, Toronto, USA.
- Barretti, P.; Montelli, A.C.; Batalha, J.E.; Caramori, J.C. and Maria de Lourdes, R.S. (2009).** The role of virulence factors in the outcome of staphylococcal peritonitis in CAPD patients. BMC Infect. Dis., 9(1): 212.

- Barros, E.M.; Ceotto, H.; Basto, M.C.; Dos Santos, K.R. and Giambiagi-Demarval, M. (2012).** *Staphylococcus haemolyticus* as an important hospital pathogen and carrier of methicillin resistance genes. J.Clin. Microbiol., 50(1): 166-168.
- Bauer, A.W.; Kirby, W.M.M.; Sherris, J.C. and Turck, M. (1966).** Antibiotic susceptibility testing by a standerized single disk method. Am. J. Clin. Path., 36: 493-496.
- Bergey, D.; John, G.H.; Noel, R.K. and Peter, H.A.S. (1994).** Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 9th Ed., Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, USA.
- Bernatova, S.; Samek, O.; Pilat, Z.; Sery, M.; Jezek, J.; Jakl, P.; Siler, M.; Krzyzanek, V.; Zemanek, P.; Hola, V.; Dvorackova, M. and Ruzicksa, F. (2013).** Following the mechanisms of bacteriostatic versus bacteriocidal action using Raman spectroscopy. Molecules, 18: 13188-13199.
- Berube, B.J. and Wardenburg, B.J. (2013).** *Staphylococcus aureus* alpha-toxin: nearly a century of intrigue. Toxins (Basel), 5: 1140-1166.
- Bhakdi, S. and Tranum-Jensen, J. (1991).** Alpha-toxin of *Staphylococcus aureus*. Microbiol. Rev., 55: 733-751.
- Bhatia, A. and Zahoor, S. (2007).** *Staphylococcus aureus* enterotoxins. J. Clin. Diag. Res., 2: 188-197.
- Bizye, A.; Sago, A.; Admasu, G.; Getachew, H.; Kassa, P. and Amsays, M. (2014).** Isolation, optimization and characterization of protease producing bacteria from soil and water in gondar town, north west Ethiopia, Int. J. Bacteriol. Virol. Immun., 3: 20-24.
- Booth, M.C.; Pence, L.M.; Mahasreshti, P. and Gilmore, M.S. (2001).** Clonal associations among *Staphylococcus aureus*

isolates from various sites of infection. *Infect. Immun.*, 69: 345-352.

Brown, A. (2007). Benson's Microbiological Application Laboratory. Manual in General Microbiology. 10th ed. McGraw-Hill Company, Inc., USA, p: 102-263.

Brown, D.F.; Edwards, D.I.; Hawkey, P.M.; Morrison, D.; Ridgway, G.L.; Towner, K.J. and Wren, M.W. (2005). Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *J. Antimicrob. Chemother.*, 56(6): 1000-1018.

Brynjolfsson, A. (1979). Food irradiation and nutrition. *The Professional Nutritionist.*, 11 (4) : 7-10.

Bush, K. (2001). New beta-lactamase in gram-negative bacteria: diversity and impact on selection of antimicrobial therapy. *Clin. Infect. Dis.*, 32: 1085-1089.

Chandrakanth, K.; Gavimath, C.C.; Kangralkar, V.A.; Morabad, U. and Virupakshaiah, D.B.M. (2010). Comparative genomics of *Staphylococcus aureus* coagulase gene. *J. Adv. Bioinf. Appl. Res.*, 1: 31-36.

Clark, N.C.; Weigel, L.M.; Patel, J.B. and Enover, F.C. (2005). Comparison of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Michigan and Pennsylvania. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 49(1): 470-472.

CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute (2014). Performance standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 24th Information Supplement. Wayne, Pennsylvania, USA, p: M100-S24.

Coelho, S.M.O.; Reinoso, E.; Pereira, I.A.; Soares, L.C.; Demo, M.; Bogni, C. and Souza, M.M.S. (2009). Virulence factors

and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Rio de Janeiro. *Pesq. Vet. Bras.*, 29: 369-374.

Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmiom, B.P. and Simmon, A. (1996). Mackie and McCartney 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. Hospital Infect.*, 29: 107-119.

Cucarella, C.; Tormo, M.A.; Ubed, C.; Trotonda, M.P.; Monzon, M.; Peris, C.; Amorena, B.; Lasa, I. and Penades, J.R. (2004). Role of biofilm-associated protein bap in the pathogenesis of bovine *Staphylococcus aureus*. *Infect. Immun.*, 72(4): 2177-2158.

Czekaj, T.; Ciszewski, M. and Szewczyk, E. (2015). *Staphylococcus haemolyticus* an emerging threat in the twilight of the antibiotics age. *Microbiol.*, 161: 2061-2068.

Daniel, B.; Saleem, M.; Naseer, G. and Fida, A. (2014). Significance of *Staphylococcus haemolyticus* in hospital acquired infections. *J. Pioneer Med. Sci.*, 4: 119-125.

Darini, A.L.; Palazzo, I.C. and Felten, A. (2004). Cefoxitin does not induce production of penicillin binding protein 2a in methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains. *J. Clin. Microbiol.*, 42(9): 4412- 4413.

Darwish, S.F. and Asfour, H.A. (2013). Investigation of biofilm forming ability in *Staphylococci* causing bovin mastitis using phenotyping and genotypic assay. *Sci. World J.*, 2013: 1-9.

Davis, B.D.; Dubecco, R.; Elsen, H.N. and Glusberg, H. S. (1990). Microbiology. 4th ed., Harper and Row Publishers, Inc., USA.

- de Araujo Melo, M.C.; Rodrigues, C.G. and Pol-Fachin, L. (2017).** *Staphylococcus aureus* δ -toxin in aqueous solution: Behavior in monomeric and multimeric states. *Biochimica et Biophysica Acta-Biomembranes*, 227: 21-28.
- De Charvalho, C.C. (2007).** Biofilms: recent developments on an old battle. *Recent Patents on Biotechnol.*, 1(1): 49-57.
- Demuth, D.R. and Lamont, R. (Eds.). (2006).** *Bacterial Cell-to-Cell Communication: Role in Virulence and Pathogenesis* (Vol. 11). Cambridge University Press, UK.
- Deplano, A.; Vaneechoutte, M.; Verschraegen, G. and Struelens, M.J. (1997).** Typing of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* strains by polymerase chain reaction (PCR) analysis of inter-IS256 spacer length polymorphisms. *J. Clin. Microbiol. Infect.*, 35: 2580-2587.
- Dezfulian, A.; Aslani, M.M.; Oskoui, M.; Farrokh, P.; Azimirad, M.; Dabiri, H.; Salehian, M. and Zali, M.R. (2011).** Identification and characterization of a high vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* harboring *vanA* gene cluster isolated from diabetic foot ulcer. *Iran J. Basic Med. Sci.*, 15(2): 803-806.
- Dinges, M.M.; Orwin, P.M. and Schlievert, P.M. (2000).** Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.*, 13(1): 16-34.
- Dufour, P.; Gillet, Y.; Bes, M.; Lina, G.; Vandenesch, F.; Floret, D.; Etienne, J. and Richet, H. (2002).** Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton-Valentine leucocidin. *Clin. Infect. Dis.*, 35: 819-824.
- Duran, N.; Ozer, B.; Duran, G.G.; Onlen, Y. and Demir, C. (2012).** Antibiotic resistance genes & susceptibility patterns in staphylococci. *Ind. J. Med. Res.*, 135: 389-396.

- El-Jakee, J.; Ata, S.; Nagwa, M.; Bakry, S.A.; Zouelfakar, E.; Elgabry, V. and Gad El-Said, W.A. (2008).** Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains isolated from human and animal sources. American-Eurasian J. Agric. Environ. Sci., 4(2): 221-229.
- Ermolaeva, S.A.; Varfolomeev, A.F.; Chernukha, M.Y.; Yurov, D.S.; Vasiliev, M.M.; Kaminskaya, A.A. and Shimizu, T. (2011).** Bactericidal effects of non-thermal argon plasma in vitro, in biofilms and in the animal model of infected wounds. J. Med. Microbiol., 60(1): 75-83.
- Espinosecuregel, M. (2003).** Resident parking only: rhamnolipids maintain fluid channels in biofilms. J. Bacteriol., 185(3): 699-700.
- Even, S.; Leroy, S.; Charlier, C.; Zakour, N.B.; Chacornac, J.P.; Lebert, I.; Jamet, E.; Desmonts, M.H.; Coton, E. and Pochet, S. (2010).** Low occurrence of safety hazards in coagulase negative staphylococci isolated from fermented food stuffs. Int. J. Food Microbiol., 139: 87-95.
- Farkas, J. (1997).** Physical methods of food preservation. Food microbiology fundamentals and frontiers. M.P. Doyle, L.R. Peauchat, T.J. Montville (eds.), Washington, D.C. ASM Press, pp: 497-519.
- FDA, Food and drug administration (2000).** Total diet study statistics on element results. Washington, DC: US Food and drug administration.
- Feinendengen, L.E.; Muhlensiepen, H.; Bond, V.P. and Sonhans, C.A. (1987).** Intracellular stimulation of biochemical control mechanisms, Health Physics, 52: 663-669.
- Firth, N. and Skurray, R.A. (1998).** Mobile elements in the evaluation and spread of multiple-drug resistance in *Staphylococci*. Drug Resistance Updates, 1: 49-58.

