

دراسة بعض عوامل الضراوة لبكتريا *Staphylococcus aureus* المعزولة من التهابات الجروح والحروق في مدينة سامراء وتقييم حساسيتها للمضادات الحيوية

أحمد عبدالباري عبد الواحد السامرائي^{1*}، نهاد عبد الحسين جعفر²

1- قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة تكريت (ahmedabdulbariabdulwahid@gmail.com)

2- كلية الطب البيطري، جامعة تكريت (nihadabid73@tu.edu.iq)

البحث مستل من رسالة ماجستير الباحث الاول

الخلاصة:

معلومات البحث:

تم اجراء هذه الدراسة بهدف عزل وتشخيص المكورات العنقودية الذهبية المسببة لالتهابات الجروح والحروق في مدينة سامراء حيث شملت الدراسة الحالية جمع 110 مسحة من المرضى الراقدين في مستشفى سامراء العام وبعض العيادات الطبية الخاصة في مدينة سامراء من المرضى المصابين بأخماج الجروح والحروق، ولكلا الجنسين، وبأعمار مختلفة، وقد تم الحصول على 16 عزلة بنسبة عزل 14.54% من هذه البكتريا من المراجعين في القسم الاستشاري وردهة الطوارئ، وردهة العمليات، وردهة الباطنية، وردهة النسائية والولادة، وردهة الاطفال وشعبة الضماد، في المستشفى.

تأريخ الاستلام: 2021/07/25

تأريخ القبول: 2021/08/30

الكلمات المفتاحية:

المكورات العنقودية الذهبية، عوامل الضراوة، عزل وتشخيص، التهابات الجروح والحروق، المضادات الحيوية.

تم اجراء اختبار الحساسية لـ (12) مضاداً حيويماً حيث بينت النتائج أن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية أبدت مقاومة تامة وبنسبة 100% تجاه المضادات الاتية Erythromycin, Ceftriaxone, Aztreonam, وحساسية تامة تجاه المضادات Levofloxacin, Imepineme, Ciprofloxacin, Amikacin ومقاومة متفاوتة بالنسبة لباقي المضادات.

تم التحري عن بعض عوامل الضراوة لهذه العزلات البكتيرية قيد الدراسة حيث انتجت بكتريا المكورات العنقودية الذهبية بعض عوامل الضراوة المدروسة كالاتي:- DNase بنسبة 81.25% , Hemolysin بنسبة 87.5% , Coagulase بنسبة 100% , Lecithinase&Lipase بنسبة 62.5% , Urease بنسبة 81.25% .

المقدمة:

يُعد جلد الانسان الطبقة التي تفصل كل ما في داخل الجسم من اعضاء وانسجة داخلية وسوائل جسمية عن البيئة الخارجية فضلاً عن عمله الرئيس بوصفه حاجزاً ميكانيكياً في النظام المناعي واشترائه في وظيفة الحس العصبي وكذلك يقوم أيضاً بالحفاظ على التوازن المائي للجسم، بمعنى إن اي خرق لطبقات سطح الجلد بسبب جرح أو حرق سوف يؤدي ذلك إلى الإخلال بآلية عمل الجلد والسماح بمرور الاحياء المجهرية الى الأنسجة الداخلية والدم، وبهذا سوف تتوفر لها بيئة مناسبة رطبة وغنية بالبروتينات التي تساعدها في النمو [1].

إن من أهم التطورات التي أدخلت للعلوم الطبية في القرن العشرين هي دخول الأدوية المضادة للبكتريا drugs Antibacterial ونتج عن استخدام تلك الادوية في بداية ظهورها التقليل من الوفيات الناتجة عن الاصابات الجرثومية وتمت السيطرة على أغلب الإصابات الظاهرة في حينها [2]. إن زيادة معدلات الإصابة بها لم تكن بسبب مقاومتها للمضادات الحيوية

فحسب ، وانما لامتلاكها العديد من عوامل الضراوة التي تزيد من شدة أمراضيتها ومن أمثلتها أنزيمات البيتا لاكمينز واليوريز واللايبيز والليسيثينز والهيمولايسين وكذلك انزيمات التجلط والانزيمات المحللة للأحماض النووية وغيرها [3] .

المكورات العنقودية الذهبية : *Staphylococcus aureus* هي بكتريا موجبة لصبغة كرام، غير متحركة، وغير منتجة للسبورات، وبعض سلالاتها مكونة للمحفظة، هوائية اختيارية، موجبة لاختبار الكاتاليز والكواكغوليز وسالبة للأوكسيديز، وغالبا ما تترتب هذه البكتريا بشكل تجمعات غير منتظمة تشبه عنقيد العنب grape-like، مخمرة للعديد من السكريات كالسكروز والمالتوز والمانيتول وان هذه البكتريا تعتبر من أهم الانواع السريرية التابعة لبكتريا المكورات العنقودية للإنسان وذلك لكونها السبب في عدد من الامراض، فهي انتهائية موجودة على الجلد والأغشية المخاطية للمضيف بصورة طبيعية، وعند توافر الظروف الملائمة لها، ومنها حدوث أي ضرر في طبقة الجلد، أو وجود أمراض مزمنة ومنها مرض السكري ومتلازمة نقص المناعة المكتسبة فإنها سوف تصيب الشخص الحامل لها بأمراض كثيرة [4].

