مدى انتشار انواع المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمثسيلين في مصنع ادوية نينوى وكادره

ژيان عصمت عارف البرواري [1] ، محمد دواج خالد المعماري [2] ، باسمة احمد عبدالله [3]

[1] مصنع ادوية نينوى ، الموصل ، العراق

[2] مصرف الدم الرئيس في الموصل ، الموصل ، العراق

[3] قسم علوم الحياة(احياء مجهرية) ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

E-mail basimaaa138@yahoo.com

الملخص

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص افراد المكورات العنقودية القيحية *Staphylococcus aureus* من مسحات الانف وايدي الكادر العامل وادرارهم والمستحضرات الدوائية ومن البيئة (المكائن، خزانات التحضير، التعبئة، الجدران، هواء القاعات) ولأقسام مختلفة في مصنع ادوية نينوى للفترة من تشرين الثاني/2010 ولغاية ايار/2011. شخصت العزلات باستخدام الاختبارات الكيموحيوية والفسلجية والمصلية وباستخدام API Staph. واجري اختبار الحساسية للمضادات الحيوية .اظهرت النتائج ان عدد العزلات الكلي للمكورات العنقودية القيحية *Staph.aureus* هو 60 عزلة اذ كانت نسبة عزلها من الانف والايدي والادرار للكادر 40% ومن المستحضرات الدوائية 5% ومن البيئة الانتاجية 4.3%. كما وعزلت انواعها الاخرى وبنسب اقل *Staph. epidermidis*، *Staph .hominins*، *Staph .xylosus* استخدمت العدة التشخيصية الخاصة بالمكورات العنقودية API Staph. لتأكيد التشخيص ولتحديد النوع الحيوي Biotype. وكان هناك تشابه بالتسلسل الحيوي لبعض العتر ذات المصادر البشرية والحيوانية. شخصت العزلات المقاومة للمضاد الحيوي للمثسيلين MRSA باستخدام العدة التشخيصية لاختبار التلازن للشريحة Slide MRSA Detection Kit وكانت 25% من البيئة وبنسبة 55% من انوف وايدي الكادر العامل في بيئة الانتاج. كما تبين ان جميع الانواع حساسة للمضادات الحيوية CRO30، VA30 و السيفالوثين في حين ابدت مقاومتها لكل من المضاد الحيوي الاوكسي تترساكلين، GN10، P10، C30 و CFM.

المقدمة

تعد جرثومة المكورات العنقودية Staphylococcus وخاصة المكورات العنقودية القيحية *Staph.aureus* من اكثر انواع البكتريا الممرضة انتشاراً في الطبيعة ومن اكثرها اهمية من الناحية الطبية والصحية كونها سبباً مهماً في العديد من الاصابات . تتراوح شدتها بين المعتدلة والمميتة وتعتمد في امراضيتها على عوامل انزيمية وسمية وقابليتها على الالتصاق وعلى اختراق انسجة الجسم المختلفة اضافة الى قابليتها على مقاومة المضادات الحيوية مثل Penicillin [1]. تعد جزء من النبيت الطبيعي المتواجد في مقدمة الخيشوم الانفي والجلد، وتسبب مدى واسعاً من الاصابات تشغل بصورة مباشرة او غير مباشرة عن طريق الهواء ويمكن التقليل من عدوى العتر الدائمة بالنظافة والتعقيم والتطهير [2] .عرفت هذه البكتريا منذ زمن بعيد إلا انها لازالت تعد الاكثر اهمية كممرض لحالات فردية مستوطنة او جماعية داخل المستشفيات او خارجها فالذي جلب انتباه الباحثين في مجال الطب والصحة العامة، وجود عزلات مقاومة للمضاد الحيوي البنسلين بسبب قدرتها على انتاج انزيم Penicillinase الذي يؤثر على حلقة البيتا–لاكتام. وفي بداية عام 1960 تم استعمال بنسلينات نصف مصنعة كالمثسيلين والاوكزاسيلين والتي ادت الى زيادة اهمية مضادات البيتا–لاكتام في معالجة الاصابات المتسببة بجرثومة المكور ات العنقودية القيحية.ان مقاومة المكورات العنقودية القيحية للمضاد الحيوي المثسيلين ومضادات مجموعة البيتا–لاكتام قد تحدث نتيجة انتاج انزيم البيتا–لاكتاميز كما ان لهذه البكتريا القدرة على توليد مقاومة داخلية من خلال خفض كمية البروتين الرابط للبنسلين (PBP_2) مما يعمل على تحملها التأثير القاتل لتلك المضادات، وقد تعود مقاومتها الى امتلاكها للبروتين الرابط للبنسلين المغاير نوع (PBP_{2a}) الذي يشفر من خلال الجين MecA، وهذا البروتين الرابط يكون ذو القيمة واطئة للارتباط بمضادات البيتا–لاكتام والذي يمنع المقاومة لجميع مضادات البيتا–لاكتام [3] . نظراً لاهمية المكورات العنقودية القيحية المقاومة للمثسيلين MRSA والتي لها علاقة بالصحة العامة، ومقاومتها المستمرة لذا اتجهت انظار هذه الدراسة الى عزل انواع بكتريا المكورات العنقودية القيحية وتشخيصها من بيئة مصنع ادوية نينوى والعاملين فيها وتحديد نسبة انتشارهاوتحديد حساسية الانواع المشخصة وتحديد العتر المقاومة للمضاد الحيوي المثسيلين MRSA باستخدام العدة التشخيصية Slide MRSA Detection Kit.ومعرفة امتلاك هذه الانواع المقاومة للمضادات الحيوية لانزيمات β-lactamase .