- Fluit, A.C.; Visser, M.R. and Schmitz, F.J. (2001).** Molecular detection of antimicrobial resistance. *Clin. Microbiol. Rev.*, 14: 836-871.
- Forbes, B.A.; Daniel, F.S. and Alice, S.W. (2007).** Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology. 12th ed., Mosby Elsevier Company, Inc., USA.
- Forrest, G.N. and Tamura, K. (2010).** Rifampin combination therapy for non-mycobacterial infection. *Clin. Microbiol. Rev.*, 23: 14-34.
- Fuda, C.; Suvorov, M.; Vakulenko, S.B. and Mobashery, S. (2004).** The basis for resistance to beta-lactam antibiotics by penicillin binding protein 2a of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J. Biol. Chem.*, 279: 40802-40806.
- Gad, M.G.F.; El-Feky, M.A.; El-Rehewy, M.S.; Hassan, M.A.; Abolella, H. and Abd El-Baky, R.M. (2009).** Detection of *icaA*, *icaD* genes and biofilm production by *Staphylococcus epidermidis* isolated from urinary tract catheterized patient. *J. Infect. Dev. Countries*, 3(5): 342-351.
- Ganal, S.; Guadin, C.; Roensch, K. and Tran, M. (2007).** Effects of streptomycin and kanamycin on the production of capsular polysaccharides in *Escherichia coli* B23 cells. *J. Exp. Microbiol. Immun.*, 11: 54-99.
- García-Álvarez, L.; Holden, M.T.; Lindsay, H.; Webb, C.R.; Brown, D.F.; Curran, M.D. and Parkhill, J. (2011).** Meticillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *The Lancet Infect. Dis.*, 11(8): 595-603.
- Garofalo, C.K.; Hooton, T.M.; Martin, S.M.; Stamm, W.E.; Palermo, J.J.; Gordon, J.I. and Hultgren, S.J. (2007).** *Escherichia coli* from urine of female patients with urinary

tract infections is competent for intracellular bacterial community formation. *Infect. Immun.*, 75(1): 52-60.

Ghadiri, H.; Vaez, H.; Khosravi, S. and Soleymani, E. (2012). The antibiotic resistance profiles of bacterial strains isolated from patients with hospital-acquired blood stream and urinary tract infections. *J. Int. Nephrology*, 20(12): 1-6.

Ghebremedhin, B.; Layer, F.; Konig, W. and Konig, B. (2008). Genetic classification and distinguishing of *Staphylococcus* species based on different partial *gap*, *16S* rRNA, *hsp60*, *rpoB*, *sodA*, and *tuf* gene sequences. *J. Clin. Microbiol.*, 46(3): 1019-1025.

Götz, F.; Bannerman, T. and Schleifer, K.H. (2006). The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In *The Prokaryotes* (pp: 5-75). Springer US.

Grecz, N.; Rowley, D.B.; Matsuyama, A. (1983). The Action of Radiation on Bacteria and Viruses. In: *Preservation of Foods by Ionizing Radiation*. Vol. 2. Josephson, E.S. and Peterson, M.S. (Eds.). CRC. Press, Boca Raton, Florida, p: 167-218.

Greenwood, D. (2012). *Medical Microbiology, With Studentconsult Online Access*, 18: *Medical Microbiology*. Elsevier Health Sciences.

Guilfoile, P.G.; Al-camo, E. and Heymann, D. (2007). *Antibiotic Resistant Antibacteria*. Infobase Publishing. NewYork, USA, p: 40-46.

Hanaa, A.E. and Darwishm, S.F. (2014). Evaluation of phenotypic methods versus molecular methods for differentiation of coagulase positive staphylococci causing bovine mastitis with a special reference to atypical *Staphylococcus aureus*. *Int. J. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 3(5): 543-558.

Hanaki, H. (2004). Epidemiology and clinical effect against “beta-lactam antibiotic induce”. *J. Antibiotic.*, 78(8): 204-216.

- Harley, J.P. and Prescott, L.M. (1996).** Laboratory Exercises in Microbiology. 3rd ed., WCB/ McGraw-Hill Company, Inc.
- Hassan, A.; Usman, J.; Kaleem, F.; Omair, M.; Khalid, A. and Iqbal, M. (2011).** Evaluation of different detection methods of biofilm formation in the clinical isolates. Braz. J. Infect. Dis., 15(4): 305-311.
- Henry, J.B. (2001).** Todd, Sanford, Davidsohn Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 20th ed., Vol. (1,2,3). W.B. Saunders Company, USA.
- Hiramatsu, K.; Cui, L.; Kuroda, M. and Ito, T. (2001).** The emergence and evolution of methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Trends Microbiol., 9: 486-493.
- Hiramatsu, K.; Ito, T. and Hanaki, H. (1999).** Evolution of methicillin and glycopeptide resistance in *Staphylococcus aureus*. In: Finch, R.G. and Williams, R.J. (ed.). Bailliere's clinical infectious disease, Bailliere Tindall, London, United Kingdom, p: 221-242.
- Hirota, S.; Sasaki, T.; Kuwahara, K. and Hiramatsu, K. (2011).** Rapid and accurate identification of human-associated staphylococci by use of multiplex PCR. J. Clin. Microbiol., 49(36): 27-31.
- Hola, V.; Ruzicka, F. and Votava, M. (2006).** The dynamics of *Staphylococcus epidermis* biofilm formation in relation to nutrition, temperature and time. Scripta Medica, 79(3): 169-174.
- Hyland, C.; Vuillard, L.; Hughes, C. and Koronakis, V. (2001).** Membrane interaction of *Escherichia coli* haemolysin. Flotation and insertion-dependent labeling by phospholipid vesicles. J. Bacteriol., 183: 5364-5370.

- IAEA, International Atomic Energy Agency (2004).** Sediment distribution coefficients and concentration factors for biota in the marine environment. International Atomic Energy Agency: Vienna, Austria.
- 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 recombinase, *ccrC*. Antimicrob. Agents and Chemother., 48: 2637-2651.
- Iwase, T.; Uehara, Y.; Shinji, H.; Tajima, A.; Seo, H.; Takada, K. and Mizunoe, Y. (2010).** *Staphylococcus epidermidis* Esp inhibits *Staphylococcus aureus* biofilm formation and nasal colonization. Nature, 465(7296): 346-349.
- Jaradat, Z.; Al Aboudi, A.; Shatnawi, M. and Ababneh, Q. (2013).** *Staphylococcus aureus* isolates from camels differ in coagulase production-genotype and methicillin. J. Microbiol. Biotechnol. Food Sci., 2(6): 2455-2461.
- Jarraud, S.; Mougel, C.; Thioulouse, J.; Lina, G.; Meugnier, H.; Forey, F.; Nesme, X.; Etienne, J. and Vandenesch, F. (2002).** Relationships between *Staphylococcus aureus* genetic background, virulence factors, *agr* groups (alleles), and human disease. Infect. Immun., 70: 631-641.
- Javad Mortazavi, S.M. (2004).** An Introduction to Radiation Hormesis. Biology Division, Kyoto University of Education, Kyoto, Japan.
- Jawetz, M. and Adelberg's, E.A. (2016).** Medical Microbiology. 27th ed., The McGraw-Hill Companies, Inc., New Yourk, USA.
- Jefferson, K.K. (2004).** What drives bacteria to produce a biofilm. FEMS. Microbiol. Lett., 236(2): 163-173.