إن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية اكتسبت مقاومة لعدد من المضادات الحيوية، وقد تصل مقاومتها لحوالي 20 مضاداً وبالتالي فإن المرضى الراقدين في ردهات الحروق وصلات العمليات في المستشفيات الذين تكون آلية دفاعات أجسامهم ضعيفة يكونون عرضة للإصابة بهذه البكتريا [5].

المواد وطرائق العمل

شخصت العزلات قيد الدراسة من خلال تنميتها على الاوساط الزرعية الآتية (Blood Agar , MacConkey agar , Mannitol Salt Agar) حيث انها تنمو على وسط Blood Agar و Mannitol Salt Agar ولا تنمو على MacConkey agar وتم ملاحظة صفاتها المظهرية على الاوساط مثل لون الخلايا وحجمها وشكلها، وملاحظة اصطباجها بصبغة كرام، وطرق ترتيبها تحت المجهر، وبعدها تم اخضاع العزلات للعديد من الاختبارات الكيموحيوية وحسب ما موضح في الجداول (1) وتسجيل نتائج الاختبارات لمقارنتها لاحقا بالمراجع المعتمدة لتمييز كل عزلة، وتم تأكيد التشخيص باستعمال نظام (API STAPH) ، وكما مبين في الصور المرفقة ضمن النتائج والتي تخص التشخيص الكيموحيوي باستخدام نظام API. حيث تم استخدام نظام التشخيص API Staph للتأكد من التشخيص النهائي للبكتريا ووصولاً إلى تحديد النوع، إذ يمتاز هذا النظام بأنه يشخص الجرثومة خلال 24 ساعة ويعطي تشخيصاً دقيقاً للعزلة النقية على أن لا تكون ملوثة بالجراثيم الأخرى، حيث تم استخدام هذا النظام للتأكد من نقاوة عزلات المكورات العنقودية الذهبية .

التشخيص الكيموحيوي للمكورات العنقودية باستخدام (API Staph System)

يتألف نظام التشخيص API من شريط حاوٍ على 19 فحص تكون في أنابيب دقيقة مفردة لتفسير الفحوصات والتي تشملها عدة التشخيص حسب ما ورد عن الشركة المصنعة (Bio Merieux) [6]. وكما يأتي:

1- تحضير العالق البكتيري (اللقاح) Bacterial Suspension .

يتم تحضير مستنبت ثانوي subculture بزرع العزلات على وسط أكار الدم وحضنها لمدة 24 ساعة في 37 درجة مئوية وبعد التأكد من نقاوة العزلة الجرثومية يتم فتح القنينة الحاوية على وسط التشخيص API بصورة معقمة ثم عمل محلول متجانس للعالق البكتيري مع الوسط المذكور ومقارنة المحلول مع محلول ثابت العكورة القياسي ماكفرلاند للتأكد من كثافة العالق البكتيري.

2- تلقح الشريط Inoculation of the strip

تملأ الأنابيب الدقيقة في الشريط بوسط التشخيص المذكور والمحضر أعلاه بوساطة ماصة باستور المعقمة وتملأ الأنابيب URE, ADH بالزيت المعدني لتوفير الظروف اللاهوائية ويتم تحضير الشريط لمدة 24 ساعة في 37 درجة مئوية.

3- قراءة الشريط Reading of the strip

يتم قراءة الشريط وحسب الجدول الخاص به بعد أن يتم إضافة الكواشف الآتية:

أ- كاشفا الفوكس بروسكاور VP.

يشمل إضافة قطرة من الكاشف VP1 وقطرة من الكاشف VP2 ويترك لمدة 10 دقائق ويعد التفاعل موجبا بظهور اللون البنفسجي الوردي.

ب- كاشفا اختزال النترات NIT.

يشمل إضافة قطرة من الكاشف NIT1 ثم قطرة الكاشف NIT2 وظهور اللون الأحمر دلالة على كون التفاعل موجب.

ج- كاشفا الفوسفاتيز القاعدي PAL.

يشمل إضافة قطرة واحدة من كل من كاشفي ZYMA , ZYMB , ويترك لمدة 10 دقائق وظهور اللون البنفسجي دلالة على ايجابية التفاعل.

4- التشخيص Identification

يتم تشخيص الشريط بعد قراءة النتائج وحسب المرفق للنظام و يتم تحويل هذه النتائج إلى أرقام حيث تقارن مع الأرقام الموجودة في الفهرست المجهز من الشركة المصنعة وان كل شريط يحتوي على 7 مجموعات وكل مجموعة تحتوي على ثلاثة أرقام هي 1,2,4 ولكل فحص موجب يعطى له الرقم نفسه الموجود على الحفرة أما في حالة الفحص السالب فلا يعطى له رقم ويسجل له 0 ثم تجمع الأرقام على حدة لكل مجموعة ويؤخذ المجموع ويسجل أسفل الحفرة وفي النتيجة النهائية يتكون لدينا 7 أرقام وهذه الأرقام هي التي تقارن مع الفهرست لتعطي اسم الجنس والنوع للبكتريا. اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

