

تأثير استخدام مادتي الاكردين البرتقالي و صوديوم دودوسايل سلفيت في ازالة مقاومة جرثومة *Staphylococcus aureus* للمضادات الحيوية

عبد الرزاق خضر محمود و نوار طلال حامد

قسم علوم الحياة، كلية التربية، جامعة الموصل، الموصل، جمهورية العراق

(استلم ٢٢ / ١ / ٢٠٠٧، قبل ٢٢ / ٤ / ٢٠٠٧)

المخلص:

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص جراثيم المكورات العنقودية الموجبة لانزيم التخثر Coagulase positive المعزولة من حالات مرضية مختلفة في الانسان (الدم، التهاب المجاري البولية، القيح، التهاب الاذن، التهاب اللوزتين) فحصت مجهريا وشخصت باستخدام الفحوصات الكيموحيوية. اعطت الدراسة (١١٩) عزلة تعود لجراثيم المكورات العنقودية. كانت (٩١) منها تعود لجراثيم المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وبنسبة (٧٦,٥)% في حين كانت نسبة (٢٣,٥)% تعود للمكورات العنقودية السالبة لانزيم التخثر Coagulase negative صنفت هذه المكورات العنقودية اعتمادا على مقاومتها للمضادات الحيوية (الامبسلين، التتراسايكلين، الكلورامفنكول، الستربتومايسين، الجنتاميسين، البنسلين، التريامثريم) وكانت النتيجة خمس مجموعات من عزلات جرثومة *S. aureus* اظهرت اختلافا في المقاومة للمضادات الحيوية المدروسة. استخدمت مواد كيميائية لغرض ازالة مقاومة المضادات الحيوية للعزلات المدروسة وقد اظهرت مادة صوديوم دودوسايل سلفيت (SDS) التأثير الاكبر على اشفاء البلازميدات وبنسبة تقدر بـ ١٠٠% لاغلب المضادات المدروسة. تلتها مادة الاكردين البرتقالي (A.O). اظهرت الدراسة تفوق العزلة (٢) المعزولة من التهاب الاذن على بقية العزلات من حيث استجابتها لعمليات التحديد وكانت البلازميدات الحاملة لمورثات مقاومة مضادات الـ β -lactam اكثر تأثرا بالمواد المحيدة المستخدمة.

المقدمة:

٢. عزل طفرات مقاومة المضادات الحيوية كالبنسلين، الامبسلين، التتراسايكلين، الكلورامفينيكول، الستربتومايسين، الجنتاميسين والتريامثريم.
٣. استخدام مواد محيدة لمعرفة الطريقة الفضلى التي من خلالها يمكن استخدام هذه المحيدات في ازالة المقاومة التي تبديها الجراثيم للمضادات الحيوية وذلك من خلال تضمينها مع المضادات الحيوية مستقبلا بعد اجراء التجارب اللازمة في ذلك ولان الية عمل هذه المحيدات تعد طريقة جديدة على الكائن الحي المجهرى، وبهذا لا يستطيع التغلب عليها كما هو الحال مع المضادات الحيوية.

المواد وطرائق العمل:

جمع وتشخيص العينات:

جمعت (٣٢٠) عينة من حالات مرضية مختلفة شملت (اللوزتين، الاذن، الدم، الادرار والقيح) من مستشفى السلام العام في الموصل، حيث تم عزل (١١٩) عينة سريرية من المكورات العنقودية الذهبية تم تشخيصها من خلال تطبيق الطرائق المختبرية المعتمدة وهي: صبغة كرام، اختبار النمو على وسط اكار المانيتول حسب طريقة^(٤) واختبار انتاج انزيم Coagulase المرتبط حسب طريقة^(٥) والحر حسب طريقة^(٦) واختبار الانزيم المحلل للحامض النووي الديوكسي رايبوزي DNase حسب طريقة^(٧) واختبار فعالية انزيم الكاتاليز حسب طريقة^(٨) واختبار فعالية انزيم الاوكسيداز، اختبار تخمر السكريات واختبار تحلل الدم^(٩) واختبار اختزال النترات حسب طريقة^(٨,١٠) واختبار الاندول واختبار المثل الاحمر واخيرا اختبار فوكس بروسكور حسب طريقة. وبعد تشخيص العينات اجري عليها فحص الحساسية للمضادات الحيوية حسب طريقة^(١١) حيث استخدم (٥)