- Johnson, A.G.; Ziegler, R.J. and Hawley, L. (2010).** Microbiology and Immunology. Wolters Kluwer Health/ Lippincott Williams & Wilkins, Awolters Kluwer Company, USA.
- Johnson, J.R. (1991).** Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. Clin. Microbiol. Rev., 4(1): 80-128.
- Jones, R.; Barret, M. and Erwin, M. (1997).** Invitro activity and spectrum of Ly 333228 anovel glycopeptide derivative. Antimicrob. Agents and Chemother., 41: 488-493.
- Jorgensen, J.H.; Crwford, S.A.; McElmeel, M.L. and Fiebelkorn, K.R. (2004).** D–zone test clindamycin resistance of staphylococci in conjunction with performance of automatically detection. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 42: 1800-1802.
- Kahalid, S.W.; Salah, R.F. and AlShkargy, O. (2012).** Physiobacteriological study of urinary tract infections of diabetic patients type II. J. Al-Qadisiyah for Pure Sci., 17(2): 1-18.
- Kamel, F.H.; Saeed, G.H. and Qader, S.S. (2014).** Magnetic field effect on growth and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus*. J. Al-Nahrain Univ., 17(3): 138-143.
- Katayama, Y.; Ito, T. and Hiramatsu, K. (2000).** A new class of genetic element, staphylococcal cassette chromosome *mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents and Chemother., 44: 1549-1555.
- Kloos, W.E. and Bannerman, T.L. (1994).** Update on clinical significance of coagulase-negative staphylococci. Clin. Microbiol. Rev., 7(1): 117-140.
- Kloos, W.E. and Schleifer, K.H. (1986).** Genus IV. *Staphylococcus* Rosenbach 1884. Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, 2: 1013-1035.

- Kloos, W.E. and Schleifer, K.H. (1983).** *Staphylococcus auricularis* sp. nov.: an inhabitant of the human external ear. Int. J. Syst. Evol. Microbiol., 33(1): 9-14.
- Kluytmans-Vanden, B. and Kluytmans, J.A. (2006).** Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: current perspectives. Clin. Microbiol. Infect., 12: 9-15.
- Kokare, C.R.; Chakraborty, S.; Khopade, A.N. and Mahadik, K.R. (2009).** Biofilm importance and applications. Ind. J. Biotechnol., 8: 159-168.
- Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Schreckenber, P.C. and Winn, W.C. (1997).** Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology. 5th ed., J.B. Lippincott Company, Philadelphia, New York, USA.
- Kunin, C.M. and Steele, C. (1985).** Culture of the surfaces of urinary tract catheters to sample urethral flora and study the effect of antimicrobial therapy. J. Clin. Microbiol., 21: 902-908.
- Lee, K.H.; Fitton, J.E. and Wuthrich, K. (1987).** Nuclear magnetic resonance investigation of the conformation of δ -haemolysin bound to dodecylphosphocholine micelles. Biochim. Biophys. Acta, 911: 144-153.
- Lessa, F.C.; Cohen, J.; Dumyati, G.; Farley, M.M.; Winston, L.; Kast, K.; Holzbauer, S.; Meek, J.; Beldavs, S.; McDonald, L.C. and Fridkin, S.K. (2012).** Annual Meeting of the Infectious Disease Society of America, Society for Healthcare Epidemiology, Pediatric Infectious Disease Society, and HIV Medical Association; San Diego.
- Liburdy, R.P.; Callahan, D.E.; Harland, J.; Dunham, E.; Sloma, T.R. and Yaswen, P. (1993).** Experimental evidence for 60 Hz magnetic fields operating through the signal transduction

cascade: effects on calcium influx and c-MYC mRNA induction. FEBS. Lett., 334: 301-308.

Lindsay, J.A.; Moore, C.E.; Day, N.P.; Peacock, S.J.; Witney, A.A.; Stabler, R.A.; Husain, S.E.; Butcher, P.D. and Hinds, J. (2006). Microarrays reveal that each of the ten dominant lineages of *Staphylococcus aureus* has unique combinations of surface-associated and regulatory genes. J. Bacteriol., 188: 669-676.

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

Mackinnon, M. (1998). Vancomycin-resistant enterococci and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*: heralding the end of the antibiotic era?. Dalhousie Med. J., 26(1): 33-44.

Mackinnon, M.M. and Allen, K.D. (2000). Long-term MRSA carriage in hospital patients. J. Hospital Infect., 46: 216-221.

Marcus, K. (2005). New bacteria on the block. J. Infect. Dis., 192: 811- 818.

Marrs, C.; Zhang, L. and Foxman, B. (2005). *Escherichia coli* mediated urinary tract infections: are there distinct uropathogenic *E. coli* (UPEC) pathotypes. FEMS. Microbiol. Lett., 252: 183-190.

Marshall, C. and McBryde, E. (2014). The role of *Staphylococcus aureus* carriage in the pathogenesis of bloodstream infection. BMC. Res. Notes, 7(1): 428-433.

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 β -lactamase regulators. J. Bacteriol., 183: 6862-6868.

- Medeiros, A.A. (1997).** Evolution and dissemination of beta-lactamases accelerated by beta-lactam antibiotics. *Clin. Infect. Dis.*, 24: 19-45.
- Menestrina, G.; Dalla, S. and Prevost, A. (2011).** Mode of action of β -barrel pore-forming toxin of staphylococcal α -hemolysin family. *J. Toxicon*, 39(11): 1661-1672.
- Mettler Jr, F.A.; Bhargavan, M.; Faulkner, K.; Gilley, D.B.; Gray, J.E.; Ibbott, G.S.; and Thomadsen, B.R. (2009).** Radiologic and nuclear medicine studies in the United States and worldwide: frequency, radiation dose, and comparison with other radiation sources-1950-2007. *Radiology*, 253(2): 520-531.
- Monte, J.; Abreu, A.C.; Borges, A.; Simões, L.Ch. and Simões, M. (2014).** Antimicrobial activity of selected phytochemicals against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* and their Biofilms. *Pathogens*, 3: 473-498.
- Moraveji, Z.; Tabatabaei, M.; Aski, H.S. and Khoshbakht, R. (2014).** Characterization of hemolysins of *Staphylococcus strains* isolated from human and bovine, southern Iran. *Iranian J. Vet. Res.*, 15(4): 326-330.
- Morellow, C.; Palmer, K.; Whiteley, M.; Sircili, M.; Trabulsi, L.; Castro, A. and Sperandio, V. (2006).** Bundle-forming pili and ESPA are involved in biofilm formation by enteropathogenic *Escherichia coli*. *J. Bact.*, 188(11): 3952-3961.
- Murray, P.R.; Tenenbaum, S.; Tenenbaum, K.S. and Tenenbaum, M.A. (2013).** *Medical Microbiology*, with Student Consult Online Access, 7th ed., Medical Microbiology, 874 p.
- 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.

Namvar, A.E.; Bastarahang, S.; Abasi, N.; Ghehi, G.Sh.; Farhadbakhtiarin, S.; Arezi, P.; Hosseini, M.; Baravati, Sh.Z.; Jokar, Z. and Chermahin, S.G. (2014). Clinical characteristics of *Staphylococcus epidermidis*: A systematic review. *GMS Hygiene and Infection Control*, 9(3): 85-97.

NCCLS, National Committee for Clinical Laboratory Standards (2003). Performance standards for disks susceptibility testing; approved standard, 6th ed. P: 100-113, Wayne, Pannsylvania, USA.

Neidell, M.J.; Cohen, B.; Furuya, Y.; Hill, J.; Jeon, C.Y. Glied, S. and Larson, E.L. (2012). Costs of healthcare-and community-associated infections with antimicrobial-resistant versus antimicrobial-susceptible organisms. *Clin. Infect. Dis.*, 55(6): 807-815.

Nester, E.; Anderson, D.; Roberts, J.R.; Paersall, N. and Nester, M. (2001). *Microbiology: A human Preption.* McGraw-Hill Companeis, New York, p: 64-65.

Novak, J.; Strasak, L.; Fojt, L.; Slaninova, I. and Vetterl, V. (2007). Effects of low-frequency magnetic fields on the viability of yeast *Saccharomyces cerevisiae*. *Bioelectrochem.*, 70(1): 115-121.

Novick, R.P.; Ross, H.F.; Projan, S.J.; Kornblum, J. and Kreiswirth, B. (1993). Synthesis of staphylococcal virulence factors is controlled by a regulatory RNA molecule. *EMBO. J.*, 12: 3967-3975.

Ocokoru, C.; Onzima, R.; Govule, P. and Katongole, S. (2015). Prevalence and drug susceptibility of isolates of urinary tract infections among febrile under-fives in Nsambya Hospital, Uganda. *J. Open Sci. Clin. Med.*, 3(6): 199-204.