تم اجراء اختبار الحساسية لجميع العزلات تجاه 12 من المضادات الحيوية شائعة الاستعمال واستعملت طريقة الانتشار Diffusion Method الموضحة من قبل Kirby Bauer، وذلك باستخدام وسط الـ Muller-Hinton Agar [7]. وتم تحديد مقاومة العزلات قيد الدراسة للمضادات الحيوية بالاعتماد على قياس قطر منطقة التثبيط بواسطة جهاز interscience Scan4000 ووفقاً لما ورد في [8]. وعلى النحو الآتي:

تم تحضير المعلق البكتيري بنقل 1-2 مستعمرة حديثة للبكتريا الى انبوبة تحوي 5 مل من Normal saline، وعلق حتى أصبحت كثافة المحلول بمقدار كثافة محلول ماکفرلانند 0.5 الذي عكوره تساوي 1.5×810 خلية/مل، وغمرت بعدها مسحة قطنية معقمة Swab في العالق ويضغط بالمسحة القطنية على جوانب الانبوب لتقليل من محتوى الوسط، ومررت عدة مرات على سطح وسط Muller-Hinton Agar المحضر مسبقاً وترك الوسط ليحفظ مدة 4-5 دقائق، وبعدها وزعت أقراص المضادات الحيوية بواسطة ملقط معدني معقم على سطح الوسط مع الضغط الخفيف لتثبيت القرص بالوسط، ويواقع 6 اقراص لكل طبق، وحضنت الاطباق في الحاضنة لمدة 24 ساعة عند درجة حرارة 37 درجة مئوية، وتمت قراءة النتائج عن طريق قياس قطر منطقة التثبيط حول كل قرص بالملح باستعمال المسطرة، وتمت مقارنة النتائج مع القياسات العالمية الموضوعه من قبل معهد الابحاث المختبرية والسريية [8].

تم التحري عن انتاج هذه العزلات لبعض عوامل الضراوة خارج الجسم وذلك من خلال الاستعانة ببعض الأوساط الانتخابية للتعرف على قدرة العزلات البكتيرية على إنتاج بعض عوامل الضراوة والقدرة على تحليل بعض المواد الموجودة في هذه الأوساط وكالاتي:

1- التحري عن انتاج الانزيم المحلل للدنا DNase test:

تم تلقيح وسط DNase agar المجهز من شركة Oxoid بالمستعمرات البكتيرية، حيث تم تحضين الاطباق لمدة 24 ساعة في درجة 37م وبعد التحضين تم اضافة قطرات من محلول HCL 1N وان ظهور الهالة الشفافة حول المستعمرات دليل على ايجابية الفحص [9].

2- التحري عن انتاج الانزيم المحلل للدم Blood hemolysin test:

تم تلقيح وسط اكار الدم بالمستعمرات البكتيرية ثم تم تحضين الاطباق لمدة 24 ساعة بدرجة 37م وسجلت النتيجة الموجبة عند حدوث تحلل حول المستعمرات النامية (هالة شفافة) نتيجة تحلل كريات الدم الحمراء [9].

3- التحري عن انتاج انزيم اليوريز Urease test :

تم تلقيح وسط مائل اكار اليوريا بالمستعمرات البكتيرية وذلك عن طريق التخطيط والطعن ثم تم تحضين الانابيب لمدة 24 ساعة وبدرجة 37 مئوية، وان النتيجة الموجبة هي تغير لون الوسط من الاصفر الى الوردى نتيجة انتاج انزيم اليوريز الذي يحلل اليوريا الى امونيا وغاز CO2 [9].

4- التحري عن انتاج انزيم اللسيثينيز واللايبيز Lecithinase and Lipase:

تم في هذا الاختبار زرع وسط Egg yolk agar بالعزلات البكتيرية للتحري عن انزيم اللسيثينيز واللايبيز وبعد الزرع والتحضين لمدة 24 ساعة وبدرجة 37 مئوية تظهر منطقة رائحة حول المستعمرات دليل على انتاج انزيم اللسيثينيز، ثم يتم غمر الطبق بكمية كافية من محلول مشبع بكريتات النحاس المائية CuSo4 لمدة 15-20 دقيقة ويتم ازالة الفائض من الطبق ويجفف الطبق بالحاضنة لمدة 30 دقيقة او اقل فظهر اللون الداكن دليلا على تحلل الدهن بواسطة انزيم اللايبيز [10].

5- التحري عن انتاج أنزيم تجلط البلازما Coagulase: تم اجراء هذا الاختبار بطريقتين وكما ورد في [11].

أ- طريقة الشريحة الزجاجية (السريعة) Slide Method :

توضع على الشريحة الزجاجية النظيفة قطرة واحدة من بلازما دم الانسان وفي الجهة المجاورة وضعت قطرة واحدة من المحلول الملحي المعقم Normal Saline ثم اخذ جزء من المستعمرة الجرثومية وخلطت مع قطرة البلازما وقطرة المحلول

الملحي الفسلجي المعقم، حركة الشريحة الزجاجية جيداً وبرفق لمشاهدة عملية تجلط البلازما والنتيجة الموجبة كانت من خلال ظهور التلازن خلال 1-2 دقيقة في قطرة البلازما وعدم ظهوره في قطرة المحلول الملحي وتعتمد هذه الطريقة للتحري عن أنزيم التجلط المرتبط Bond Coagulase او عامل التلازن Clumping Factor [12].

