

عزل وتشخيص بكتيريا المكورات العنقودية البشرية *S. epidermidis* من مستشفيات مدينة الرمادي والتحرر عن عوامل ضراوتها

محمد حسن محمود موسى ، محمود خلف صالح
جامعة تكريت/ كلية التربية للعلوم الصرفة/ قسم علوم الحياة

مستخلص

هدفت الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص بكتيريا *S. epidermidis* المعزولة من أماكن مختلفة لبيئة مستشفيات مدينة الرمادي، محافظة الأنبار- العراق. زرعت العينات على اوساط مختلفة ثم شخصت مزرعياً ومجهرياً وباستخدام الاختبارات الكيموحيوية وتم تأكيد التشخيص باستخدام جهاز Vitek 2 System. خضعت العزلات لاختبار الحساسية لـ (9) مضادات حيوية وذلك لغرض تحديد العزلات المقاومة لهذه المضادات الحياتية، وأوضحت النتائج فرقا بمقاومة هذا النوع للمضادات الحيوية حيث تراوحت بين الحساسية المطلقة وبين المقاومة المطلقة، بعد ذلك تم فحص تكوين *S. epidermidis* للأغشية الحيوية وللعزلات الأكثر مقاومة وتبين فرقا في تكوين هذا النوع للأغشية الحيوية Biofilm حيث تباينت بين العزلات المكونة للغشاء الحيوي بقوة Strong وبين متوسطة التكوين Moderate وبين التي لم تكون الاغشية الحيوية Non adherent، كما وتم التحري عن انتاج *S. epidermidis* لبعض الانزيمات التي تساعدها على ان تكون اكثر مقاومة ومنها (البيوتينيز واليورينيز) والانزيم المحلل للدم الميموليسين Hemolysin واطهرت النتائج إيجابية الاختبار لجميع الانزيمات وان هذا النوع يفرز هذه الانزيمات. الكلمات المفتاحية: بكتيريا المكورات العنقودية البشرية، عوامل الضراوة، عدوى البكتيريا المستخدمة.

Isolation and identification of aureus bacteria from Ramadi city hospitals, and investigation of their virulence factors.

Mahmood Khalaf Saleh ، Mohammed Hasan Mahmood Mousa
Department of Biology, College of Education for Pure Sciences, University Of Anbar, Ramadi, Iraq.
E-mail: Mohammed.hasan@st.tu.edu.iq

Abstract :

The current study aimed to isolate and diagnose bacteria *S. epidermidis* Isolated from different places in the hospital environment of Ramadi city, Anbar Governorate - Iraq. The samples were grown on different media and then diagnosed culturally, microscopically, and using biochemical tests. The diagnosis was confirmed using a device. Vitek 2 System. The isolates were subjected to a sensitivity test to (9) antibiotics for the purpose of identifying isolates resistant to these antibiotics. The results showed a difference in the resistance of this type to antibiotics, as it ranged between absolute sensitivity and absolute resistance. After that, the formation of *S. epidermidis* biofilms and the most resistant isolates was examined and it was found There was a difference in the formation of this type of biofilm, as it varied strongly between the biofilm-forming isolates Strong And between medium composition Moderate And among those that were not biomembranes Non adherent, as and Production investigated *S. epidermidis* to some enzymes that help it to be more resistant, including protease, urease, and the hemolysin enzyme. Test results showed positive for all enzymes and that this species secretes these enzymes.

Keywords: Staphylococcus jaundice bacteria, virulence factors, Vitic2.

1 - المقدمة

الناجمة من المستشفيات (Kord, et al., 2018) مع قدرتها على التسبب بالتهابات المستشفيات بسبب الزرع والأجهزة الطبية (VonEiff, et al 2002)، وتم اعتبارها ممرضة انتهازية (Otto, 2009) نظراً لزيادة التدخلات الطبية مثل استعمال القسطرة الوعائية وزراعة الأجهزة التعويضية مما زاد من معدل انتشار العدوى التي تسببها *S. epidermidis* بشكل كبير (Mathur, et., 2001) *S. epidermidis* من المكورات العنقودية البشرية أيضاً التسمم الناجم عن المستشفيات وإنها تمثل 30% من عدوى التهابات مجرى الدم (Zhou, et al., 2013) وترتبط *S. epidermidis* بمجموعة متنوعة من المظاهر السريرية بما في ذلك التسمم المتأخر عند الرضع الخدج (Abu taleb, et al. 2012)، للمكورات العنقودية البشرية عدد قليل من عوامل الفوعة التي تسبب الضرر المباشر للمضيف، مقارنة بالأنواع الأخرى الأكثر ضراوة لذلك فهي تكون انتهازية تهيأ لحدوث أي نقص في مناعة الشخص (Massey et al.; 2006)، لكن تمثل *S. epidermidis* من الناحية الطبية والسريرية والأصابة بعدوى المستشفيات النسبة الأكثر من بين أنواع (سلبيات) وذلك لامتلاكها العديد من عوامل الضراوة وقابليتها على تكوين الغشاء الحيوي والعديد من الانزيمات (Namvar; et al. 2014).