المواد وطرائق العمل

تم جمع 455 مسحة من اقسام مختلفة من مصنع ادوية نينوى. جمعت من الاقسام الانتاجية و 100 مسحة من انوف وايدي الكادر العامل في داخل بيئة الانتاج لمدة من بداية شهر (آذار 2010) وحتى نهاية شهر (كانون الثاني) 2011، اخذت المسحات من مختلف المكائن والادوات المستخدمة في القاعات الانتاجية بالإضافة الى هواء القاعة، وتم اخذ المسحات باستخدام مسحات معقمة وضعت في وسط ناقل ونقلت الى المختبر [4] . حضرت الاوساط الزرعية حسب تعليمات الشركة المصنعة، فضلاً عن استخدام بعض الاوساط التي تم تحضيرها في المختبر كوسط انتاج خميرة البروتييز Protease Production[5] ، ووسط اكار الاوكساسلين Oxacilline Agar [6] اكار النشا Strach Agar ووسط اكار البيض Egg Yolk Agar [7] والعدة التشخيصية Analytic profile index staph(

(API staphالتي تستخدم للتأكد من انها عائدة لجنس المكورات العنقودية من نوع القيحية والعدة التشخيصية Slide MRSA Detection Kit، لتشخيص عتر المكورات العنقودية القيحية المقاومة للمشلين MRSA Methicillin resistance *Staph.aureus* وهما من انتاج شركة BioMerieux الفرنسية. لقحت المسحات على اكار الدم وحضنت في درجة 37°م لمدة 24 ساعة لغرض تنقية ونمو الجراثيم المراد عزلها. نقلت المستعمرات النامية على وسط اكار الدم الى وسط الانتخابي اكار الملح وسكر المانيتول .تم تنقية العزلات المشكوكة بها عدة مرات للحصول على مزارع نقية [8]. اجريت الاختبارات الاولية كالتحلل الدموي واختبار الكتاليز و التجلط والنمو على وسط بيرد–باركر Baird-Parker medium من خلال انتاج الجراثيم الموجبة لخميرة التجلط مستعمرات سوداء اللون ومنتظمة الشكل[9 ,10] وكذلك النمو على وسط اكار فوكال وجوهنسون Vogal and Johnson agar وملاحظة ظهور مستعمرات صفراء محيطة بحافة سوداء .ولتشخيص عتر المكورات العنقودية المقاومة للمضاد الحيوي المثيسلين استخدمت العدة التشخيصية Slidex MRSA Kit وهي من انتاج شركة BioMerieux الفرنسية، تم فحص العينات فقط التي نمت على وسط اكار الاوكساسلين وحسب تعليمات العدة.