ب- طريقة الانبوب Tube method :

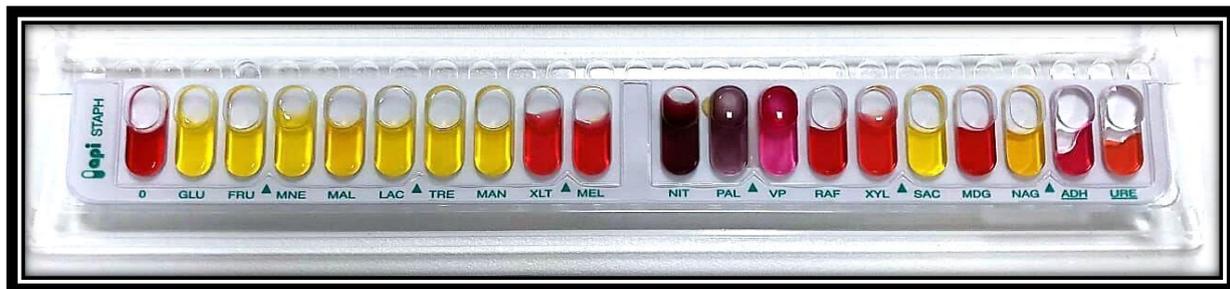
تم مزج 0.5 مللتر من بلازما دم الانسان مع 0.5 مللتر من المزروع البكتيري السائل الذي تم تنميته مسبقاً في درجة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة في انبوبة اختبار نظيفة معقمة وبعد التحضين ضع في الحاضنة لمدة ساعتين في 37 درجة مئوية لوحظ التجلط الحاصل للبلازما وفي حالة عدم ظهوره ثم تركه لساعة إضافية وأعيدت العملية لمدة 4-6 ساعات لحين ظهور التجلط وعند عدم ملاحظة التجلط يحضن لمدة 24 ساعة في درجة حرارة الغرفة ويتم الاستدلال من هذه الطريقة على وجود أنزيم التجلط من النوع الحر Free Coagulase والمرتبط معاً [12].

النتائج والمناقشة

تم تشخيص 16 عزلة لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية بنسبة عزل 14.54% من مجموع المسحات الكلية المأخوذة في الدراسة حيث شملت المسحات المأخوذة 80 مسحة جروح لمرضى تراوحت اعمارهم بين 2-70 سنة وكانت 39 مسحة منها مأخوذة من الإناث و 41 من الذكور، فضلاً عن 30 مسحة حروق لمرضى تراوحت اعمارهم بين 5-71 سنة، إذ كانت 19 مسحة من الإناث و 11 مسحة من الذكور وقد اتفقت هذه النسبة مع دراسة لأحد الباحثين بنسبة عزل 16.6% [13]. إذ ظهرت البكتريا على وسط أكار الدم بشكل دائرة ملساء بلون أصفر إلى ذهبي ذات حجم متوسط، وبعد تلوينها بصبغة كرام ظهرت على شكل تجمعات بهيئة عناقيد تشبه عناقيد العنب Grape like Clusters أو متواجدة بهيئة أزواج وأما عند تنميتها على وسط اكار المانيتول الملحي عند 37 درجة مئوية فكانت مخمرة لسكر المانيتول إذ ظهرت بلون أصفر ذهبي واضح مع اجراء الاختبارات الكيموحيوية التقليدية لغرض تشخيص هذه العزلات وكانت نتائج الاختبارات لهذا النوع موجبة لاختبار تجلط الدم Coagulase والذي يعد اهم اختبار يميز هذا النوع، وموجبة لاختبار Catalase و Urease فضلاً عن قدرتها على تخمير سكر الكلوكوز وقد أظهرت نتيجة سالبة لاختبار Oxidase وكما موضح في الجدول 1 وبعد ذلك تم تأكيد التشخيص بواسطة نظام Api staph .

الجدول 1 : نتائج الاختبارات الكيموحيوية لتشخيص المكورات العنقودية الذهبية.

Bacteria name	Number of isolates	Catalase	Oxidase	Urease	Mannitol	Glucose	Coagulase	DNase	Hemolysis	Motility
<i>Staphylococcus aureus</i>	16	+	-	+	+	+	+	+	+	-