هدفت الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص بكتيريا المكورات العنقودية من بيئة بعض مستشفيات مدينة الرمادي في محافظة الانبار ودراسة بعض عوامل ضراوتها وذلك من خلال الخطوات التالية:

- عزل وتشخيص بكتيريا المكورات العنقودية البشرية من أماكن متنوعة من بيئة ومرضى وكادر مستشفيات مدينة الرمادي ودراسة دور هذه البكتيريا في عدوى المستشفيات (Nosocomial infection).

- إختبار حساسية عزلات البكتيريا تلك للمضادات

هي بكتريا متعايشة انتهازية توجد على الجلد، وعند اختراقها سطح الجلد سوف تدخل الى مجرى الدم وتصبح مرضية (Hidron et al., 2008). وتعد عاملاً ممرضاً انتهازياً مهماً حيث تسبب الأمراض المرتبطة بالقسطرة وحالات تخرثم الدم وهي مسؤولة عن 30% من العدوى المكتسبة من المستشفيات hospital-acquired infections (Pourmand et al., 2011)، وتنتمي *S. epidermidis* إلى مجموعة المكورات العنقودية السالبة لانزيم التخثر (Brown, et al., 2020)، وهي بكتريا غير متحركة لا تكون أبواغ وهي موجبة لصبغة كرام كروية الشكل قطرها (0.8-1.0) مايكرون تكون على هيئة أزواج أو رباعيات وأحياناً منفردة وتمتاز مستعمراتها باللون الأبيض أو الرمادي وتكون ناعمة ومرتفعة ولا معة وذات حواف كاملة ربما مخاطية أو غروية تختلف في الشفافية قد تصبح لزجة مع تقدم عمر المستعمرة اختيارية. هوائية ولاهوائية والأفضل نمواً في الظروف الهوائية (Bergey et al., 2009)، تصيب البكتريا بالمقام الأول المرضى المعرضين للخطر الذين يتلقون العلاج المثبط للمناعة والذين يعانون من متلازمة نقص المناعة المكتسب (الإيدز) وحديثي الولادة ومتعاطي المخدرات (Domingo, 2001) أو الأفراد الذين يعانون من ضعف المناعة والأفراد الذين يعانون من الإصابة التي تسببها الأجسام الغريبة (Abu Taleb, et al., 2012)، وتعد *S. epidermidis* أهم سبب للعدوى السريرية بسبب عوامل الضراوة التي اكتسبتها ميزات فريدة مما أدى إلى اعتبارها سبب شائع لعدوى المستشفيات لقدرتها المحتملة في تكوين الغشاء الحيوي (Joubert et al. Biofilm (2022) وهو أحد المميزات المهمة للمكورات العنقودية الجلدية *S. epidermidis* خاصة في الالتهابات

وحضنت بدرجة 37°م لمدة 24 ساعة. بعد انتهاء مدة التحضين، أختبرت المستعمرات المفردة النامية وأعيد زرعها مرة أخرى على أطباق وسط أكار الدم وأكار ماكونكي وحضنت لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37°م للحصول على عزلات نقية من البكتريا. أجري التشخيص البكتيري اعتماداً على الخواص الزرعية *Cultural characteristics* والفحص المجهرى *Mi-croscopic Examination* والإختبارات الكيموحياتية *Biochemical Tests* وتم تأكيد التشخيص باستخدام جهاز الفايترك *Vitek-2 Compact*.