تعد مجاميع المكورات من اوسع انواع الجراثيم انتشارا في العالم وخصوصا المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* وذلك لارتباطها بمجموعة كبيرة من الالتهابات المرضية منها على سبيل المثال لا الحصر الاصابات التي تحدث في المستشفيات اذ تتراوح شدة خطورة الاصابة بهذه الجراثيم بين الاصابات المعتدلة والمميتة^(١٢).

ان من العوامل التي زادت من خطورة هذه الجراثيم هي قابليتها على افراز العديد من الانزيمات والذيفانات مما يجعلها جراثيم ممرضة تكون مصدرا لاحداث العديد من الامراض في مقدمتها الالتهابات الجلدية وما يتبعها من الامراض التي تتباين في شدتها بين الاصابات الموضعية والجهازية^(٣).

ادى الاستعمال المفرط والعشوائي للمضادات الحيوية وعلى نحو واسع الى ظهور سلالات جرثومية مقاومة لتلك المضادات ويعد هذا استجابة حتمية للضغط الانتخابي المسلط عن طريق المعالجة بهذه المضادات ومؤشرا واضحا على تطوير الجراثيم لعدة اليات مكنتها من المقاومة. ونظرا لوجود البلازميدات والتي هي عوامل وراثية لاكروموسومية في العديد من الانواع الجرثومية وما تمنحه من صفات للمضيف، فلقد اعتمدت عدة طرائق للتعرف على مواقع المورثات المسؤولة عن منح تلك الصفات كتجارب التحديد Curing وغيرها اذ ادت البلازميدات دورا مهما في تقنيات الهندسة الوراثية Genetic engineering techniques وبناءا على ما تقدم انصبت اهداف الدراسة على:

١. عزل جراثيم المكورات العنقودية الممرضة وتشخيصها من حالات مرضية مختلفة ومعرفة الجراثيم المسببة للحالات المرضية وكثير من الاخماج.

المواد المحيدة لحساب النسبة الطبيعية لفقدان DNA البلازميدي اذ لم يظهر أي فقدان للـ DNA البلازميدي في جميع مزارع السيطرة.

النتائج والمناقشة:

جمع العينات وتشخيصها:

تم جمع (٣٢٠) عينة من اصابات مرضية مختلفة من جسم الانسان المصاب شملت (اللوزتين، الاذن، الدم، الادرار، القيح) وقد اظهرت النتائج وجود (١١٩) عينة تعود الى جراثيم المكورات العنقودية التي اعطت نمو على وسط اكار المانيتول Mannitol salt agar بعد نقلها من وسط اكار الدم Blood agar في حين اهلتم تلك العينات التي لم تعطي نمو على وسط اكار المانيتول التي بلغ عددها (٢٠١) عينة.

كانت نتائج الاختبارات الشكلية والكيموحيوية التي اجريت على العزلات الجرثومية مطابقة لما ورد في انظمة التشخيص المعتمدة وكما هو موضح في الجدول (١).

انواع من المضادات الحيوية هي البنسلين والامبسلين والتتراسايكلين والكلورامفنكول والجنتاميسين والستربتومايسين والتراي مثيريم.

تحديد البلازميدات المقاومة:

تم تحييد بلازميدات المقاومة لجرثومة *S. aureus* باستخدام مادتين محيدتين منها تحييد البلازميدات باستخدام الاكريد البرتقالي.