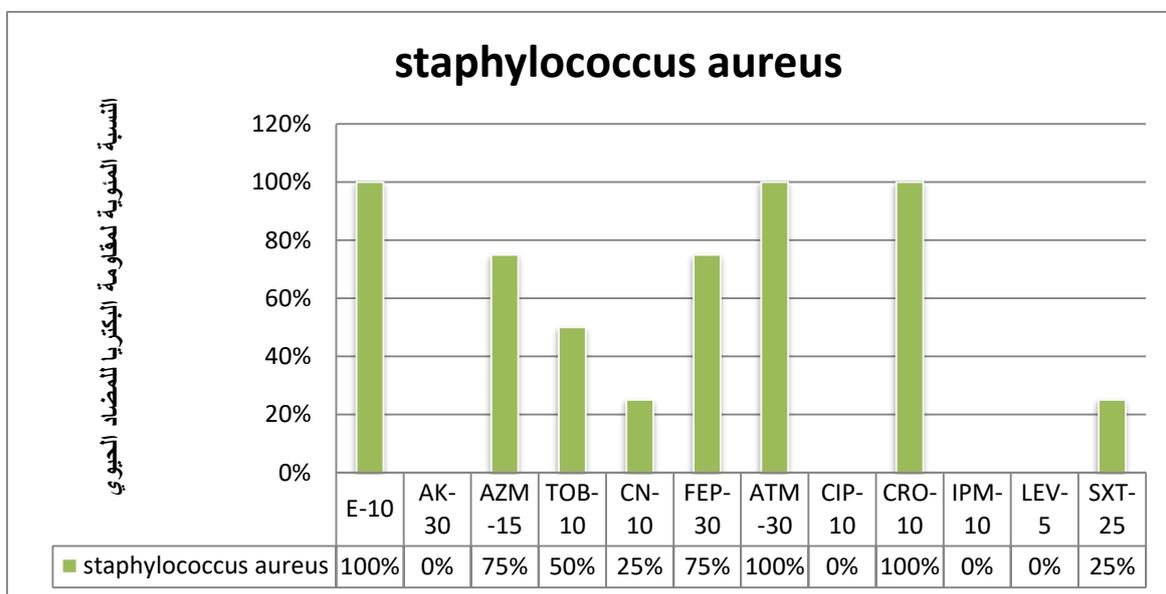


الشكل 1 نتيجة تشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الموجبة لصبغة كرام حسب نظام Api..

بينت النتائج أن بكتريا *staphylococcus aureus* أبدت مقاومة تامة 100% تجاه مضاد Erythromycin، وقد يعزى ذلك لامتلاك هذه البكتريا لبلازميدات تحمل جينات معينة تشفر لإحداث تغيرات في التركيب الوراثي (الرايبوسومي) الذي يثبط ارتباطه بهذا المضاد [14]. وظهرت البكتريا مقاومة أيضاً بنسبة 100% تجاه مضاد Ceftriaxone والنتيجة هذه تقاربت نوعاً مع ما تم التوصل إليه في دراسة سابقة [15]. إذ كانت نسبة المقاومة 77.3% مع ملاحظة زيادة نسبة المقاومة للمضاد في الدراسة الحالية.

وبالنسبة لمضاد Levofloxacin فنلاحظ أن البكتريا أبدت حساسية تامة للمضاد بنسبة 100% لكونه من مجموعة Quinolones فهو ناتج عن تثبيط DNA الخلية البكتيرية، إذ تعمل على تثبيط فعالية الانزيم DNase وبالتالي التأثير على الخصائص الفيزيائية والبيولوجية للحامض النووي منقوص الأوكسجين، حيث يعمل على تثبيط عملية انقسام الخلايا البنوية أثناء الانقسام الخيطي، ووجد أن مضادات هذه المجموعة هي العلاج الأمثل للأخماج إذ تعد من المضادات واسعة الطيف في تأثيرها في العديد من الأنواع البكتيرية المسببة للأخماج ولها تأثيرات جانبية قليلة وتؤثر على البكتريا الموجبة والسالبة لصبغة كرام [16].

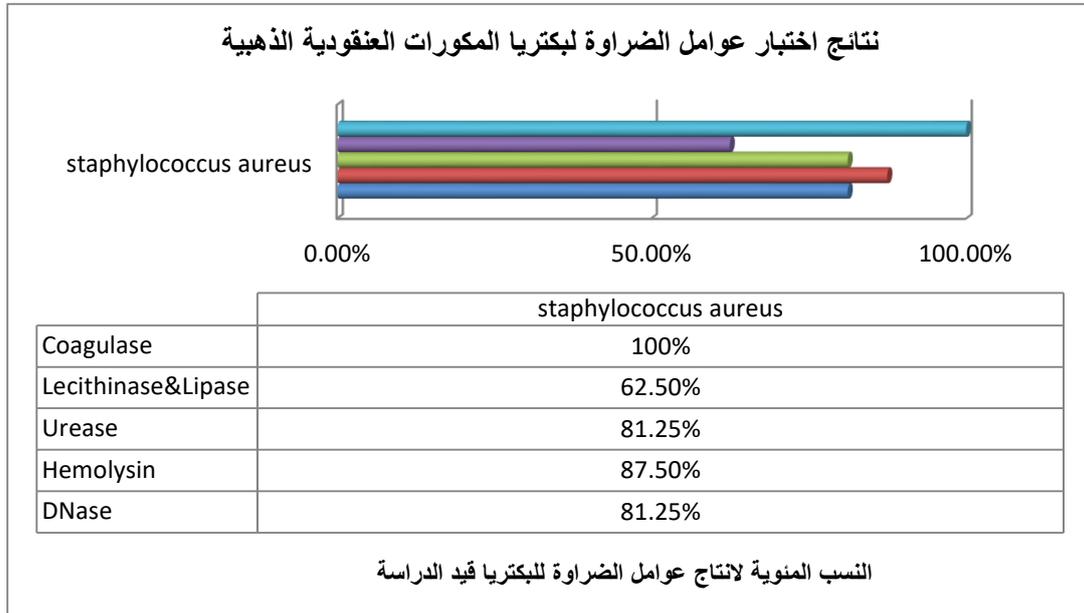
وأما بالنسبة لمضاد Amikacin فقد بلغت نسبة المقاومة 0% و Gentamicin بنسبة 25%، وقد قاربت هذه النتيجة نتائج إحدى الدراسات لباحثين في دراسة مقارنة [17],[18]. و فيما يخص مضاد Gentamicin بنسبة 13% [19]. أظهرت البكتريا مقاومة للمضادات Azithromycin و Tobramycin و Cefepim إذ بلغت نسبة المقاومة 75% و 50% و 75% على التوالي وأما بالنسبة لمضاد Trimethoprim Sulphamethoxazole فقد أظهرت البكتريا مقاومة بنسبة 25% حيث اختلفت مع إحدى الدراسات السابقة والتي كانت نسبة المقاومة فيها ما يقارب 60% وقد يكون هذا الاختلاف الكبير بنسبة المقاومة للمضادين نتيجة اختلاف بيئة العزل بين تلك الدراسة والدراسة الحالية [20]. وأظهر النوع *Staph. aureus* أيضاً عدم المقاومة تجاه المضادات Imepineme و Ciprofloxacin و بنسبة 0% ومقاومة تامة لمضاد Aztreonam حيث تطابقت هذه النتيجة مع دراسة لأحد الباحثين في هذا المجال بالنسبة لهذا المضاد [21]. وأما بالنسبة لمضاد سبروفلوكساسين فقد كانت النتيجة مختلفة مع باحث آخر في دراسة أخرى والذي وجد أن نسبة مقاومة البكتريا لمضاد Ciprofloxacin بلغت 28% فقط [22]. وعلى نحو ما مبين في الشكل (2).