2-2 : اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

استخدمت أقراص المضادات الحياتية القياسية لإجراء إختبار فحص الحساسية وذلك باستخدام طريقة الانتشار بالأقراص *Disc Diffusion Method* على وسط أكار مولر هنتون ((Kirby-Bauer, 1966) Muller Hinton agar استخدمت تسعة اقراص من المضادات الحيوية شملت هذه المضادات على (-Genta Trimethoprim , Meropenem , Cefoxitin , micin Le- , Ciprofloxacin , Azthromycin , Impimem, vofloxacin , Azithromicin)، تم اختيار العزلات التي كانت اكثر مقاومة للمضادات الحيوية وأجريت عليها اختبارات عوامل الضراوة.

2-3 : اختبار انتاج الانزيم الحال للدم (الهيمولايسين) *Hemolysin production test*

زرعت المستعمرات البكتيرية بالتخطيط على وسط اكار الدم *Blood agar* المحضر، وحضنت الاطباق عند درجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة، إن التحلل الكامل لكريات الدم وظهور القبح فهو دلالة على تحلل من نوع β -haemolysin، اما التحلل الجزئي لكريات الدم وظهور لون اخضر فهو دلالة على تحلل من نوع α -haemolysin ، في حين ان عدم تحلل كريات الدم فتكون البكتيريا γ -haemolysin (Kayser et al.,2005).

الحيوية الشائعة الاستعمال في المستشفى لمعرفة مدى انتشار صفة المقاومة لدى هذه العزلات.

- التحري عن بعض عوامل ضراوة العزلات الاكثر مقاومة للمضادات الحيوية مثل تكوين الأغشية الحيوية *Biofilms* والانزيم المحلل للدم *Hemoly-sin* والانزيم المحلل للبروتين *Protease* والانزيم المحلل لليوريا *Urease*.

2 - المواد وطرق العمل

1-2 : جمع وتشخيص العينات

تم جمع 150 عينة من مستشفيات مدينة الرمادي (مستشفى الرمادي التعليمي العام، مستشفى الرمادي للنسائية والأطفال) خلال الفترة من تشرين الأول 2022 لغاية 1 آذار 2023. شملت مصادر العزل السطوح الصلبة لبيئة المستشفيات أعلاه بمختلف أقسامها (صالة الولادة، صالات العمليات الكبرى، ردهات الخدج، ردهة إنعاش القلب، ردهة العناية المركزة، ردهة الحروق) حيث جمعت العينات من الأرضية، الجدران، الأسرة، أجهزة التكيف، كذلك تم جمع العينات من الأشخاص الراقدين في المستشفى ومن المرافقين لهم ومن الأطباء أيضا وذلك من أيديهم وملابسهم. تم جمع العينات باستخدام مسحات قطنية معقمة *Sterile Transport swabs* مبللة بالمحلول الملحي الفسلجي المعقم. نقلت المسحات مباشرة الى المختبر في ظروف مبردة لغرض زرعها وتشخيصها، اذ زرعت مسحات العينات في أنابيب اختبار حاوية على وسط نقيع القلب والدماغ السائل *Brain Heart Infusion Broth* وحضنت بدرجة حرارة 37°م لمدة 72 ساعة في ظروف هوائية. خلال مدة التحضين هذه، وبعد كل 24 ساعة من بداية التحضين، تم أخذ 100 مايكروليتر من هذه الأنابيب بعد رجها ثم زرعت في كل من وسط الأكار المغذي، وسط أكار الدم، ووسط أكار ماكونكي بشكل منفصل وبثلاثة مكررات

2-4 : اختبار إنتاج الانزيم المحلل لليوريا (يوريز)

(Urease) Urea hydrolyzate production test

لُقحت موائل وسط اليوريا الصلب Urea agar medium بمستعمرات فتية نقية من البكتريا وحضنت الأنابيب في درجة حرارة 37 م ولمدة 48 ساعة، ان تغير لون الوسط من الأصفر إلى الوردي يدل على قدرة البكتريا على إنتاج انزيم اليوريز الذي يعمل على تحليل اليوريا وإنتاج الامونيا مؤدياً إلى زيادة الرقم الهيدروجيني للوسط ومن ثم تغير لون الوسط (Tadesse and Alem,2006; Collee *et.al.*, 1996)

2-5 : اختبار إنتاج الانزيم الحال للبروتين

Protease production test

أُخذت مستعمرة واحدة ولقحت في وسط نقيع القلب والدماغ السائل Brain-Heart infusion broth وحضنت عند درجة 37 م ولمدة 24 ساعة، بعد ذلك نقل 100-200 مايكروليتر من العالق البكتيري الى الحفر التي تم عملها في الاطباق الحاوية على وسط اكار الحليب الفرز بوساطة الثاقب الفليني بقطر 6 ملم، وحضنت بدرجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة وتمت ملاحظة العزلات المنتجة لإنزيم البروتيز من خلال ظهور منطقة شفافة حول الحفر الحاوية على العالق البكتيري (Senior,1999).