حيث اتبعت طريقة^(١٢) واستخدم تركيزين من (A.O) هما (١٢,٥ و ٥٠) مايكروغرام/مل كما تم استخدام مادة صوديوم دودوسايل سلفيت SDS في عملية التحييد باتباع طريقة^(١٣) المحورة واستخدم تركيز (٠,٠٠٢ - ٠,٠٠٤) % من هذه المادة عند درجة تحضين ٣٧ °م كما استخدم التركيز ٠,٠٠٢ % عند درجة تحضين ٤٣ °م.

ومن الجدير بالذكر انه في كل عملية تحييد تم اخذ مزارع سيطرة Control culture من المرق المغذي غير الحاوي لاي نوع من انواع

الجدول (١): نتائج الاختبارات الكيموحيوية والفلسجية في تشخيص المكورات العنقودية

تخمير السكريات								التحلل الدموي	فكس بروسكر	المثيل الاحمر	اختبار الاندول	اختبار اختزال الفترات	انتاج انزيم اليوريز	انتاج انزيم الاوكسيديز	انتاج انزيم DNA ase	انتاج انزيم الكاتاليز	النمو على وسط المانيتول	انزيم التخبط المرتبط	انزيم التخبط الحر	صبغة كرام	الاختبارات الكيموحيوية	الانواع الجرثومية
مالتوز	مانيتول	ارابينوز	رافينوز	سكروز	فركتوز	لاكتوز	كلكتوز														Coagulase positive (<i>S. aureus</i>)	Coagulase negative
+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	d	-	+	+	+	+	+	+	+	+	
+	-	-	-	+	+	d	+	d	d	-	d	d	-	-	+	-	-	-	+	+	+	

(+) تعني موجبة للفحص، (-) تعني سالبة للاختبار، (d) تعني متغايرة الاختبار

النبيت الطبيعي للجسم Normal flora فضلا عن قابليتها على الانتشار السريع عن طريق الهواء ومقاومتها للجفاف اذ تشكل نسبة الاصابة بهذه الجراثيم حوالي ٧٠-٩٠% في حين تشكل نسبة الاصابة بالجراثيم السالبة لتخثر البلازما نسبة (٢٠-٣٠%)^(١٤).

مقاومة المضادات الحيوية:

تم اختبار حساسية ومقاومة جرثومة *S. aureus* المعزولة من مناطق مختلفة من الجسم ولسبعة انواع من المضادات الحيوية. وقد اظهرت العزلات اختلافا واضحا في حساسيتها ومقاومتها للمضادات الحيوية وكما هو مبين في الجدول (٢).

وقد اظهرت هذه الدراسة ان (٩١) عزلة تعود لجنس المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* أي بنسبة ٧٦,٥% وذلك لتشكيلها هالة تحلل شفافة تحيط بالمستعمرات عند زرعها على وسط اكار الدم مما يدل على فعالية انتاج الهيموليسين فضلا عن كونها صفة اساسية للمكورات العنقودية الذهبية المعزولة من الانسان. كما استطاعت تخمير المانيتول هوائيا فضلا عن اعطائها نتائج موجبة لانزيم تخثر البلازما Coagulase positive^(٣).

في حين اعطت النتائج ٢٨ عزلة تعود لجراثيم المكورات العنقودية السالبة لانزيم التخثر Coagulase negative ولتخمير المانيتول أي بنسبة ٢٣,٥%.

ان سبب ارتفاع نسب الاصابة بالجراثيم الموجبة لانزيم التخثر *S. aureus* مقارنة بالجراثيم السالبة لانزيم التخثر قد يعزى الى كونها تشكل جزءا من

الجدول (٢): مصادر عزلات جرثومة *S. aureus* ومقاومتها للمضادات الحيوية المستخدمة

اوساط الاكار المغذي الحاوي للتركيز النهائية للمضادات الحيوية مايكروغرام/مل							مصدر العزلة	رقم العزلة
الجنتاميسين	البنسلين	التراي مثيريم	الستربتومايسين	الكلورامفينيكول	النتراسايكلين	الامبسيلين		
٣	١٠	١٠	٢٥	١٠	١٥	٥٠	اللوزتين	١
S	S	R	S	R	S	S	الاذن	٢
S	R	R	R	R	R	R	القيح	٣
R	R	R	R	S	S	R	الدم	٤
S	R	R	S	R	S	R	الادرار	٥
S	R	R	S	R	R	R		