اجري اختبار الحساسية للمضادات الحيوية بطريقة الانتشار بالأقراص والتي تستخدم حالياً في معظم المختبرات الطبية العامة والخاصة وتهدف هذه الطريقة لمعرفة قطر منطقة التثبيط للنمو الجرثومي وقد اجريت ل15من المضادات الحيوية قيد الدراسة وحسب طريقة Kirby Bauer Disk المعدلة والموصوفة من قبل منظمة الصحة العالمية [11]. استخدم وسط اكار مولر–هنتون المجهز من الشركة HI-MEDIA. تم حضير معلق من الجراثيم الفتية مكافئ في عكارته 0.5 التي تعادل 1×5 خلية/ملم من انابيب ماكفرلاند القياسية وذلك بنقل 5.3 مستعمرة فتية ونقية الى انابيب حاوية على وسط Nutrient broth وحضنت الانابيب في درجة 35°م ولمدة 16–18 ساعة تم تثبيت عدد البكتريا بمقارنتها مع انابيب ماكفرلاند بعدها بغمر مسحة قطنية في المستخلص ونشرت على وسط اكار مولر–هنتون وتركت لمدة 15 دقيقة ليحصل التشرب والتخلص من الرطوبة الزائدة. بعدها تم توزيع اقراص المضادات الحيوية المجهزة من شركة Bioanalyse على سطح الوسط وحضنت الاطباق في درجة حرارة 35°م ولمدة 16–18 ساعة بعدها تم قياس قطر منطقة التثبيط لكل قرص ومقارنتها مع ما جاء في قياسات منظمة الصحة العالمية [11] .

النتائج والمناقشة

تم الحصول على 60 عزلة من جرثومة المكورات العنقودية القيحية بنسبة بلغت 10.8% من مجموع 455 مسحة جمعت من البيئة الانتاجية لمصنع ادوية نينوى و100% مسحة من مصادر بشرية بكادر المعامل في الانتاج والذين بتماس مع الادوية. بلغت عدد المسحات المأخوذة من قسم الحبوب (80)، قسم قطرات العيون (75)، قسم المراهم (35)، قسم الامبولات (45)، قسم المضادات (30)، عينات من الماء الخالي من الايونات الداخل في تحضير المستحضرات الدوائية (30)، قسم الشراب وقطرات الفم (10) والتي جمعت من ايدي الكادر العامل (30)، والانف والادرار ومن المستحضرات الدوائية وكانت على التوالي (30) مسحة، (50) مسحة و (17) عينة ادرار للمراجعين الى مختبر فحص الطبي بالاضافة الى (80) عينة لمستحضرات دوائية مختلفة لم يظهر فيها اي تلوث بكتيري ما عدا عينات ظهر فيها تلوث لانواع بكتريا سالبة لصبغة كرام كما موضح في الجدول –1– .

الجدول (1): نسب عزل جرثومة المكورات العنقودية الذهبية من بيئة الانتاج لمصنع ادوية نينوى ومن انوف وايدي الكادر العامل في انتاج المستحضرات الدوائية.

العينات		عدد العزلات والنسب المئوية للمكورات العنقودية القيحية %	
نوع المسحات	عدد المسحات		
بيئة الانتاج	435	20	4.3
انوف	60	40	40
الايدي	40	20	20
الادرار	17 عينة	0	Zero
مستحضرات دوائية	80 عينة	0	Zero

فكانت نسب العزل بالنسبة لبيئة الانتاج ولكادر المعامل في الانتاج (10.8)% حيث نسبة العزل للبيئة الانتاجية 4.3% ومن الكادر العامل 40%. بعد زراعة العينات على وسط اكار الدم ظهرت بشكل مستعمرات دائرية محدبة ملساء لماعة باقطار تراوحت 2–3 ملم وسبب بعض عزلاتها تحلل كامل للدم β-hemolysis. نقلت الى وسط سكر المانيتول والملح وانتخبت المستعمرات التي لها القدرة على تخمر سكر المانيتول والتي غيرت لون الوسط الى الاصفر واجري لها اختبار التحري الاولي لجنس المكورات العنقودية كصبغها بصبغة كرام والكشف عن انزيم الكتاليز وانزيم التجلط وانزيم الاكسدة. والجدول (2) يوضح نتائج هذه الفحوصات.