2-6 : الفحص الكمي لتكوين الأغشية الحيوية

Quantitative Assay of Biofilm production with Tissue Culture (TCP) Plate Method

اعتمدت طريقة صفيحة الزرع النسيجي الموصوفة من قبل (Lima *et al.*.,2017;Magana *et al.*.,2018) لإنجاز اختبار تكوين الغشاء الحيوي، وقد تم تفسير النتائج وفقاً للمعايير التي وصفها Stepanovic وجماعته (2000) وحسب المعادلات الآتية:
أ- تعد العزلة غير مكونة للغشاء الحيوي عندما تكون

قراءة الكثافة الضوئية لها أقل أو مساوية للكثافة الضوئية لعينة السيطرة ($ODc \geq OD$).

ب- تعد العزلة ضعيفة التكوين للغشاء الحيوي Weak عندما تكون قراءة الكثافة الضوئية للعزلة بين أكبر ومساو لها أو أصغر من ضعفي الكثافة الضوئية لعينة السيطرة ($ODc \geq OD \leq 2xODc$).

ج- تعد العزلة متوسطة التكوين للغشاء الحيوي Mod-erate عندما تكون قراءة الكثافة الضوئية للعزلة بين أكبر من ضعفي الكثافة الضوئية للسيطرة ومساو أو أصغر من أربعة اضعاف الكثافة الضوئية لعينة السيطرة ($2xODc \geq OD \leq 4xODc$).

د- تعد العزلة مكوناً قوياً للغشاء الحيوي Strong عندما تكون قراءة الكثافة الضوئية لها أكبر بأربعة أضعاف قراءة الكثافة الضوئية لعينة السيطرة ($OD > 4xODc$).

هـ- أجري قياس تركيز الصبغة المذابة عند طول موجي 630 نانومتر باستعمال جهاز ELISA Reader، التي هي انعكاس لقوة تكوين الغشاء الحيوي، وقورنت قيم الامتصاصية التي حصل عليها مع قيمة تفصيل التي تمثل الحد الفاصل بين النتائج الموجبة والسالبة وهي تعادل تقريبا 0.053 نانومتر، فالقيم المحصورة بين 0.053-0.106 نانومتر تعد مكوناً ضعيفاً للغشاء الحيوي، بينما القيم المحصورة بين 0.106-0.212 نانومتر تعد مكوناً متوسطاً للغشاء الحيوي، أما القيم التي هي أعلى من 0.212 نانومتر فتعد مكوناً قوياً للغشاء الحيوي.

3- النتائج والمناقشة

3-1 : العزل والتشخيص

جمعت 150 عينة من مستشفيات مدينة الرمادي من الفترة 2202\10\1 ولغاية 2023\3\1 وشملت هذه الفترة جمع العينات والعمل حيث تم زرعها مختبرياً

وبهدف التحري عن وجود بكتيريا المكورات العنقودية، شملت الدراسة جمع العينات من مصادر مختلفة بيئية وسريية من هذه المستشفيات، حيث تضمنت العينات البيئية ردهات المرضى وصلات العمليات وصلات الولادة و ردهات الطوارئ وصلات الأطفال الخدج وصلات الكسور والحروق وصلات الاستقبال اما العينات السريية فقد تضمنت المرضى الراقدين في المستشفى والاصحاء المرافقين لهم وكذلك الكادر الطبي حيث تم اخذ العينات من أيديهم وملابسهم وقفازاتهم، وكذلك تم اخذ العينات من الأدوات الجراحية قبل وبعد التعقيم، وتم الحصول على العينات السريية والبيئية باستعمال القطنية القطنية (Swabs) Cotton ونقلت للمختبر وتم ترقيمها وإدراج المعلومات عليها