الشكل 2: يوضح مقاومة بكتريا *Staph. aureus* تجاه المضادات الحيوية المدروسة.

تمتلك المكورات العنقودية الذهبية الكثير من عوامل الضراوة التي تكون مسؤولة عن احداث الأمراض التي تسببها هذه البكتريا وتشمل عدد من الإنزيمات والذيفانات او عوامل أخرى تتعلق بالتركيب المعقد لجدار الخلية البكتيرية وتتضمن إنزيمات الهيموليسين (Heamolysin) واللايبيز (Lipase) والانزيم المخثر لبلازما الدم (coagulase) والكاتاليز (Catalase) والانزيم المحلل للدنا (DNase) وغيرها من الإنزيمات حيث تمت الاستعانة ببعض الأوساط الانتخائية للتعرف على قدرة

العزلات البكتيرية قيد الدراسة على إنتاج بعض عوامل الضراوة خارج الجسم للكشف عن قدرة هذه العزلات البكتيرية على تحليل بعض المواد الموجودة في هذه الأوساط [23]. وكانت النتائج كما موضحة في الشكل 3.



شكل 3 يوضح النسبة المئوية لإنتاج عوامل الضراوة للعزلات البكتيرية قيد الدراسة.

أظهرت نتائج الكشف عن إنتاج محلل الحامض النووي منقوص الاوكسجين من قبل عزلات *Staphylococcus* قدرة معظم افراد النوع *S. aureus* ونسبة 81.25% من تحليل الحامض النووي DNA وتم الكشف عن ايجابية التفاعل من خلال احاطة المستعمرات بهالة شفافة في وسط الـ DNase الحاوي على صبغة التولدين الزرقاء (Toludine blue) وجاءت هذه النتيجة متفقة مع دراسة أحد الباحثين إذ وجد ان إنتاج DNase كان بنسبة 83.6% في عزلاته [24]. واما الهيمولابسين فيعد من اهم عوامل الضراوة التي تمتلكها بعض أنواع البكتريا وله القدرة على تدمير الغشاء الخلوي لكريات الدم الحمراء وتظهر النتيجة بوجود هالة شفافة أو خضراء حول المستعمرة في وسط Blood agar, [25]. ان القابلية على تحليل الدم بوساطة هذا الإنزيم تعتمد على العديد من العوامل منها نوع الدم وقدرته على الارتباط بمستقبلات Glycoprotein ويتحول عن طريق البلمرة لمركب معقد يخترق الطبقة الثنائية للدهون من الغشاء الخلوي، وان وجود الكوليسترول والمصل في الدم المستعمل يساعد على تثبيط عملية التحليل [26].