تشير S الى صفة الحساسية للمضاد الحيوي، R الى صفة المقاومة للمضاد الحيوي

مقاومة المضادات الحيوية يرجع الى امتلاك الجراثيم مورثات واقعة على الكروموسوم او على البلازميد والتي تمنحها هذه الصفة. وقد تم التأكد من صفة المقاومة للمضادات الحيوية المستخدمة بحساب عدد المستعمرات النامية على وسط المضادات الحيوية ولجميع السلالات وكما هو مبين في الجدول (٣).

من الجدول يتبين ان العزلات التي تعود لجرثومة *S. aureus* تظهر تباينا في المقاومة والحساسية للمضادات الحيوية المدروسة وبناء على ذلك فقد تم وضعها في خمس مجموعات اذ تظهر النتائج ان هناك عزلات مقاومة لمضادين حيويين كما في العزلة (١) وهناك عزلات اخرى مقاومة لاكثر من مضاد حيوي Multiple drug resistance. ان التباين في خاصية

الجدول (٣): عدد المستعمرات لجرثومة *S. aureus* النامية على اوساط المضادات الحيوية ووسط الاكار المغذي في امل من المزرعة الجرثومية

عدد المستعمرات الجرثومية النامية على وسط الاكار المغذي الحاوي للتركيز النهائية للمضادات الحيوية مايكروغرام/مل							عدد المستعمرات النامية على وسط الاكار المغذي	رقم العزلة
الجنتاميسين	البنسلين	التراي مثيريم	الستربتومايسين	الكلورامفينيكول	النتراسايكلين	الامبسيلين		
٣	١٠	١٠	٢٥	١٠	١٥	٥٠	$10^{16} \times 76$	١
0	0	$10^{12} \times 13$	0	$10^{12} \times 5.6$	0	0	$10^{16} \times 63$	٢
0	$10^{10} \times 5.9$	$10^{10} \times 4$	$10^{10} \times 40$	$10^9 \times 7.2$	$10^9 \times 1.6$	$10^{10} \times 4.2$	$10^{16} \times 87$	٣
$10^9 \times 1.1$	$10^9 \times 13$	$10^9 \times 60$	$10^9 \times 4$	0	0	$10^{12} \times 1.4$	$10^{16} \times 4$	٤
0	$10^{12} \times 67$	$10^9 \times 7.6$	0	$10^9 \times 5$	0	$10^{12} \times 2.9$	$10^{16} \times 83$	٥
0	$10^9 \times 3.5$	$10^{12} \times 1.4$	0	$10^{12} \times 41$	$10^{12} \times 53$	$10^{12} \times 3.1$		

المدروسة تظهر تحبيدا تلقائيا واضحا او انها لا تمتلك طفرات في مورثاتها تمنحها هذه الصفة.

تحديد البلازميدات:

بهدف التعرف على محددات المقاومة للمضادات الحيوية من كونها بلازميدية او كروموسومية فقد تمت ازالة البلازميدات من العزلات قيد الدراسة باستخدام مادتين من العوامل المحيدة والتي منها استخدام المطفر الكيميائي الاكريدن البرتقالي (A.O) ومادة الـ (SDS) لمعرفة تأثير هذه المواد على حساسية الجراثيم ومقاومتها للمضادات الحيوية وكما هو مبين في الجدول الاتي: نتائج الاشفاء بوساطة الاكريدن البرتقالي (A.O).