وتم ذلك في مستشفيات مدينة الرمادي. تم الحصول على 120 عزلة بكتيرية بنسبة 80% من العينات الكلية أظهرت نموا جيدا على الأوساط الزرعية و30 عينة لم تظهر النمو وكانت أعلى نسبة عزل للأنواع البكتيرية من مستشفى الرمادي التعليمي للنسائية والأطفال بنسبة 51.1% تليها مستشفى الرمادي التعليمي العام بنسبة 48.5%، وان هذه ال120 عينة كانت منها 61 عينة بيئية من بيئة المستشفى و59 عينة سريية، وتوزعت العينات السريية بين الفئات العمرية المختلفة من الذكور والاناث كما موضح في الجدول (1)، اما العينات البيئية فتوزعت كما في الجدول (2) وشملت 47 عينة من *S. epidermidis* بنسبة 39.2%.

جدول (1) اعداد العينات ونسبها المئوية حسب الفئات العمرية

ت	الفئات العمرية للذكور والاناث	عدد العينات	النسبة المئوية %
1	اقل من سنة-10 سنوات	8	17%
2	11 - 20 سنة	4	8.5%
3	21 - 30 سنة	6	12.8%
4	31 - 40 سنة	4	8.5%
5	41 - 50 سنة	3	6.4%
6	اكثر من 50 سنة	5	10.6%
	المجموع	30	63.8%

جدول (2) اعداد العينات البيئية ونسبها

ت	مصدر العزل	عدد العينات	النسبة المئوية %
1	أرضية المستشفى	3	6.4%
2	أجهزة المستشفى المختلفة	3	6.4%
3	اسرة الردهات وصلات العمليات	4	8.5%
4	ملابس الكادر الطبي والمراجعين	2	4.3%
5	العدد الجراحية وعدد الإسعافات الاولية	3	6.4%
6	كافيتيريا المستشفى	2	4.3%
	المجموع	17	36.2%

للضاد Cefoxitin وبنسبة (93.3%)، بينما أظهرت مقاومة أقل بكثير للضاد ciprofloxacin حيث كانت مقاومة *S. epidermidis* بنسبة (15.3%)، وأظهرت جميع العزلات مقاومة بنسبة (73.7%) للنوع *S. epidermidis* للضاد الحيوي Azithro-mycin ، بينما كانت المقاومة للضاد Trimethoprim-Tet بنسبة (50%)، وكانت المقاومة للضاد الحيوي Tet-racycline بنسبة (69.1%)، وأظهرت جميع عزلات *S. epidermidis* مقاومة عالية للضاد الحيوي Genta-micin حيث كانت مقاومتها (64.1%)، وكانت نسبة المقاومة للضاد الحيوي Levofloxacin منخفضة في النوع *S. epidermidis* حيث كانت (20%)، اما في المضادين الحيويين Meropenem & Imepinenem فلم يبدي هذا النوع أي مقاومة لهذين المضادين فقد كانت حساسة لهما وبنسبة (100%).

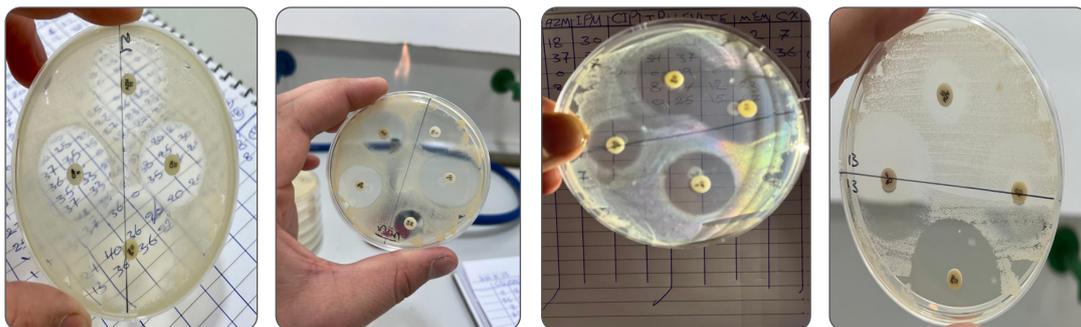
شخصت العزلات البكتيرية اعتمادا على صفاتها الزرعية والمجهرية والاختبارات الكيموحيوية Bio-chemical Tests، وتم تأكيد التشخيص باستخدام جهاز الفايترك Vitek2-Compact system.