- O'Gara, J.P.; Humphreys, H. and Kapila, K. (2001).** *Staphylococcus epidermidis* biofilms: importance and implications. *J. Med. Microbiol.*, 50: 582-587.
- Okafor, N. (2007).** Modern industrial microbiology and biotechnology. *Sci. Pub.*, 5: 77-89.
- Okee, M.S.; Joloba, M.L.; Okello, M.; Najjuka, F.C.; Katabazi, F.A.; Bwanga, F.; Nanteza, A. and Kateete, D.P. (2012).** Prevalence of virulence determinants in *Staphylococcus epidermidis* from ICU patients in Kampala, Uganda. *J. Infect. Dev. Ctries*, 6: 242-250.
- Oliveira, D.C.; Wu, S.W. and Lencaster, H. (2000).** Genetic organization of the downstream region of the *mecA* element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates carrying different polymorphisms of this region. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44: 1906-1910.
- O'Riordan, K. and Lee, J.C. (2004).** *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. *J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 17(1): 218-234.
- Pallen, M.J.; Beatson, S.A. and Bailey, C.M. (2005).** Bioinformatics analysis of the locus for enterocyte effacement provides novel insights into type-III secretion. *BioMed. Central Microbiol.*, 5(9): 1-21.
- Pappu, A.K.; Aprana, S. and Aravind, J. (2011).** Microbiological profile of diabetic foot ulcer. *Calicut. Med. J.*, 9(3): 2-7.
- Peacock, S. (2006).** *Staphylococcus aureus*. In *Principles and Practice of Bacteriology* (pp: 73-98). John Wiley and Sons, Ltd., Chichester.
- Pelczar Jr., M.J.; Chan, E.C.S. and Krieg, N.R. (1993).** Airborne Diseases, *Microbiology: Concepts and Applications*, McGraw-Hill, New York, USA, p: 646-679.

- Pelisser, M.R.; Klein, C.S.; Ascoli, K.R.; Zotti, T.R. and Maisonnave, A.C. (2009).** Occurrence of *Staphylococcus aureus* and multiplex PCR detection of classic enterotoxin genes in cheese and meat products. *Braz. J. Microbiol.*, 40: 145-148.
- Peng, H.L.; Novick, R.P.; Kreiswirth, B.; Kornblum, J. and Schlievert, P. (1988).** Cloning, characterization and sequencing of an accessory gene regulator (*agr*) in *Staphylococcus aureus*. *J. Bacteriol.*, 170: 4365-4372.
- Pinheiro, L.; Brito, C.I.; de Oliveira, A.; Martins, P.Y.F.; Pereira, V.C. and da Cunha, M.D.L.R.D.S. (2015).** *Staphylococcus epidermidis* and *Staphylococcus haemolyticus*: molecular detection of cytotoxin and enterotoxin genes. *Toxins*, 7(9): 3688-3699.
- Plata, K.; Rosato, A.E. and Wegrzyn, G. (2009).** *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. *Acta Biochimica Polonica*, 56(4): 597-612.
- Podkowik, M.; Bystroń, J. and Bania, J. (2012).** Genotypes, antibiotic resistance, and virulence factors of staphylococci from ready-to-eat food. *Foodborne Pathog. Dis.*, 9: 91-93.
- Prasad, S.; Nayak, N.; Satpathy, G.; Nag, H.L.; Venkatesh, P.; Ramakrishnan, S.; Ghose, S. and Nag, T.C. (2012).** Molecular and phenotypic characterization of *Staphylococcus epidermidis* in implant related infection. *Ind. J. Med. Res.*, 136(3): 483-490.
- Prescott, L.M.; Harley, J.P. and Klein, A.K. (2005).** *Microbiology*. 6th ed. McGraw-Hill, USA, p: 134-146.
- Proctor, R.A.; Eiff, C.; Kahl, B.C.; Becke, R.K.; Mcnamara, P.; Herrmann, M. and Peters, G. (2006).** Small colony variants:

a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nat. Rev. Microbiol.*, 4: 295-305.

Rajalakshmi, V. and Amsaveni, V. (2012). Antibiotic susceptibility of bacterial pathogens isolated from diabetic patients. *Int. J. Microbiol. Res.*, 3(1): 30-32.

Rajbhandari, R. (2011). Studies on the role of the putative phosphorylation consensus sequence YXNX in the tandem repeat domains of the of the *Staphylococcus aureus* Mu50 extracellular adherence protein (Eap). Ph.D. Thesis, Faculty of Medicine, University of Saarland, Saarbrücken.

Ratner, A.J.; Hippe, K.R.; Aguilar, J.L.; Bender, M.H.; Nelson, A.L. and Weiser, J.N. (2006). Epithelial cells are sensitive detectors of bacterial pore-forming toxins. *J. Biol. Chem.*, 281(18): 12994-12998.

Reipert, A.; Ehlert, K.; Kast, T. and Bierbaum, G. (2003). Morphological and genetic differences in two isogenic *Staphylococcus aureus* strains with decreased susceptibilities to vancomycin. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, 47(2): 568-576.

Rogolsky, M. (1979). No enteric toxins of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Rev.*, 43(3): 320-360.

Ryan, K.J. and Ray, C.G. (2004). Introduction to Infectious Diseases: Sherris Medical Microbiology, 4th ed., McGraw-Hill, New York, USA.

Salyers, A.A. and Whitt, D.D. (2001). Microbiology: Diversity, Disease, and the Environment. Fitzgerald Science Press, Inc.

Sambrook, J.; Maccallum, P. and Russel, D. (2001). Molecular Cloning: a Laboratory Manual, 3nd ed, Cold Springs Harbour Press, New York, p: 2344.

- Santos, V.M.; Martins, H.B.; Rezende, I.S.; Barbosa, M.S.; Andrade, E.F.; Souza, S.G.; Campos, G.B.; Oliveira, P.S.; Sousa, D.S.; Da Silva, D.C.C.; Amorim, A.T.; Timenetsky, J.; Cruz, M.P.; Yatsuda, R. and Marques, L.M. (2014).** Virulence factor profile of *Staphylococcus aureus* isolated from Bovine milk from Brazil. *Food and Nutr. Sci.*, 5: 1496-1505.
- Scholz, M. and Elsässer, T. (2007).** Biophysical models in ion beam radiotherapy. *Adv. Space Res.*, 40(9): 1381-1391.
- Schommer, N.N.; Christener, M.; Hentschke, M.; Ruckdeschel, K.; Aepfelbacher, M. and Rohde, H. (2011).** *Staphylococcus epidermidis* uses distinct mechanisms of biofilm formation to interfere with phagocytosis and activation of mouse macrophage-like cell 774A. 1. *Infect. Immun.*, 79(6): 2267-2276.
- Senior, B.W. and Hughes, C. (1987).** Production and properties of haemolysin from clinical isolates of *Proteus*. *J. Med. Microbiol.*, 24: 17-25.
- Shah, J. and Kumar, S. (2014).** In vitro antimicrobial susceptibilities and pathogenic attributes of *Staphylococcus aureus* isolates from UTI patients in Punjab. *J. Ind. Int. Curr. Microbiol. Appl. Sci.*, 3(2): 424-430.
- Shakibaie, M.R.; Golkari, Y. and Salagegheh, G. (2014).** Antimicrobial susceptibility, virulence factors and biofilm formation among *Staphylococcus aureus* strains from hospital infections in Kerman, Iran. *J. Microbiol. Infect. Dis.*, 4(4): 152-158.
- Siegrist, J. (2014).** The role of *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Focus*, 6(1): 1-8.
- Silva, P.V.; Cruz, R.S.; Keim, L.S.; De Paula, G.R.; Carvalho, B.T.F.; Coelho, L.R.; Carvalho, M.C.D.; Rosa, J.M.C.; Figueredo, A.M. and Teixeira, L.A. (2013).** The

antimicrobial susceptibility, biofilm formation and genotypic profiles of *Staphylococcus haemolyticus* from bloodstream infections. Men. Inst. Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro., 108(6): 812-816.

Singh, V.; Mani, I. and Chaudhary, D.K. (2015). Metabolic Engineering of Microorganisms for Biosynthesis of Antibiotics. In Systems and Synthetic Biology, p: 341-356.

Song, M.D.; Wachi, M.; Doi, M.; Ishino, F. and Matsuhashi, M. (1987). Evolution of an inducible penicillin-target protein in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. FEBS. Lett., 221: 167-171.