الجدول (٣) يبين ان هناك اختلافا ملحوظا في عدد المستعمرات الجرثومية للعزلات المختلفة من حيث نموها على وسط الاكار المغذي ووسط المضادات الحيوية ذلك ان عدد المستعمرات الجرثومية النامية على وسط الاكار المغذي كانت واقعة ضمن المدى (10^{16}) في حين تباين على اوساط المضادات الحيوية بمدى يتراوح ما بين (10^9 - 10^{12}) وهذا يعني عدم امتلاك جميع المستعمرات الجرثومية لهذه العزلات القابلية على النمو على وسط المضادات اذ انها تفتقر الى المقاومة لهذه المضادات او انها فقدت او حيدت مقاومتها تلقائيا. وهذا ما يؤكد على ان عزلات *S. aureus*

الجدول (٤): ازالة المقاومة للمضادات الحيوية في عزلات *S. aureus* بواسطة المعاملة بالاكريدين البرتقالي (A.O)

رقم العزلة	تركيز الـ A.O مايكروغرام/مل	عدد المستعمرات النامية على وسط الاكار المغذي	خصائص الانعزال مقاومة او حساسة لـ			
			الامبسيلين	النتراسايكلين	الكلورامفينيكول	الستربتوميسين
١	١٢,٥ ٥٠	$10^{10} \times 34$ $10^8 \times 86$	-	-	96% R	٢٥
٢	١٢,٥ ٥٠	$10^6 \times 3$ $10^7 \times 16$	20% R	100% 84%	45% R	100 80
٣	١٢,٥ ٥٠	$10^9 \times 11$ $10^9 \times 4$	80% R	-	-	R 76%
٤	١٢,٥ ٥٠	$10^7 \times 4$ $10^7 \times 35$	100% R	-	100% 76%	-
٥	١٢,٥ ٥٠	$10^{10} \times 48$ $10^9 \times 29$	80% R	R R	R R	-

R تعني مقاومة للمضاد الحيوي، الارقام المسجلة تعني حساسة للمضاد الحيوي

الستربتوميسين والجنتاميسين. وقد يكون لعدد من العوامل كالحالة التي يوجد بها DNA البلازميدي وعدد نسخه فضلا عن نفاذية الغشاء الخلوي للجراثيم دور في هذا التباين. كما ان شان التراكيز العالية من هذه الصبغة ان تجعل الية عمل الاكريدين البرتقالي في تثبيطه لجزيئات الـ DNA البلازميدي عشوائية، في حين يبقى الكروموسوم مستمرا في عملية تضاعفه ليخلق نوعا من التباين بين العزلات^(١٨-١٦).

اما فيما يتعلق بالمضادات الحيوية الكلورامفينيكول والامبسيلين والبنسلين فقد تباينت العزلات الجرثومية من حيث مقاومتها لهذه المضادات بعد عملية الاشفاء اذ اظهر التركيز $12.5 \mu/ml$ من هذه الصبغة شفاء واضع لاغلب بلازميدات العزلات الجرثومية، فقد تراوحت نسبة الاشفاء للامبسيلين (٢٠-١٠٠)% وللبنسلين (٦٤-١٠٠)% والكلورامفينيكول (٤٥-١٠٠)%. لذا يعتمد تأثير المواد المحيطة التي منها الاكريدين البرتقالي على عدة عوامل منها ما يتعلق بالخلية الجرثومية ومنها ما يتعلق بعوامل بيئية اخرى كدرجة التحضين والرقم الهيدروجيني وتركيز صبغة الاكريدين^(٢٠).

يعد الـ SDS من المواد المحيطة اذ تظهر نتائج التحديد باستخدام هذه المادة اختلافا ملحوظا في حساسية العزلات للمضادات التي كانت مقاومة لها. فقد لوحظ ان زيادة تركيز مادة SDS من شانها ان تزيل معظم بلازميدات العزلات ومن هذا نستنتج ان عزلات جرثومة *S. aureus* تمتلك انماطا وراثية مختلفة في استجابتها للـ SDS ويحدث هذا الاختلاف بين العزلات وذلك من ناحية ظهور التباين الواضح في المقاومة والحساسية وهذا ما اظهره الجدول (٥). ويلحظ من نتائج الجدول فشل اغلب العزلات في شفاؤها من البلازميدات العائدة لها عند تركيز ٠,٠٠٢% من الـ SDS في حين كان لدرجة الحرارة تأثير ملحوظ في عملية تحييد العزلات الجرثومية المعاملة بالـ SDS عند التركيز ذاته وهو ٠,٠٠٢% اذ سجلت العزلة (٢) والمعزولة من التهاب الاذن اعلى نسبة اشفاء من مقاومة الامبسيلين والكلورامفينيكول والستربتوميسين ونسبة ١٠٠% و ٦٥% للبنسلين وهذا