2-3 إختبار الحساسية للمضادات الحيوية

اختبرت حساسية العزلات الجرثومية قيد الدراسة والبالغ عددها (43) عزلة تابعة للجنس *S. aureus* لـ (9) أنواع من المضادات الحيوية كما في الجدول (3) وباستخدام طريقة انتشار الأقراص كما موضح بالشكل (1)، وتم تحديد قطر منطقة التثبيط (بالمليمتر) بالاعتماد على قياسات معهد المعايير السريرية والمختبرية-The clin-ical & Labrotary Standard Institute (CLSI, 2022)، أظهرت العزلات قيد الدراسة مقاومة مختلفة للمضادات المستخدمة والمبيئة في الجدول (3)، إذ أظهرت جميع عزلات *S. epidermidis* مقاومة عالية

جدول (3) نتائج معاملة البكتيريا بالمضادات الحيوية

المضاد الحيوي	نسبة مقاومة <i>S. epidermidis</i> للمضادات الحيوية
CX	93.3%
MEM	0.0%
TE	69.1%
LEV	20%
TR	50%
CIP	15.3%
IMP	0.0%
AZM	73.7%
CN	64.1%



الشكل (1) يظهر طريقة انتشار الاقراص disk-diffusion method

من نوع بيتا β -haemolysin، ويعد هذا الانزيم الذي يفرز خارج الخلية Extracellular من أكثر عوامل الضراوة اهمية وأكثرها إنتاجا من قبل سلالات بكتريا *Staphylococcus.spp* الذي يسهم بطرائق متباينة في تطوير الاصابة من خلال تأثيراته السمية على معظم الخلايا حقيقية النواة، وبذلك يساعدها على الغزو والانتشار داخل جسم العائل، فهو يعمل على تحليل مجموعة الدهون الفوسفاتية التي تعد المكون الرئيسي لأغشية الخلايا حقيقية النواة (Younis et al.,2015; Roger and Ibrahim,2012).

3.3- اختبارات التحري عن عوامل الضراوة

Phenotypic detection tests of virulence factors

1.3.3 اختبار انتاج الانزيم المحلل للدم

(الهيمولايسين) Hemolysin production test

أظهرت نتائج الاختبار أن 37 عزلة وبنسبة 86% كانت قادرة على إنتاج الانزيم الحال للدم، وكان التحلل من نوع β -hemolysis كما في شكل (2)، وقد ظهرت العزلات عند تنميتها على وسط اكار الدم Blood agar انها مكونة لهالة بيضاء حول المستعمرات النامية ناتجة من تحلل كريات الدم نتيجة إفرازها انزيم الهيمولايسين



الشكل (2) انتاج انزيم β -hemolysis من بكتيريا *Staphylococcus.epidermidis* على وسط Blood agar

على انتاج انزيم اليوريز، اذ أظهرت اغلب العزلات وبنسبة 91.2%، قدرتها على انتاج انزيم اليوريز، فيما أظهرت باقي العزلات عدم قدرتها على انتاج انزيم اليوريز كما في الشكل (3).

2.3.3- اختبار الانزيم المحلل لليوريا (اليوريز)

Urea hydrolyzate production test (Urease)

اظهرت نتائج الاختبار قدرة بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus. epidermidis*



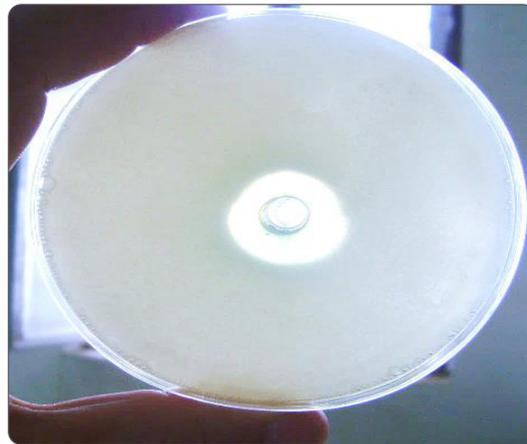
الشكل (3) اختبار اليوريز Urease test

إنتاج انزيم البروتيز بنسبة 100٪، حيث اظهرت العزلات هالة بيضاء حول المستعمرة دلالة على إنتاج البروتيز المحلل وكما في الشكل (4)،

3.3.3- اختبار إنتاج انزيم البروتيز

Protease production test

أظهرت نتائج الاختبار قدرة جميع العزلات على



الشكل (4) اختبار إنتاج البروتيز من عزلات المكورات العنقودية *S. epidermidis*

ent وبنسبة 7.7٪، وقد تراوحت امتصاصية العزلات بين 0.931-0.107 نانومتر كما في الجدول (5).