Steel, R.G.D.; Torrie, J.H. and Dickey, D.A. (1997). Principles and Procedures of Statistics: A Biometrical Approach, 3rd ed. McGraw-Hill Companies, Inc., New York, USA.

Stryjewski, M.E. and Corey, G.R. (2014). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. anevolving pathogen. Clin. Infect. Dis., 58(1): 9-10.

Stukus, P.E. (1997). Antimicrobial testing. The Kirby-Bauer method (filter-paper disk method). In: Stukus, P.E. (Ed.). Investigating microbiology: a laboratory manual for general microbiology. Orlando: Harcourt Brace and Company, p: 243-247.

Sulieman, H.M.A. and Allaahmed, A.A.A. (2012). Effect of antimicrobial properties of pepper fruits on on some spoilage organism of Sudanese wet salted fermented fish (Fassiekh) Product. World's Vet. J., 2(1): 5-10.

Suzuki, E.; Hiramatsu, K. and Yokota. T. (1992). Survey of methicillin-resistant clinical strains of coagulase-negative staphylococci for *mecA* gene distribution. Antimicrob. Agents Chemother., 36: 429-434.

- Talaro, K.P. (2008).** The Elements of Chemotherapy in Fundamentals of Microbiology. 5th ed., McGraw-Hill, p: 345-346.
- Taponen, S. and Pyorala, S. (2009).** Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis-not so different from *Staphylococcus aureus*. Vet. Microbiol., 134: 29-36.
- Taylor, A.L. and Liewelyn, M.J. (2010).** Superantigen-induced proliferation of human CD4⁺ CD25⁻ T cells is followed by a switch to a functional regulatory phenotype. J. Immunol., 185(11): 6591-6598.
- Taylor, C.M. and Roberts, I.S. (2005).** Capsular polysaccharides and their role in virulence. Contrib. Microbiol., 12: 55-66.
- Thati, V.; Shivannavar, CH.T. and Gaddad, S.M. (2011).** Vancomycin resistance among methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolates from intensive care units of tertiary care hospitals in Hyderabad. Ind. J. Med. Res., 134: 704-708.
- Thorberg, B.M.; Danielsson-Tham, M.L.; Emanuelson, U. and Waller, K.P. (2009).** Bovine subclinical mastitis caused by different types of coagulase-negative staphylococci. J. Dairy Sci., 92(10): 4962-4970.
- Todar, K. (2005).** *Staphylococcus*. Todar's Online Textbook of Bacteriology. www.textbookofbacteriology.net/Staph.html.
- Todar, K. (2002).** The bacterial flora of humans. University of Wisconsin-Madison Department of Bacteriology: Todar's Online Textbook of Bacteriology, p: 1-8.
- Tong, S.Y.; Chen, L.F. and Fowler, V.G. (2012).** Colonization, pathogenicity, host susceptibility and therapeutics for *Staphylococcus aureus*: what is the clinical relevance?. In Seminars in Immunopathol., 34(2): 185-200.

- Tortora, G.J.; Funke, B.R. and Case, C.E. (1998).** Microbiology an Introduction. 6th ed. Benjamin, Cummings Publishing Company, Inc.
- Townsend, K.M.; Boyce, J.D.; Chung, J.Y.; Frost, A.J. and Adler, B. (2001).** Genetic organization of *Pasteurella multocida* cap Loci and development of a multiplex capsular PCR typing system. J. Clin. Microbiol., 39: 924-929.
- Ugwu, M.C.; Ikegbunam, M.N.; Nduka, S.O.; Attama, A.A.; Ibezim, E.C. and Esimone, C.O. (2013).** Molecular characterization and efficacy of antibiotic *Staphylococcus aureus* isolated from nostrils of healthy human volunteers. J. Pharm. Sci. Res., 5(1): 26-32.
- Umadevi, S.; Kumar, S.; Joseph, N.M.; Easow, J.M.; Kandhakumari, G.; Srirangaraj, S.; Raj, S. and Stephen, S. (2011).** Microbiological study of diabetic foot infections. Ind. J. Med. Specialities, 2(1): 12-17.
- Vandenesch, F.; Naimi, T.; Enright, M.C.; Lina, G.; Nimmo, G.R.; Heffernan, H.; Liassine, N.; Bes, M.; Greenland, T.; Reverdy, M.E. and Etienne, J. (2003).** Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. Emerg. Infect. Dis., 9(8): 978-984.
- Vasconceloes, N.G. and Cunha, M.R.S. (2010).** Staphylococcal enterotoxin. Molecular Aspect and Dtection Method, 2(3): 29-42.
- Vidya, K.C.; Mallya, P.S. and Rao, P.S. (2005).** Inhibition of bacterial adhesion by subinhibitory concentration of antibiotic. Ind. J. Med. Microbiol., 23(2): 102-105.
- Vuong, C. and Otto, M. (2002).** *Staphylococcus epidermidis* infections. Microb. Infect., 4: 481-489.

- Waldron, D.E. and Lindsay, J.A. (2006).** SauI: 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.
- Waldvogel, F.A. (2000).** *Staphylococcus aureus* (including toxic shock syndrome). In: Mandell, G.L.; Bennett, J.E.; Dolin, R. (eds). *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 5th ed. New York, Churchill-Livingstone, p: 2069-2092.
- Weidenmaier, C.; Kokai, J.F. and Kristian, S.A. (2004).** Role of teichoic acid in *Staphylococcus aureus* nasal colonization, a major risk factoring nosocomial infections. *Nat. Med.*, 10: 243-245.
- Weigelt, J.A. (2007).** Empiric treatment options in the management of complicated intra-abdominal infections. *Cleveland Clin. J. Med.*, 74(4): S29-S37.
- WHO, World Health Organization (1978).** Techniques for the Detection of B-Lactamase Producing Strain of *Neisseria Gonorrhoeae*. p: 137-143.
- Winn, J.W.; Allen, S.; Janda, W.; Koneman, E.; Procop, G.; Schreckenberger, P. and Woods, G. (2006).** *Koneman's Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*, 6th ed., Lippincott–raven Publishers. Philadelphia, USA, p: 239-270.
- 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.
- Zasshi, K. (2004).** Epidemiological investigation of beta-lactam antibiotic induced vancomycin-resistant MRSA from clinical isolated MRSA-comparison of detection rate of BIVR with or without CZX. *Int. J. Antimicrob. Agents*, 78(8): 717-721.

Zetola, N.; Francis, J.S.; Nuermberger, E.L. and Bishai, W.R. (2005). Community - acquired methicillin - resistant *Staphylococcus aureus*: an emerging threat. *Lancet Infect. Dis.*, 5: 275-286.