من الجدول (٤) يتبين ان عند معاملة جرثومة *S. aureus* بمادة الاكريدين البرتقالي فان العزلات الجرثومة اظهرت اختلافا ملحوظا في حساسيتها للمضادات الحيوية المستخدمة. اذ نلاحظ ان جميع العزلات المعاملة بالـ (A.O) وبالتراكيز $12.5 \mu/ml$ و $50 \mu/ml$ بقيت محتقظة بمقاومتها للمضاد الحيوي التري مثيرم ولعل ذلك يدل على ان المورث المقاوم لهذا المضاد واقع على الكروموسوم وانه غير متأثر بهذه المعاملة لان الية عمل الاكريدين البرتقالي هو تثبيط عملية تضاعف البلازميد حسب ولا يعمل على الكروموسوم.

ان التقارب في قيم عدد المستعمرات المعاملة بالصبغة المحيطة من حيث شفاؤها من البلازميد قد يزودنا بمعلومة مفادها ان المورثات المقاومة للمضادات الحيوية تقع على جزيئة بلازميد واحدة وهذا ما اظهرته العزلة (٤)، ذلك ان نسبة اشفاء البلازميد لمقاومة البنسلين والامبسيلين والكلورامفينيكول هي ١٠٠%.

ان التباين الواضح لبقية العزلات بعد عملية تحييدها من حيث مقاومتها للمضادات الحيوية قد يقودنا الى استنتاج مفاده ان البلازميد الذي يحمل المقاومة للمضادات الحيوية والذي هو من نوع R-plasmid قد يكون على هيئة جزئيتين وكل جزيئة منهما تحمل مورثات مسؤولة عن المقاومة للمضادات الحيوية وتختلف هذه الجزيئات من حيث حساسيتها لهذه المواد المحيطة.

ومن ملاحظة الجدول (٤) يظهر ان عدد من العزلات قد بقيت محافظة على مقاومتها للمضادات الحيوية عند زيادة تركيز صبغة الاكريدين كما في العزلة (١، ٥) وهذا يتفق مع ما استنتجته^(١٥) بشأن استخدام الاكريدين في عملية اشفاء البلازميدات، اذ ذكر ان استخدام التراكيز العالية من هذه الصبغة لا يكون لها تأثير على فقدان البلازميدات لصفة مقاومة المضادات الحيوية غير ان عدد من العزلات عند معاملتها بتراكيز عالية من هذه الصبغات قد اصبح تحييدها واضحا فيما يتعلق بمقاومة المضادات الحيوية

ينفق مع^(١٣) في ما ذكره من كون الـ SDS بتركيز ٠,٠٠٢% مع الحرارة المرتفعة يؤدي الى اشفاء بلازميدات جرثومة *S. aureus* من مقاومتها للمضادات الحيوية ونسبة (٩٦-١٠٠)% اما بقية العزلات الجرثومية فقد تباينت من حيث مقاومتها للمضادات الحيوية.

الجدول (٥): ازالة المقاومة للمضادات الحيوية لجرثومة *S. aureus* باستخدام مادة SDS