الجدول (2): اختبارات التحري الاولي عن المكورات العنقودية الذهبية

العينة	عدد العينات	وسط المانيتول		انزيم التجلط		انزيم الاكسدة	
		+ve	-ve	+ve	-ve	+ve	-ve
البيئة الانتاجية	15	35	80	25	4	3	23
مسحات الانف والايدي	100	70	30	50	15	15	50

الصورة (1): مستعمرات جرثومة المكورات العنقودية الذهبية على وسط اكار سكر المانيتول والملح

اتضحت افراد جنس المكورات العنقودية بكونها موجبة لفحص الكتاليز تميزها عن المكورات السبحية Streptococci [12]. انتخبت العزلات الموجبة للاختبارات الاولية وكانت (23) عزلة من البيئة الانتاجية و (50) عزلة لانوف الكادر العامل وكانت جميعها موجبة لانزيم الكتاليز وانزيم التجلط وسالبة لانزيم الاوكسديز. وللتأكد تم اعتماد الاختبارات الكيموحيوية الاخرى منها اختبار التحلل الدموي وقدرة الجرثومة على انتاج انزيم تحلل البروتين وانزيم الامايليز .

الجدول (3): الاختبارات الكيموحيوية للعزلات المنتخبة من المكورات العنقودية الذهبية

نوع العينة	عدد العينات	تحلل دموي		Protease		API	
		b	a	+	−	*Staph. Aureus*	Other
بيئة	23	21	2	20	1	20	3
الانوف	50	44	6	40	4	40	10

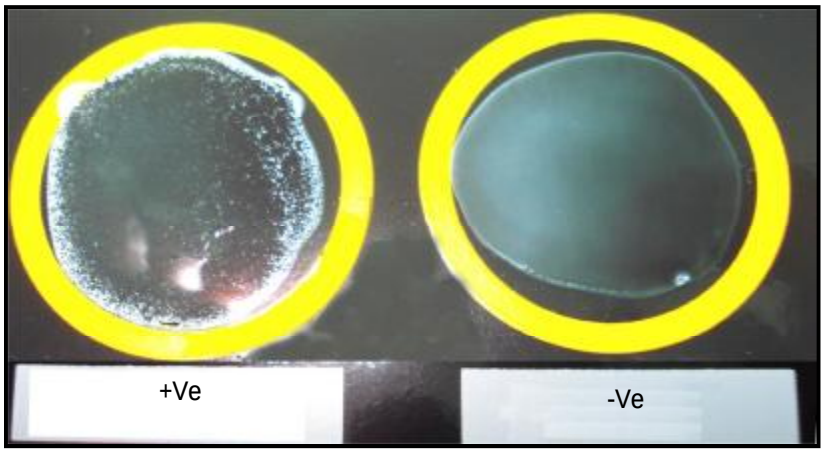
اختبرت قدرة العزلات على انتاج انزيم تحلل البروتين (البروتيز) واظهرت النتائج (20) من عزلات البيئة الانتاجية و (40) عزلة من انوف العمال منتجة للانزيم بدلالة ظهور هالة حول المستعمرة نتيجة فعل الانزيم باستخدام اكار الحليب كما استخدم وسط اكار النشا للكشف عن انتاج انزيم الامايليز بدلالة ظهور لون ازرق غامق حول المستعمرة بعد اضافة لوجل ايودين ونسبة (33%)، (60%) لكل من نسبة الانتاج ومن الكادر العامل على التوالي، تم التحري عن انتاج انزيم الليسيثيز واللايبيز من قبل عزلات بكتريا Staphylococcus. اظهرت نتائج الكشف ان (60) عزلة من *Staph. aureus*.اظهرت قابلية لانتاج الانزيمات اعلاه اذ ظهرت مناطق زرقاء مخضرة حول المستعمرات النامية على وسط اكار البيض واستخدام محلول كبريتات النحاس المشبع. تم فحص هذه العزلات بشريط العدة التشخيصية للمكورات العنقودية ومعرفة تسلسلها الحيوي والتأكد من انها عائدة الى نوع المكورات العنقودية القيحية *Staph. aureus*.