الملاحق

Appendices

ملحق 1: جميع العزلات البكتيرية بحسب المعايير المحددة للعزل

رمز العزلة	مصدر العزلة	مكان أخذ العزلة	الجنس	العمر	فترة العمل	أسم العزلة
A1	الرتين المغناطيسي	الأذن	ذكر / مشغل	50 سنة	4 سنوات	<i>Staph. epidermidis</i>
A2	الرتين المغناطيسي	الجلد	ذكر / مشغل	34 سنة	3 سنوات	<i>Streptococcus pyogenes</i>
A3	الرتين المغناطيسي	الجلد	أنثى / مشغل	40 سنة	سنة واحدة	<i>Streptococcus pyogenes</i>
A4	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	45 سنة	10 سنوات	<i>Staph. epidermidis</i>
A5	الرتين المغناطيسي	الأنف	أنثى / مشغل	36 سنة	4 سنوات	<i>Micrococcus spp.</i>
A6	الرتين المغناطيسي	الجلد	أنثى / مشغل	35 سنة	سنة واحدة	No growth
A7	الرتين المغناطيسي	الجلد	ذكر / مشغل	39 سنة	9 أشهر	No growth
A8	الرتين المغناطيسي	الأنف	أنثى / مشغل	30 سنة	سنة واحدة	No growth
A9	الرتين المغناطيسي	الجلد	أنثى / مشغل	33 سنة	سنتين	No growth
A10	الرتين المغناطيسي	الجلد	ذكر / مشغل	45 سنة	5 سنوات	<i>Staph. aureus</i>
A11	الرتين المغناطيسي	الإدرار	ذكر / مشغل	52 سنة	3 سنوات	<i>Enterococcus faecalis</i>
A12	الرتين المغناطيسي	الجلد	ذكر / مشغل	31 سنة	سنة واحدة	No growth
A13	الرتين المغناطيسي	الجلد	أنثى / مشغل	43 سنة	سنتين	<i>Micrococcus spp.</i>
A14	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	49 سنة	6 سنوات	<i>Staph. haemolyticus</i>
A15	الرتين المغناطيسي	الأذن	ذكر / مشغل	32 سنة	4 سنوات	No growth
A16	الرتين المغناطيسي	الإدرار	ذكر / مشغل	35 سنة	سنتين	<i>Enterococcus faecalis</i>
A17	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	34 سنة	3 سنوات	<i>Staph. epidermidis</i>
A18	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	33 سنة	سنتين	No growth
A19	الرتين المغناطيسي	الجلد	أنثى / مشغل	35 سنة	4 سنوات	<i>Streptococcus pyogenes</i>
A20	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	44 سنة	3 سنوات	<i>Staph. epidermidis</i>
A21	الرتين المغناطيسي	الإدرار	ذكر / مشغل	37 سنة	5 سنوات	<i>Enterococcus faecalis</i>
A22	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	41 سنة	5 سنوات	<i>Staph. epidermidis</i>
A23	الرتين المغناطيسي	الجلد	ذكر / مشغل	46 سنة	4 سنوات	<i>Micrococcus spp.</i>
A24	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	35 سنة	5 سنوات	<i>Staph. haemolyticus</i>
A25	الرتين المغناطيسي	الجلد	أنثى / مشغل	33 سنة	3 سنوات	No growth
A26	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	41 سنة	10 سنوات	<i>Streptococcus pyogenes</i>
A27	الرتين المغناطيسي	الأذن	ذكر / مشغل	29 سنة	سنة واحدة	No growth
A28	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	34 سنة	3 سنوات	<i>Staph. epidermidis</i>
A29	الرتين المغناطيسي	الجلد	ذكر / مشغل	37 سنة	3 سنوات	No growth
A30	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	38 سنة	4 سنوات	<i>Staph. xylosus</i>
A31	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	43 سنة	3 سنوات	No growth
A32	الرتين المغناطيسي	الأنف	أنثى / مشغل	35 سنة	4 سنوات	<i>Micrococcus spp.</i>
A33	الرتين المغناطيسي	الأذن	ذكر / مشغل	28 سنة	سنة واحدة	No growth
A34	الرتين المغناطيسي	الأنف	أنثى / مشغل	42 سنة	9 سنوات	<i>Staph. haemolyticus</i>
A35	الرتين المغناطيسي	الإدرار	ذكر / مشغل	32 سنة	سنة واحدة	No growth
A36	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	36 سنة	سنتين	<i>Micrococcus spp.</i>
A37	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	28 سنة	سنتين	<i>Micrococcus spp.</i>
A38	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	24 سنة	سنتين	<i>Staph. aureus</i>
A39	الرتين المغناطيسي	الجلد	ذكر / مشغل	31 سنة	3 سنوات	<i>Streptococcus pyogenes</i>
A40	الرتين المغناطيسي	الجلد	ذكر / مشغل	28 سنة	سنتين	<i>Micrococcus spp.</i>
A41	الرتين المغناطيسي	الأنف	أنثى / مشغل	39 سنة	3 سنوات	<i>Micrococcus spp.</i>
A42	الرتين المغناطيسي	الإدرار	ذكر / مشغل	34 سنة	5 سنوات	<i>Enterococcus faecalis</i>
A43	الرتين المغناطيسي	الأذن	ذكر / مشغل	28 سنة	4 سنوات	<i>Staph. aureus</i>
A44	الرتين المغناطيسي	الأذن	ذكر / مشغل	29 سنة	سنتين	No growth
A45	الرتين المغناطيسي	الأنف	أنثى / مشغل	38 سنة	3 سنوات	No growth
A46	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	37 سنة	3 سنوات	No growth
A47	الرتين المغناطيسي	الأذن	ذكر / مشغل	32 سنة	سنتين	No growth
A48	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	36 سنة	سنة واحدة	<i>Micrococcus spp.</i>
A49	الرتين المغناطيسي	الأنف	ذكر / مشغل	28 سنة	4 سنوات	<i>Staph. epidermidis</i>
A50	الرتين المغناطيسي	الأذن	ذكر / مشغل	22 سنة	سنة واحدة	No growth
B1	المفراس الحلزوني	الأنف	أنثى / مشغل	41 سنة	4 سنوات	<i>Staph. haemolyticus</i>
B2	المفراس الحلزوني	الأذن	ذكر / مشغل	30 سنة	3 سنوات	<i>Staph. haemolyticus</i>
B3	المفراس الحلزوني	الأنف	ذكر / مشغل	31 سنة	سنتين	<i>Staph. haemolyticus</i>
B4	المفراس الحلزوني	الجلد	أنثى / مشغل	41 سنة	سنة واحدة	<i>Micrococcus spp.</i>
B5	المفراس الحلزوني	الأنف	أنثى / مشغل	46 سنة	3 سنوات	No growth
B6	المفراس الحلزوني	الأنف	أنثى / مشغل	43 سنة	سنتين	<i>Micrococcus spp.</i>
B7	المفراس الحلزوني	الجلد	ذكر / مشغل	34 سنة	سنة واحدة	No growth
B8	المفراس الحلزوني	الأنف	ذكر / مشغل	36 سنة	سنتين	No growth
B9	المفراس الحلزوني	الجلد	أنثى / مشغل	29 سنة	سنة واحدة	No growth
B10	المفراس الحلزوني	الأذن	ذكر / مشغل	28 سنة	سنة واحدة	No growth
B11	المفراس الحلزوني	الأنف	ذكر / مشغل	35 سنة	سنتين	No growth
B12	المفراس الحلزوني	الأنف	ذكر / مشغل	34 سنة	10 سنوات	<i>Staph. haemolyticus</i>
B13	المفراس الحلزوني	الأنف	أنثى / مشغل	29 سنة	سنتين	No growth
B14	المفراس الحلزوني	الجلد	ذكر / مشغل	39 سنة	سنتين	<i>Micrococcus spp.</i>
B15	المفراس الحلزوني	الأنف	ذكر / مشغل	44 سنة	3 سنوات	No growth
B16	المفراس الحلزوني	الأنف	ذكر / مشغل	34 سنة	3 سنوات	<i>Staph. epidermidis</i>
B17	المفراس الحلزوني	الجلد	أنثى / مشغل	37 سنة	سنة واحدة	No growth
B18	المفراس الحلزوني	الأنف	ذكر / مشغل	28 سنة	سنة واحدة	No growth