رقم العزلة	تركيز الـ SDS (µg/ml)	درجة التحضين (م°)	خصائص الانعزال مقاومة او حساسة لـ							
			عدد المستعمرات النامية على وسط الاكار المغذي (خلية/مل)	الاميسيلين	النتراسايكلين	الكلورامفينيكول	الستريتومايسين	التراي مثيريم	البنسلين	الجنتاميسين
١	0.002	37	$10^{12} \times 7$	-	-	R	-	R	-	-
	0.002	43	$10^{13} \times 33$	-	-	55%	-	R	-	-
	0.004	37	$10^{12} \times 28$	-	-	100%	-	R	-	-
٢	0.002	37	$10^{13} \times 22$	R	38%	R	22%	R	R	R
	0.002	43	$10^{13} \times 6$	100%	100%	100%	100%	R	R	65%
	0.004	37	$10^{13} \times 11$	55%	100%	R	100%	R	R	65%
٣	0.002	37	$10^{12} \times 30$	R	-	-	R	R	R	R
	0.002	43	$10^{12} \times 7$	100%	-	-	-	R	R	R
	0.004	37	$10^{13} \times 20$	100%	-	-	100%	R	R	100%
٤	0.002	37	$10^{12} \times 25$	R	-	R	-	R	R	R
	0.002	43	$10^{12} \times 90$	20%	-	R	-	R	R	R
	0.004	37	$10^{12} \times 13$	35%	-	35%	-	R	R	10%
٥	0.002	37	$10^{14} \times 15$	22%	R	R	-	R	R	22%
	0.002	43	$10^{14} \times 69$	100%	R	R	-	R	R	50%
	0.004	37	$10^{14} \times 12$	100%	R	R	-	R	R	80%

R تعني مقاومة للمضاد الحيوي، الارقام المسجلة تعني حساسة للمضاد الحيوي

للبلازميدات اذ يعمل على الاتحاد مع تراكيب سطحية تعمل بوصفها هدفا للمادة التي يمكن ان تكون (الشعيرات الجنسية) في الخلية الذكرية فتعمل على تمزيق الغشاء الخلوي ثم التأثير على البلازميدات المرتبطة بها^(٢٠) علما ان مقاومة المضاد الحيوي التري مثيريم بقيت كما هي عندما استخدم . A.O

ان زيادة تركيز SDS قد احدث اشفاء من البلازميدات بنسبة اعلى من الحالتين السابقتين وقد كان تأثيره واضحا فيما يخص جزيئات البلازميدات الحاملة المقاومة لمعظم المضادات الحيوية المستخدمة. اذ كانت اعلى نسبة تحييد في العزلة (٣) في حين كان فعالا في العزلات (٢) و (٤) و (٥) و (١) على التوالي وبهذا نتفق مع ما توصلت اليه^(١٩) من ان زيادة تركيز SDS بنسبة اعلى من ٠,٠٠٢ من شأنه ان يزيد من عملية تحييد البلازميدات. وقد يعزى السبب في تحول العزلات من مقاومة الى حساسة للمضادات الحيوية الى الية عمل الـ SDS في الخلايا الحاملة

المصادر :