وقد بينت نتائج الدراسة ان (87.5%) من *Staphylococcus aureus* كانت منتجة للهيمولابسين . اتفقت نتائج هذه الدراسة مع إحدى الدراسات في هذه المجال حيث كانت النسبة (87.5%) [27] . واما اليوريناز فان لهذا الإنزيم اهمية كبيرة في تحليل اليوريا الى أمونيا وغاز Co2 وتكون النتيجة الموجبة للفحص هي بتحويل لون الوسط من الأصفر الى الوردى بفعل الأمونيا المتكونة التي بدورها تحول الوسط من حامضي الى قاعدي بعد مدة 4 ساعات من الزرع وفي درجة حرارة 37 درجة مئوية [28] . وقد بينت نتائج دراستنا ان 81.25% من *S.aureus* منتجة لهذا الإنزيم. أما فيما يخص إنتاج الإنزيم المختر لبلازما الدم فيعد هذا الإنزيم من اهم عوامل الضراوة المسببة للأمراض خصوصاً في العنقوديات الذهبية *S.aureus* حيث يعد صفة تشخيصية لها ويجعل عملية بلعمتها اكثر صعوبة من قبل الخلايا المناعية [29]. حيث ان الدور الأساس لأنزيم Coagulase في إحداث المرض غير معروف بصورة كاملة ولكن هنالك تفسير يشير الى ان الإنزيم مسؤول عن تمركز البكتريا في منطقة النسيج المصاب بالمخ وان تكوين حاجز Fibrin حول منطقة المخ يحمي المكورات العنقودية من دفاعات الجسم الخلوية وبالتالي السماح للبكتريا بالتضاعف والحماية من البلعمة Phagocytosis [30]. وقد بينت الدراسة الحالية أيضاً ان 100% من عزلات *S. aureus* كانت منتجة لإنزيم Coagulase وهو من الأنزيمات التي تلعب دوراً مهماً في امراضيتها اذ يحول الفايبرينوجين الى فايبرين الذي يؤدي بدوره لتكوين الخثرة Clot وهذا يتفق مع ما حصل عليه باحث ضمن هذا الموضوع [31]. وأخيراً تم التحري عن قدرة بكتريا *Staphylococcus aureus* على إنتاج أنزيمي اللستينيز و اللابيز حيث أظهرت الدراسة الحالية ان نسبة 62.5% من عزلات *S. aureus* منتجة لأنزيم اللابيز.

إن أكثر أنواع البكتيريا المسببة لأخماج الجروح والحروق في مستشفى سامراء العام ومدينة سامراء بشكل عام هي بكتريا الـ *Staphylococcus aureus* من الأنواع البكتيرية الموجبة لصبغة كرام وقد أظهرت الدراسة ان نسبة الإصابة بأخماج الجروح لدى الذكور أعلى من الاناث وان هنالك العديد من السلالات البكتيرية المعزولة والتي أظهرت نسبة عالية في مقاومتها للمضادات الحيوية وقد يعزى ذلك الى الاستعمال الخاطى والمتكرر للمضادات الحيوية وتطور اليات المقاومة البكتيرية وبالتالي تصبح مقاومة بصورة عالية لمختلف المضادات وان اكثر الانواع من المضادات الحيوية قيد الدراسة والتي قاومتها البكتيريا بشكل كبير هي Imipenem ,Aztreonam, Ceftriaxone, Erythromycin , Ciprofloxacin ,Levofloxacin ,Amikacin.

References:

1. Church , D .; Elsayed, S.; Reid,O.; Winston, B. and Lindsay, R. (2006). Burn wound infection. Clinic. Microb. Reviews, 19: 403- 434.
2. Abdoll, P. (1984) .The persistence of antibiotic coliform resistant in anaerobic bacteria digester .ph .D.Thesis ,Univ.College Cardiff,Wales.
3. Jasmina , V. ; Slavko , S. ; and Blazenka , I.(2001). Low virulence of Escherichia coli strains causing exacerbation of chronicpyelophriis. Acta.
4. Ossiprandi, M. O. (2015). Antimicrobial Resistance - An Open Challenge. InTech. 5:91-93.
5. Shrestha, B.; Pokhrel, BM. and Mohapatra, TM. (2009). Phenotypic characterization of nosocomial isolates of Staphylococcus aureus with reference to MRSA. J Infect Dev Ctries; 3(7):554-560.
6. Reynolds, J.(2004).API20E, Richaland College. University of Hawaii.
7. Lepp, P.W.(2010). General microbiology laboratory manual, 2nd ed, BIOL. 142: 72 .
8. CLSI, C. (2021). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; thirty-first informational supplement. M100-Ed31, (1):1-163.
9. Harley, J. P and Prescott, L. M., (2002). Harley Prescott: Laboratory Exercises in Microbiology, Fifth Edition, The McGraw-Hill Companies, USA.
10. Cruickshank, P.; Dugid, J.P.D.; Marmion, B.P. and Swain, R.H.A. (1975). Medical Microbiology. 12th ed., Churchill Livingstone, Edinburgh. Vol. 2.
11. Steve,K., Dennis, S. and Mary, J.(2004). Laboratory exercises in organismal and molecular microbiology American society for microbiology, Washington, D.C.
12. Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A. (1996). Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. 14th ed., Longman Singapore Publishers Ltd., Singapore.
13. Qassem, A. S. (2020). Study of the inhibitory effect of some plant extracts against bacterial species that cause infections of wounds and burns. Master's Thesis, College of Science/Tikrit University.