<i>Micrococcus spp.</i>	3 سنوات	30 سنة	ذكر / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B19
<i>Staph. epidermidis</i>	12 سنة	56 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B20
<i>Streptococcus pyogenes</i>	3 سنوات	43 سنة	ذكر / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B21
<i>E. coli</i>	4 سنوات	33 سنة	ذكر / مشغل	الإدرار	المفراس الحلزوني	B22
<i>Staph. epidermidis</i>	5 سنوات	34 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B23
No growth	سنة واحدة	43 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	المفراس الحلزوني	B24
<i>Micrococcus spp.</i>	5 سنوات	41 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B25
<i>Staph. epidermidis</i>	3 سنوات	48 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B26
No growth	سنتين	39 سنة	ذكر / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B27
<i>Micrococcus spp.</i>	سنة واحدة	36 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B28
<i>Staph. aureus</i>	4 سنوات	50 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	المفراس الحلزوني	B29
No growth	3 سنوات	30 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	المفراس الحلزوني	B30
<i>Micrococcus spp.</i>	4 سنوات	42 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B31
<i>Staph. epidermidis</i>	8 سنوات	35 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B32
No growth	سنة واحدة	26 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	المفراس الحلزوني	B33
<i>Klebsiella pneumonia</i>	سنتين	43 سنة	ذكر / مشغل	الإدرار	المفراس الحلزوني	B34
<i>Micrococcus spp.</i>	5 سنوات	40 سنة	ذكر / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B35
No growth	3 سنوات	37 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B36
<i>Staph. haemolyticus</i>	3 سنوات	45 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B37
No growth	سنة واحدة	37 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B38
<i>Streptococcus pyogenes</i>	سنتين	25 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	المفراس الحلزوني	B39
<i>Micrococcus spp.</i>	3 سنوات	38 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B40
<i>Staph. epidermidis</i>	9 سنوات	40 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B41
<i>Micrococcus spp.</i>	4 سنوات	30 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B42
No growth	سنتين	31 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B43
No growth	3 سنوات	41 سنة	ذكر / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B44
<i>Staph. haemolyticus</i>	7 سنوات	45 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	المفراس الحلزوني	B45
No growth	سنة واحدة	43 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B46
<i>Enterococcus faecalis</i>	سنتين	34 سنة	ذكر / مشغل	الإدرار	المفراس الحلزوني	B47
No growth	3 سنوات	35 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	المفراس الحلزوني	B48
<i>Micrococcus spp.</i>	3 سنوات	29 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	المفراس الحلزوني	B49
<i>Staph. haemolyticus</i>	5 سنوات	29 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	المفراس الحلزوني	B50
<i>Micrococcus spp.</i>	25 سنة	53 سنة	ذكر / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C1
<i>Staph. epidermidis</i>	12 سنة	48 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	الأشعة السينية	C2
<i>Staph. epidermidis</i>	4 سنوات	33 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C3
<i>Staph. haemolyticus</i>	3 سنوات	34 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C4
<i>Staph. epidermidis</i>	13 سنة	55 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C5
<i>Staph. haemolyticus</i>	3 سنوات	23 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C6
<i>Staphy. xylosum</i>	4 سنوات	41 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C7
No growth	سنتين	42 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C8
<i>Staph. haemolyticus</i>	6 سنوات	52 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C9
No growth	سنتين	45 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C10
<i>Staph. capitis</i>	20 سنة	45 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	الأشعة السينية	C11
<i>Staphy. xylosum</i>	5 سنوات	38 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C12
No growth	11 سنة	35 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C13
No growth	30 سنة	56 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	الأشعة السينية	C14
<i>Staph. haemolyticus</i>	23 سنة	50 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C15
<i>Staph. aureus</i>	4 سنوات	35 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C16
<i>Streptococcus pyogenes</i>	سنتين	32 سنة	ذكر / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C17
No growth	3 سنوات	31 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C18
<i>Micrococcus spp.</i>	3 سنوات	39 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	الأشعة السينية	C19
<i>Micrococcus spp.</i>	5 سنوات	41 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C20
<i>Micrococcus spp.</i>	5 سنوات	25 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C21
<i>Staph. capitis</i>	4 سنوات	29 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C22
<i>Staph. epidermidis</i>	19 سنة	45 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C23
<i>Staph. haemolyticus</i>	25 سنة	47 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C24
<i>Staph. xylosum</i>	23 سنة	45 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C25
<i>Staph. aureus</i>	7 سنوات	38 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C26
<i>Staph. capitis</i>	3 سنوات	26 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	الأشعة السينية	C27
No growth	3 سنوات	32 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	الأشعة السينية	C28
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5 سنوات	34 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C29
<i>Enterococcus faecalis</i>	3 سنوات	37 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C30
<i>Micrococcus spp.</i>	5 سنوات	48 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C31
No growth	8 سنوات	43 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	الأشعة السينية	C32
<i>Staph. epidermidis</i>	6 سنوات	45 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C33
<i>Staph. aureus</i>	7 أشهر	24 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C34
No growth	6 أشهر	25 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C35
<i>Staph. epidermidis</i>	5 سنوات	47 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C36
<i>Staph. hominis</i>	4 سنوات	26 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C37
<i>Micrococcus spp.</i>	سنة واحدة	25 سنة	أنثى / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C38
No growth	سنتين	34 سنة	أنثى / مشغل	الجلد	الأشعة السينية	C39

No growth	6 سنوات	39 سنة	ذكر / مشغل	الإدرار	الأشعة السينية	C40
No growth	11 سنة	50 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C41
No growth	9 سنوات	53 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	الأشعة السينية	C42
<i>Streptococcus pyogenes</i>	سنتين	45 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C43
No growth	15 سنة	54 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C44
<i>Staph. aureus</i>	7 سنوات	40 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C45
<i>Staph. aureus</i>	20 سنة	52 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C46
<i>Micrococcus spp.</i>	20 سنة	50 سنة	ذكر / مشغل	الأذن	الأشعة السينية	C47
<i>Staph. haemolyticus</i>	6 سنوات	31 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C48
<i>Staph. epidermidis</i>	3 سنوات	27 سنة	ذكر / مشغل	الأنف	الأشعة السينية	C49
No growth	4 سنوات	32 سنة	ذكر / مشغل	الإدرار	الأشعة السينية	C50
<i>Staph. aureus</i>	4 سنوات	41 سنة	ذكر	الجروح	حامل الأعدية	D1
<i>E. coli</i>	سنة واحدة	22 سنة	ذكر	الإدرار	حامل الأعدية	D2
<i>Pseudomonas spp.</i>	5 سنوات	32 سنة	ذكر	الجروح	حامل الأعدية	D3
<i>Staph. aureus</i>	3 سنوات	30 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D4
No growth	11 سنة	44 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D5
<i>Staph. aureus</i>	4 سنوات	21 سنة	ذكر	الإدرار	حامل الأعدية	D6
<i>Pseudomonas spp.</i>	7 سنوات	39 سنة	ذكر	الجروح	حامل الأعدية	D7
<i>Staph. xylosus</i>	3 سنوات	19 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D8
<i>Micrococcus spp.</i>	سنة واحدة	30 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D9
<i>Enterococcus faecalis</i>	3 سنوات	19 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D10
<i>Enterococcus faecalis</i>	4 سنوات	23 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D11
<i>Klebsiella pneumonia</i>	5 سنوات	33 سنة	ذكر	الإدرار	حامل الأعدية	D12
<i>Staph. epidermidis</i>	9 سنوات	40 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D13
No growth	3 سنوات	28 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D14
<i>Staph. epidermidis</i>	7 سنوات	45 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D15
No growth	3 سنوات	30 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D16
No growth	3 سنوات	38 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D17
<i>Streptococcus pyogenes</i>	5 سنوات	39 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D18
<i>Staph. xylosus</i>	3 سنوات	32 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D19
<i>Micrococcus spp.</i>	4 سنوات	35 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D20
<i>Micrococcus spp.</i>	3 سنوات	24 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D21
No growth	5 سنوات	30 سنة	ذكر	الجروح	حامل الأعدية	D22
<i>Pseudomonas spp.</i>	7 سنوات	34 سنة	ذكر	الجروح	حامل الأعدية	D23
<i>Staph. epidermidis</i>	6 سنوات	28 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D24
No growth	سنة واحدة	24 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D25
No growth	سنة واحدة	31 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D26
<i>Streptococcus pyogenes</i>	4 سنوات	29 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D27
<i>Streptococcus pyogenes</i>	11 سنة	35 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D28
<i>Pseudomonas spp.</i>	3 سنوات	30 سنة	ذكر	الجروح	حامل الأعدية	D29
<i>Staph. haemolyticus</i>	5 سنوات	27 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D30
No growth	5 سنوات	33 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D31
No growth	سنتين	24 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D32
<i>Micrococcus spp.</i>	6 سنوات	39 سنة	ذكر	الجروح	حامل الأعدية	D33
No growth	سنة واحدة	30 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D34
<i>Staph. haemolyticus</i>	3 سنوات	24 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D35
<i>Micrococcus spp.</i>	4 سنوات	29 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D36
<i>Staph. aureus</i>	10 سنوات	37 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D37
<i>Micrococcus spp.</i>	سنتين	20 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D38
<i>Staph. capitis</i>	4 سنوات	21 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D39
No growth	5 سنوات	33 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D40
No growth	3 سنوات	26 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D41
<i>Staph. haemolyticus</i>	5 سنوات	29 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D42
<i>Enterococcus faecalis</i>	6 سنوات	30 سنة	ذكر	الإدرار	حامل الأعدية	D43
No growth	3 سنوات	24 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D44
<i>Staph. haemolyticus</i>	5 سنوات	24 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D45
<i>Micrococcus spp.</i>	4 سنوات	34 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D46
<i>Staph. capitis</i>	3 سنوات	25 سنة	ذكر	الأنف	حامل الأعدية	D47
<i>Pseudomonas spp.</i>	4 سنوات	32 سنة	ذكر	الجروح	حامل الأعدية	D48
<i>Micrococcus spp.</i>	5 سنوات	30 سنة	ذكر	الجلد	حامل الأعدية	D49
<i>Staph. haemolyticus</i>	6 سنوات	26 سنة	ذكر	الأذن	حامل الأعدية	D50

ملحق 2: القائمة التوضيحية للفحوصات التي تشملها عدة API-20 Staph. التشخيصية عن الشركة المصنعة