12. Harmon, S.A. and Baldwin, J.N. (1964). Nature of the determinant controlling penicillinase production in *Staphylococcus aureus*. J. Bacteriol., 87: 593-597.
13. Sonstein, S.A and Baldwin, J.N. (1972). Nature of the elimination of the penicillinase plasmid from *Staphylococcus aureus* by surface-active agents. J. Bacteriol., 111:152-155.
14. Braunwald, E.; Isselbacher, K.J.; Petersdorf, F.R.G.; Wilson, J.D.; Martin, J.B. and Fauci, A.S. (1987). Principles of internal medicine, 11th ed. McGraw-Hill Book Company. New York, Inc., PP 537-540.
15. Grindley, J.N.; Grindely, N.D.F. and Anderson, E.S. (1970). Acridine treatment of F⁺ and HFr strains of *Escherichia coli* K12 bearing an eomycin-kanamycin resistance determinant. Genet. Res. Camb. 15:327-334.
16. Stouthamer, A.H.; Dehaan, P.G. and Bulten, E.J. (1963). Kinetics of F-curing acridine orange in relation to the number of F-particles in *Escherichia coli*. Genet. Res. Camb., 4: 305-317.
17. Jacob, F.; Brenner, S. and Cuzine, F. (1963). On the regulation of DNA replication in bacteria. Cold spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, 28:329-348.
18. Hirota, Y. (1960). The effect of acridine dyes on mating type factors in *Escherichia coli*. Proc. Natl. Acad. Sci. Washington, 46:57-64.
١٩. يوسف، سامرة يونس؛ كاظم، شروق ريس والباقر، علاء يحيى (٢٠٠٠). تأثير المضادات الحيوية على انتاج بروتين A الخارجي من العنقوديات الذهبية المقاومة للمشيلين المعزولة محليا. مجلة ابحاث التقنية الحيوية، المجلد الثاني، العدد (١)، ص٥-١٥.
20. Salisburg, V. ; Hedges, R.W. and Datta, N. (1972). Two modes of a "Curing" transmissible bacterial plasmids. J. Gene. Microbiol., 70: 443-452.
1. Bradley, S.F. (1999). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Long-term care concerns. Am. J. Med., 106: 2S-10S.
2. Herwaldt, L.A. (1999). Control of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* in the Hospital Setting. Am. J. Med., 106:115-185.
3. Jensen, M.M. and Wright, D.N. (1989). Introduction to Microbiology for the Health Science. Prentice Hall International, USA.
4. Koneman, E.W.; Alien, S.D.; Janda, W.M.; Schreckenberger, P.C. and Winn, W.C.W. (1997). Color Atlas and text Book of diagnostic microbiology. 5th ed. J. B. Lippincott-Raben publishers, Philadelphia, PP. 539-566.
5. Finegold, S.M.; Martin, W.J. and Scott, E.G. (1978). Diagnostic Microbiology. 5th ed. C.V. Mosby Co., London. PP.123-130.
6. Howard, B.J.; Klaas, J.; Rubin, S.J.; Weissfeld, A. and Tilton, R.C. (1987). Clinical and pathogenic microbiology. The C.V. Mosby Company St. Louis. PP. 231-345.
7. Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P. and Simmons, A. (1996). Mackie & McCartney, "Practical Medical Microbiolog". 14th ed. Churchill Livingstone Inc., New York. PP. 245-260.
8. Atlas, R.M.; Brown, A.E. and Parks, L.C. (1995). Laboratory Manual, Experimental microbiology. Mosby-Year Book, Inc., PP.87-95.
9. Cruickshank, R.; Duguid, J.P.; Marmion, B.P. and Swain, R.H.A. (1975). Medical Microbiology. Vol. 2. The practice of microbiology. 12th ed. Churchill, Livingstone, Edinburgh.
10. Prescott, L.M.; Harley, J.P. and Klein, D.A. (1996). Microbiology, 3rd ed. W.M.C. Brown. Publishers, London, Chicago.
11. Macfaddin, J.F.M. (1985). Biochemical test for identification of medical bacteria. Williams & Willkins. Baltimore, U.S.A.

Abstract:

This study has involved the isolation of staphylococci bacteria (coagulase positive) from different clinical human sources of infections (blood, urine, pus, otitis, tonsils). These bacteria were diagnosed by using microscopic examination and the biochemical tests.

Out of (119) isolates of staphylococci samples, (91) of them are related to *S. aureus* with percentage (76.5)% while the percentage (23.5)% represented the coagulase negative bacteria.

These isolates of *S. aureus* was classified according to their resistance to the antibiotics (Ampicillin, Tetracycline, Chloramphenicol, Streptomycin, Gentamicin, Penicillin and Trimethoprium), as a result, there are five groups of isolates showing variation in their resistance to the antibiotic understudy.

The two chemical materials are used to eliminate the antibiotics resistance of bacterial isolates understudy sodium dodecyl sulfate (SDS) appear to have high effectiveness in curing the plasmid DNA (nearly 100%) for most antibiotics then the dye acridine orange (A.O).

The isolates (2) of bacteria from (obtitis abscess) show efficient respond for elimination their antibiotic resistance by the two chemical materials as it is compared with other isolates.

β -lactam plasmid of the isolates bacteria appear to be more affected resistance in curing experiments.