14. Nester, E.W., Anderson, D.G., Roberts, C.E., Pearsall, N.N. and Nestor, M.T.(2001). Microbiology a human perspective, 3ed ed. McGraw- Hill Higher Education., P.P.295-512, 691-712 .
15. Ogunleye, V.O.; Ogunleye, A.O.; Ajuwape, A.T.P.; Akande, K.A. and Adetosoye, A. (2009). Occurrence of Methicillin -resistant Staphylococcus aureus in a Nigerian tertiary Hospital Afr. J. Biomed. Res. Vol. 12, No.9:187-192.
16. Jounson,R.J.;Kuskowski,A.M.; Obryan,T.T.Raul,C.and Raz,R .(2005). Virulence Genotype and phylogenetic origin in relation to antibiotic resistance profile among Escherichia coli urine sample isolated from women with acute uncomplicated cystitis. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.49:26-31.
17. Nwankwo, E.O. and Nasiru, M.S. (2011). Antibiotic sensitivity pattern of Staphylococcus aureus from clinical isolates in a tertiary health institution in Kano, Northwestern Nigeria. The Pan African medical journal, 8, 4.
18. Naji, S., Keivani, A., Shamshirband, S., Alengaram, U. J., Jumaat, M. Z., Mansor, Z., & Lee, M. (2016). Estimating building energy consumption using extreme learning machine method. Energy, 97, 506-516.
19. Kurdy ,R.S .Maroff, M. N. (2017). Determination of the inhibitory activity of some biological extracts agaist multi resistance antibiotic Staphylococcus specis which and isolated from different sources of infechtion. Tikrit Journal of Pure Science, 22(11), 6-14.
20. Ahmed, S. S. (2008). Isolation and diagnosis of the causes of wound infections and study of their sensitivity to antibiotics and chemical disinfectants in Kirkuk hospitals. Master's thesis. College of Education. Tikrit University.
21. Al-Jumaily, H. T. (2017). Comparative study of virulence factors of bacteria isolated from urinary tract infections of cardiac intensive care patients. Master Thesis, College of Education for Pure Sciences, University of Diyala.
22. Khair Allah, M. S. (2018). Isolation and identification of some types of bacteria transmitted by house flies and the use of some pesticides and plant extracts in their control. Master's thesis. College of Science. Tikrit University.
23. Brooks, G.F.; Butel, J.S. Caroll, K.C. and Morse, S.A. (2009).Jawetz, Melnick and Adelberg's, Medical Microbiology. 24th ed. Appleton and Lange.
24. Al-Douri, M. N. (2009). Genetic and molecular study of some vancomycin-resistant Gram-positive cocci isolated from Tikrit city. PhD thesis, College of Education. Tikrit University.

25. Arthur, M.C: Rubin, D.: Arbiet C: Kim.A: Agarwall,R. andGoldstein,M.(2002).
Molecular epidemiology of adhesion and hemolysin virulence factor among uropathogenic
E. coli infect. Immunity. 7:303-313.
26. Hassan, R. W. (2017). Molecular study of the genes responsible for the production of
hemolysin in bacteria that cause urinary tract infections and their resistance to control
factors. Master Thesis, University of Al-Qadisiyah, College of Education.
27. Al-Nuaimi, I. M. (2002). Urinary infections in pregnant women. Master's thesis, College
of Science, Al-Mustansiriyah University.
28. Forbes, B.A.; Sahm, D.F. and Weissfeld, A.S. (2007). Baily and scotts Diagnostic
Microbiology. 11th ed . Mosby , Inc . Baltimore, USA. 302-309.
29. Jawetz, E . ; Brooks , G . F . ; Butel , J . S . and Morse , S . A .(2016). Jawetz , Melnick and
Adelbergs Medical microbiology . 26th . Mc Graw HillCom.Singapore.
30. Qin, L., Da, F., Fisher, E. L., Tan, D. C., Nguyen, T. H., Fu, C. L., ... & Queck, S. Y. (2017).
Toxin mediates sepsis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*.
PLOS pathogens, 13(2).
31. Khalaf, Y. M. (2008). Bacteriological and genetic study of *Staphylococcus aureus*
isolated from wound infections, Master's thesis - College of Education - University of
Tikrit.

Study of some virulence factors of *Staphylococcus aureus* isolated from wound and burn infections in Samarra city and evaluate their sensitivity to antibiotics

Ahmed Abdulbari Abdulwahid AL-Samaraey^{1*} and Nihad Abdul-Hussein Jaafar²

1- Department of Life Sciences, College of Science, Tikrit University (ahmedabdulbariabdulwahid@gmail.com).

2- College of Veterinary Medicine, Tikrit University (nihadabid73@tu.edu.iq).

Article Information

Received: 25/07/2021

Accepted: 30/08/2021

Keywords:

Staphylococcus aureus,
virulence factors, isolation
and diagnosis, infections
of wounds and burns,
antibiotics.

Abstract

This study was conducted in order to isolate and diagnose *Staphylococcus aureus* causing wounds and burns infection in the city of Samarra. The current study included the collection of 110 swabs from patients admitted to Samarra General Hospital and some private medical clinics in Samarra city from infected patients. With infections of wounds and burns, for both sexes, and at different ages, 16 isolates with an isolation rate of 14.54% of these bacteria were obtained from the auditors in the advisory department, emergency ward, operating ward, and internal ward The maternity and gynecology ward, the children's ward and the dressing division, in the hospital. Sensitivity was conducted for (12) antibiotics, where the results showed that *Staphylococcus aureus* showed complete resistance with 100% towards the following antibiotics: Erythromycin, Ceftriaxone, Aztreonam, and complete sensitivity towards the antibiotics. Amikacin, Ciprofloxacin, Imepineme, Levofloxacin, and varying resistance to other antibiotics. Some virulence factors were investigated for these bacterial isolates under study, where *Staphylococcus aureus* bacteria produced some of the virulence factors studied as follows: - DNase at 81.25%, Hemolysin at 87.5%, Coagulase 100%, lecithinase & lipase 62.5 %, urease 81.25%.