اما لتشخيص عتر المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمضاد الحيوي المثيلين بتقنية العدة التشخيصية لاختبار التلازن بالشريحة Slid MRSA Detection Kit اخذت المستعمرات النقية لأنواع المكورات العنقودية القيحية والتي تم تأكيدها بتقنية العدة التشخيصية لشريط المكورات العنقودية، وزعت على وسط اكار الاوكساسلين اذ كانت نسبة نموها على هذا الوسط (25)% من بيئة الانتاج و (55)% من كادر العامل موزعة. كما موضح في الجدول (4).

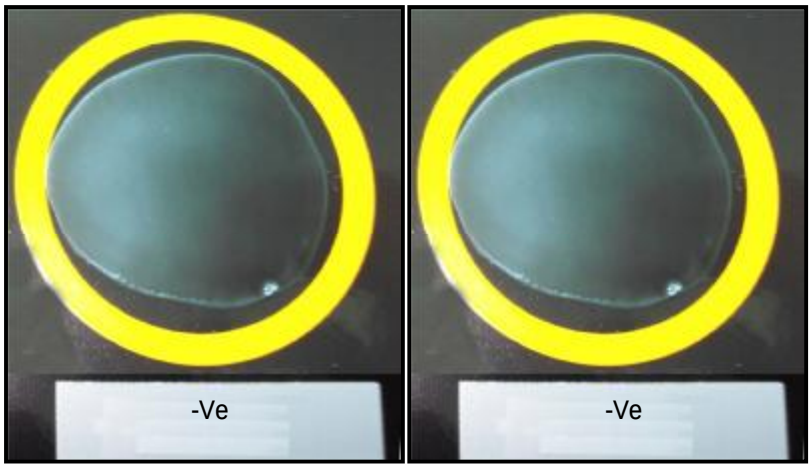
الجدول (4): نسب المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمشيلين قيد الدراسة

نوع العينة حسب الموقع	عدد المكورات	MRSA	%MRSA	الحساسة MSSA	%MSSA	CONS	%CONS
الشراب	7	2	10	4	20	1	14
مراهم	1	0	0	1	100	0	0
مضادات	4	2	10	2	10	0	0
الحبوب	5	1	5	1	50	3	60
ماء اللايوني	3	0	0	1	33	2	60
الانف	35	11	50	9	40	−	−
الادرار	1	0	0	1	100	−	−
الايدي	4	0	0	1	100	−	−

عزلات CONS السالبة لانزيم التجلط من نوع نوع *Staph. xylosa* و *Staph. hominis* و *Staph. schleifer* نسبة 30%



(1)



(2)

الصورة (2): اختبار التلازن بالشريحة للعتر المقاومة للمشلين.

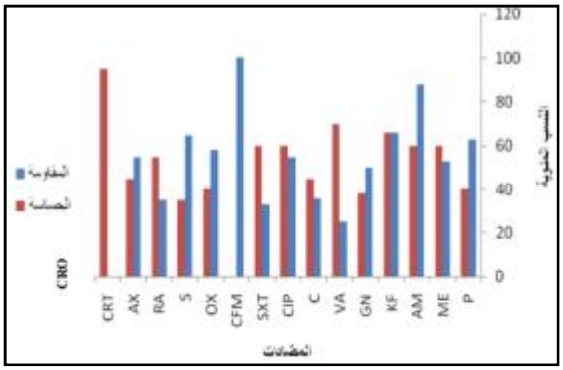
(1) النتيجة موجبة. **(2) النتيجة سالبة.**