إن هذه قدرة على إنتاج الغشاء الحيوي يفسر سبب ارتفاع نسب المقاومة لهذه العزلات تجاه اغلب المضادات الحيوية، إذ إن جميع العزلات تقريبا تمتلك عامل الضراوة الغشاء الحيوي (Eladawy et al.,2020)، لأنها تكون مغمورة في بروتينات المضيف والطبقة المخاطية الميكروبية، التي توفر بدورها مكاناً مناسباً لنمو البكتريا والكائنات الأخرى الامر الذي يزيد من مقاومتها للمضادات، وهذا يؤدي إلى خلق مشكلة كبيرة (Igle- Sax- Hassan et al.,2011 sias and Bambeke,2020 ena et al.,2014).

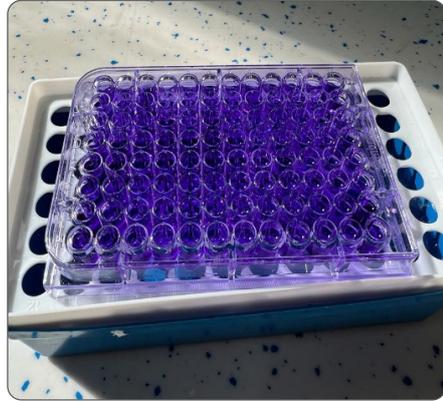
4.3.3- الكشف عن تكوين الاغشية الحيوية

Detection of Biofilm formation

أظهرت نتائج التقييم الكمي لإنتاج الغشاء الحيوي باستخدام حفر صفائح الزرع النسيجي المصنوعة من البوليسترين المزروعة في وسط TSP كما في الشكل (5) أن العزلات كونت الغشاء الحيوي وبنسبة 78.1٪، وقد تباينت العزلات المكونة للغشاء الحيوي، إذ أظهرت العزلات وبنسبة 23.1٪ بأنها مكون قوي للغشاء الحيوي Strong، وبنسبة 30.8٪ بأنها مكون متوسط للغشاء الحيوي Moderate، بينما كانت النسبة 38.5٪ للبكتيريا ذات التكوين الضعيف للغشاء الحيوي Weak بينما لم تكون بعض العزلات الغشاء الحيوي Non adher-

جدول (4) نسب تكوين الاغشية الحيوية لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية

ت	معدل تكوين الاغشية الحيوية	نسبة تكوين الاغشية الحيوية %
1	ضعيفة التكوين Weak	30.8 %
2	متوسطة التكوين Moderate	38.5 %
ب	عديمة التكوين Non adherent	7.7 %
4	قوية التكوين Strong	23.1 %



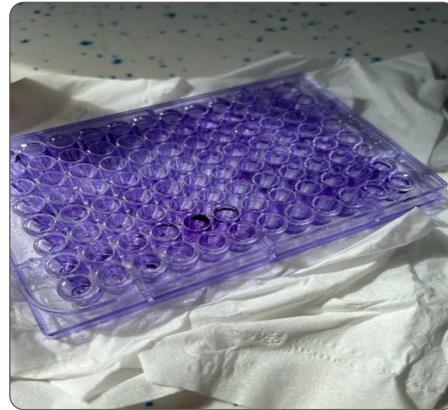
(B)



(A)



(D)



(C)

الشكل (5) طريقة الكشف عن الاغشية الحيوية Biofilm باستعمال صفيحة الزرع النسيجي
(A) الصفيحة النسيجية بعد وضع العزلات فيها (B) الصفيحة النسيجية بعد وضع الصبغة
(C) الصفيحة النسيجية بعد قصرها (D) جهاز الاليزا الذي قيست به الكميات