BioMerieux

Tests	Active ingredients	Result	
		Negative	Positive
0	No substrate	Red	-
GLU	D- glucose	Red	Yellow
FRU	D-fructose		
MNE	D-mannose		
MAL	D-maltose		
LAC	D-Lactose (Bovine origin)		
TRE	D-trehalose		
MAN	D-mannitol		
XLT	Xylitol		
MEL	D-melibiose		
NIT	Potassium nitrate		
		Colorless-light pink	Red
PAL	β -naphthyl acid phosphate	ZYM A+ZYM B/ 10 min	
		Yellow	Violet
VP	Sodium pyruvate	VP 1 + VP 2/ 10 min	
		Colorless- light pink	Violet- pink
RAF	D-raffinose	Red	Yellow
XYL	D-xylose		
SAC	D-saccharose (sucrose)		
MDG	Methyl - α D-gluco pyranoside		
NAG	N-acetyl-glucosamine		
<u>ADH</u>	L-arginine	Yellow	Orange – red
<u>URE</u>	Urea	Yellow	Red- Pink

ملحق 3: المعدلات القياسية لأقطار التثبيط للمضادات الحياتية اتجاه المكورات العنقودية (CLSI, 2014)

ت	أسم المضاد	الرمز	التركيز	حساسية أكبر أو يساوي	مقاومة أقل أو يساوي
1	Amikacin	AK	10 µg	17	14
2	Amoxicillin	AX	25 µg	20	11
3	Amoxicillin - Clavulanic acid	AUG	20/10 µg	18	13
4	Ampicillin	AM	25 µg	17	13
5	Azithromycin	ATH	15 µg	18	13
6	Cefoxitin	FOX	30 µg	25	24
7	Ceftriaxone	CRO	30 µg	23	19
8	Chloramphenicol	C	30 µg	18	12
9	Ciprofloxacin	CIP	10 µg	21	15
10	Clindamycin	DA	10 µg	21	14
11	Doxycyclin	DO	30 µg	16	12
12	Gentamicin	GEN	10 µg	15	12
13	Imipenem	IPM	10 µg	23	19
14	Nitrofurantoin	NIT	30 µg	17	14
15	Oxacillin	OX	5 µg	25	24
16	Penicillin G	P	10 units	29	28
17	Rifampin	RA	5 µg	20	16
18	Tetracycline	TE	30 µg	19	14
19	Trimethoprim	TM	5 µg	16	10
20	Vancomycin	VA	30 µg	15	10

ملحق 4: فحص الحساسية الدوائية لعزلات المكورات العنقودية من مصادر عزلها المختلفة

مصدر العزلة	رمز العزلة	اسم العزلة	Amikacin	Amoxicillin	Amoxicillin - Clavulanic acid	Ampicillin	Azithromycin	Cefoxitin	Ceftriaxone	Chloramphenicol	Ciprofloxacin	Clindamycin	Doxycyclin	Gentamicin	Imipenem	Nitrofurantoin	Oxacillin	Penicillin G	Rifampin	Tetracycline	Trimethoprim	Vancomycin	
وحدة الرين المتقاطعي	A1	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	R	R	R	S	R	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
	A4	<i>Staph. epidermidis</i>	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S
	A10	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	R	S	S	S	R	S
	A14	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	R	S	R	S	S
	A17	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S
	A20	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	S	S
	A22	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S
	A24	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S
	A28	<i>Staph. epidermidis</i>	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	R	S	S
	A34	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S
	A38	<i>Staph. aureus</i>	R	R	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S
	A43	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S
	A49	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S
	وحدة العفاس الحزوني	B1	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S
B2		<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	S	S	
B3		<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	
B12		<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	
B16		<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
B20		<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	
B23		<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	
B26		<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	R	R	S	S	
B29		<i>Staph. aureus</i>	R	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
B32		<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	
B37		<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
B41		<i>Staph. epidermidis</i>	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	S	R	S	R	S	S	
B45		<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
B50		<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
وحدة الأشعة السينية	C2	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	C3	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	R	R	R	R	S	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	
	C4	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	
	C5	<i>Staph. epidermidis</i>	S	S	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	C6	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	C9	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	S	S	
	C15	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	S	R	S	S	
	C16	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	C23	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	
	C24	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	C26	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	C33	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	
	C34	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	S	
	C36	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
C45	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S		
C46	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S		
C48	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S		
C49	<i>Staph. epidermidis</i>	S	S	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S		
حامي الأبخنية	D1	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	R	S	R	R	S	S	
	D4	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	D6	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	R	R	S	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	D13	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	
	D15	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	R	S	S	R	S	R	S	R	S	S	
	D24	<i>Staph. epidermidis</i>	S	R	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	D30	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	
	D35	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	
	D37	<i>Staph. aureus</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	
	D42	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
	D45	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	
D50	<i>Staph. haemolyticus</i>	S	R	S	R	S	R	R	S	S	S	R	S	S	R	R	S	R	S	S	S		

Summary

The current study aimed to isolation and diagnosis of *Staphylococcus* spp. from different parts of the bodies of workers to both genders (male and female) in units of MRI, CAT, X-ray, as well as food-handlers, by using some phenotypic and molecular detection methods, and screening of phenetically and genetically to some virulence factors of bacteria isolates; these isolates were collected within hospitals in Al-Diwaniyah governorate from 1/11/2016 till 1/4/2017 and the total sample were 200 included on 50 samples per unit.

Bacterial isolates were diagnosed after cultivation on culture media and microscopic examination as well as its using some biochemical tests; *Staphylococcus* spp. topped the highest percentage achieved 34.50% of the total samples (200 sample), followed by *Micrococcus* spp. at 17.50%, *Streptococcus pyogenes* at 6.50%, and then followed by some bacterial species that have low percent compared to the ones mentioned, species also made of the *Staphylococcus* genus (*Staph. epidermidis*, *Staph. aureus* and *Staph. haemolyticus*) the highest frequencies in the number of isolates (57 isolates) which distributed on 23, 21 and 13 isolated respectively, as well as the diagnosis was confirmed by the API-20 Staph system, and tested all ability to produce some virulence factors, α and β -haemolysin produced of different sources of isolates and all *Staph. epidermidis* were α -haemolysin produced for 10 isolates them in the production of β -haemolysin, 19 isolates of *Staph. haemolyticus* were α -haemolysin produced and participation of 17 isolates were β -haemolysin production while 10 isolates of *Staph. aureus* produced for α -haemolysin and the remaining productive for β -haemolysin.

Bacterial isolates resistant were tested to 20 antibiotics by using the disk diffusion method which indicated that isolate sensitive to antibiotics was higher than their resistance in different areas of isolation; all isolates

were full sensitivity given to antibiotics of amikacin, amoxicillin-clavulanic acid, gentamicin, imipenem and vancomycin despite of some resistance by *Staph. aureus* of CAT, MRI units to amikacin 33.33% and 100.00%, respectively, as well as MRI unit to gentamicin by 33.33%, and all isolates were characterized with full resistance to amoxicillin, ampicillin and penicillin G antibiotics although some disparity in resistance by isolates *Staph. epidermidis*, as well as varying by source resistance isolation and bacterial species recorded by bacterial isolates to other antibiotics (azithromycin, ceftriaxone, cefoxitin, chloramphenicol, ciprofloxacin, clindamycin, doxycyclin, nitrofurantoin, oxacillin, penicillin G, rifampin, tetracycline and trimethoprim).

Staphylococcus isolates to methicillin resistant were tested consisting of 17 isolates of *Staph. epidermidis*, 15 isolates of *Staph. haemolyticus*, and 11 isolates of *Staph. aureus* resistance to methicillin. also have been screening of virulence factors where phenotypically as well as diagnosis of all isolates by 16S rRNA gene: phenotypic screening results were identical to the results of genetic screening using polymerase chain reaction (PCR) in terms of owning produced isolates to haemolysin in both type of α and β , *hla* genes encoded to produce type of α and encrypted *hlb* gene to produce type of β , methicillin resistance isolates contented on *mecA* gene encoded to resist it, as well as the β -lactamase producing isolates content on *blaZ* gene and *icaA* gene in biofilms formation isolates.

Republic of Iraq
Ministry of Higher Education and Scientific Research
University of Al-Qadisiyah/ College of Education
Department of Biology



**Bacterial and Molecular Comparative Study of
Staphylococcus Isolated from Bodies of Workers in
Units of Computerized Axial Tomography (CAT),
Magnetic Resonance Imaging (MRI) and Those Isolated
from Food-Handlers**

A Thesis

**Submitted to the Dean of College of Education / University of
Al-Qadisiyah in Partial Fulfillment of the Requirements for
Degree of Master in Biology/ Microbiology**

By

Saif Lateef Shakir

Supervised by

Asst. Prof. Ali Abd Raheem Al-Nashi

1439 A.H.

2018 A.C.