اختبار حساسية المكورات العنقودية القيحية للمضادات الحيوية

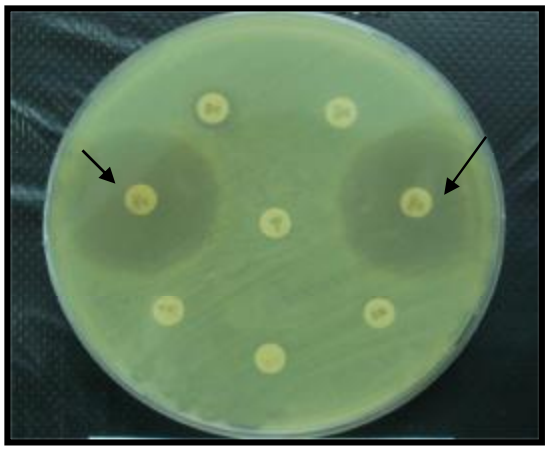
اختبرت حساسية العزلات الجرثومية قيد الدراسة والبالغ عددها (60) عزلة تابعة للنوع *Staph.aureus* وتم تحديد قطر منطقة التثبيط بالاعتماد على قياسات منظمة الصحة العالمية (Vandepitte *et al.*, 2003). اظهرت نتائج الاختبار المبين في الشكل (1–) تفاوت قدرة الجراثيم على المقاومة للمضادات الحيوية. اذ كانت اعلى نسبة مقاومة للمضاد Cefixime CFM5 بنسبة 100%، بينما اقل نسبة مقاومة كانت للمضاد الحيوي سيفيتراكسون CRO30 قدرت 0.0% فضلا عن حساسية الجرثومة له اذ قدرت بـ 95.5%، يلي مضاد Cefixime CFM5 من حيث المقاومة المضاد اوكسين تتر سايكلين بـ 78.8% .

الجدول (5): النسب النسبة المئوية لافراد *Staph. aureus* المقاومة للمضادات الحيوية قيد الاستعمال

المضاد	التركيز Mg/ml	عدد عزلات *Staph. aureus*	النسبة المئوية
P10	10I.U	38	63
ME5	5	32	53
AM10	10	53	88
KF30	30	40	66
GN10	10	31	50
VA30	30	15	25
C30	30	22	36
CIP5	5	33	55
SXT	1.35	20	33
CFM	5	60	100
OX	1	34	58
S	10	39	65
RA	5	27	35
AX25	25	33	55
CRO30	30	0	0



الشكل (1–): نسب افراد المكورات العنقودية المقاومة والمتوسطة والحساسة لانواع مختلفة من المضادات الحيوية المستخدمة في اختبار حساسية الجرثومة.



الصورة (3): حساسية ومقاومة المكورات العنقودية للمضادات الحيوية المختلفة اذ تظهر حساسيتها تجاه المضادين الحيويين Cefixime ,Cefitrizone

ان البحوث والدراسات في مجال عزل المكورات العنقودية المقاومة للمشيلين MRSA من بيئة تتم فيها صناعة الادوية والمضادات

الحيوية قليلة في بلدنا مقارنة مع البحوث والدراسات التي اجريت في بيئة المستشفيات باعتبارها المسبب الرئيسي لعدوى التي عرفت بعدوى المستشفيات بنسبة 30% وان حوالي 9% من المرضى يحملون هذه الجرثومة في مقدمة المنخرين. تلعب بكتريا *Staph.aureus* دوراً في احداث العدوى لذا من الضروري تشخيصها بسرعة وذلك للسيطرة عليها والحد من انتشارها والتحري ايضاً عن قدرة جرثومة المكورات العنقودية القيحية المقاومة للمضاد الحيوي المشيلين مما له اهمية في مجال الصحة لتأثيراته الممرضة [13].

اظهرت نتائج الدراسة ان نسب عزل جرثومة المكورات العنقودية القيحية *Staphylococcus aureus* من بيئة الانتاج لمصنع ادوية نينوى كانت 4.3% ومن العاملين 40% وكانت نسبة العزل من انوف الكادر والايدي تقارب تقريباً نسبة العزل للباحث El-Jakee وجماعته حيث سجل نسبة عزل المكورات العنقودية القيحية من الانسان 36% اي كانت اقل من النسبة التي ظهرت الدراسة حيث استخدم الباحث الطرق التقليدية والمظهرية والكيموحيوية [14].