المصادر

- e1009026.
4. **CLSI.(2022).** Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
 5. Domingo P .and Fontanet A.(2001) Management of complications associated with totally implantable ports in patients with AIDS. AIDS Patient Care STDS;15:7–13. [PubMed: 11177583.]
 6. **Eladawy, M., El-Mowafy, M., El-Sokary, M. M. A., & Barwa, R. (2020).** Effects of lysozyme, proteinase K, and cephalosporins on biofilm formation by
 1. Alhmieda T., Taleb, A. A., & Bsoul, M. (2012). A study on threats detection and tracking systems for military applications using WSNs. *International Journal of Computer Applications*, 40(15), 12-18.
 2. Bergey , Vos P De , Garrlty GM.,Jones D.,Krlleg NR., Ludwig W.,Ralney F A., Schlelfer K H ., and Whltman W B., book (2009) Bergey 's Manual of Systematic Bacteriology. Second Edition , volume three .P392 -407.
 3. **Brown, M. M., & Horswill, A. R. (2020).** Staphylococcus epidermidis—Skin friend or foe?. *PLoS pathogens*, 16(11),

- ology Reviews, 31(3), 10-1128.
13. **Mathur, T.** ;Singhal, S. ;Khan ,S. ;Upadhyay ,D.J. ; Fatma ,T. ;and Rattan,A. (2006) . Detection of Biofilm formation among the clinical isolates of Staphylococci : an evaluation of three different screening methods .Indian Journal of Medical Microbiology , 24(1) : 25 -29 .
 14. **Massey, A. C., Zhang, C., & Cuervo, A. M.** (2006). Chaperone-mediated autophagy in aging and disease. *Current topics in developmental biology*, 73, 205-235.
 15. Namvar, A. E., Bastarahang, S., Abbasi, N., Ghehi, G. S.,
 16. Otto M, (2009) Staphylococcus eipdermidis- the accidental pathogen.,7(8) our understanding of the bone and joint pathology caused by.
 17. **Roger, M. and Ibrahim, B. (2012)** . Biosurfactants: a sustainable replacement for chemical surfactants . *J. Academic .*, 34(9):1597 .
 18. **Senior, B. W.** ;Albrechtsen, M. and Kerr, M. A. (1988). A survey of IgA protease production among clinical isolates of Proteeae. *J. Med. Microbiol.*,25:27–31.
 19. Stepanovic, S.; Jezek, P.; Vukovic, D., ;Dakic, I. And Petras.(2003) Isolation of members of the Staphylococcus scuiri group from urine and their relationship to Urinary tract infection. *J. Clin. Microbiol.*, 41 (11): 5262-5264.
 20. **Tadesse, A. and Alem, M.** (2006) . Medical Bacteriology . *EPHTI* .
 21. **Von Eiff C,** Peters G, and Heilmann C. (2002) Pathogenesis of infections due to coagulase-negative staphylococci. *Lancet Infect Dis.* Nov;2(11):677-85.
 - clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. *Interdisciplinary perspectives on infectious diseases*, 2020.
 7. **Hassan, M. K., Sanchez, B., & Yu, J. S.** (2011). Financial development and economic growth: New evidence from panel data. *The Quarterly Review of economics and finance*, 51(1), 88-104.
 8. **Hidron, A. I., Edwards, J. R., Patel, J., Horan, T. C., Sievert, D. M., Pollock, D. A., & Fridkin, S. K.** (2008). Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006–2007. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, 29(11), 996-1011.
 9. **Joubert, I. A., Otto, M., Strunk, T., & Currie, A. J.** (2022). Look who’s talking: Host and pathogen drivers of Staphylococcus epidermidis virulence in neonatal sepsis. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 860.
 10. **Kayser,F.H.;** Bienz,K.A.; Eckert,J. and Zinkernagel,R.M .(2005). Basic Principles of Medical Microbiologie and Immunology, *Macrophage hunting bacteria. Thieme,Stuttgart.New York*,(3):158-159,(4):309-310.11
 11. Kord M , Ardebili A, Jamalán M , Jahanbakhsh R , Behnampour N , and Ghaem E. A (2018) Evaluation of Biofilm Formation and Presence of Ica Genes in Staphylococcus epidermidis Clinical Isolates. 2018 Aug; 9(4): 160–166. doi: 10.24171/j.phrp.2018.9.4.04.
 12. **Magana, M., Sereti, C., Ioannidis, A., Mitchell, C. A., Ball, A. R., Magiorkinis, E., ... & Tegos, G. P.** (2018). Options and limitations in clinical investigation of bacterial biofilms. *Clinical Microbi-*