اشار Bokarou وجماعته[15] الى عزل الجراثيم من التجويف الانفي بنسبة 44% وهي تقارب نتائج الدراسة لكون هذا النوع يتواجد في التجويف الانفي والجلد والانسجة المخاطية اذ تكون انتهازية لذا فان اي خلل يحدث نتيجة لاصابة فايروسية او ضعف المناعة قد تشجع الجراثيم على احداث الاصابة.

اما نسبة عزل جرثومة المكورات القيحية من بيئة الانتاج في الدراسة التي شملت الارضيات والجدران والمكائن والهواء كانت 4.3 وهي نسبة قليلة لو قورنت بيئة المستشفيات ويعزى هذا الاختلاف الى عمليات التعقيم المتكررة واليومية للارضيات والجدران واستخدام المعقمات للهواء كالفورمالين والاشعة فوق البنفسجية باعتبار الهواء والغبار له دور كبير في انتشار الجرثومة واستقرارها في الارضيات والشقوق والجدران. تم التحري الاولي عن العينات التي تم الحصول عليها من بيئة الانتاج وعينات الادوية والعاملين فيها من مصنع ادوية نينوى من خلال تشخيص العينات بشكل تراكمي اي تم اخذ العينات التي غيرت لون الوسط سكر المانيتول والملح الى اللون الاصفر وبملاحظة الجدول (2) تم اختبارها بالطرائق الكيموحيوية الاولية مثل صبغها بصبغة كرام وتم اخذ الموجبة للصبغة وتحديد الصفات الشكلية تحت المجهر واختبار قدرتها على انتاج انزيم الكتاليز وانزيم التجلط وانزيم الاكسدة وظهرت هذه النتائج مطابقة للباحث شيت وجماعته اذ استخدم الطريقة نفسها لتحديد جنس المكورات العنقودية بشكل اولي (شيت وجماعة، 2009). وبعدها تم التعامل مع العينة بطريقة زرع على اكار الدم لتحري الاولي واختبار قدرة الجرثومة على انتاج انزيم التجلط [15,12]. ثم اخذت العينات التي اعطت نتيجة موجبة بانها من جنس المكورات العنقودية ثم اختبرت بالاختبارات النهائية لتحديد نوعها *Staph. aureus* منها اختبار التحلل الدموي، وقدرتها على انتاج انزيم البروتيز وقدرتها ايضا على انتاج انزيم الامايليز وجاءت مطابقة لنتائج الفحوصات الكيموحيوية للباحث [16]. واخيرا الاختبار التأكيدي النهائي بالعدة التشخيصية API Staph. لتحديد النوع الحيوي Biotype وللتأكد من انها جرثومة المكورات العنقودية القيحية وتم ايضاً مقارنة النوع الحيوي العتر التي تم عزلها من بيئة الانتاج ومن مسحات من انوف العاملين فوجد ان هناك خمس عزلات متشابهة يتسلل النوع الحيوي مما يدل على ان مصدر هذه العزلات هو الانسان[17]. وهذه اتفقت مع نتائج الباحث Pinto وجماعته[18] عندما اكدو عزل جرثومة بطريقة API Staph وتحديد النوع الحيوي عن طريق الملتقم البكتري بان هناك انواعاً من العزلات المعزولة من اللحوم مصدرها الانسان.

ثم تم اختبار العزلات بزرع جميع العتر الموجبة على بعض الاوساط الانتخابية والسبب هو الحصول على وسط يفيد بالتشخيص السريع لجنس المكورات العنقودية القيحية الموجبة والتعرف على اشكال تلك المستعمرات على هذه الاوساط منها فوكال جوهنسن اكار Vogal and Johanson Agar اذ ظهرت المستعمرات برتقالية اللون محاطة بحافة سوداء مما يدل على انها جرثومة المكورات العنقودية القيحية وهذا ما جاء به Mastura وجماعته[19]عندما اختبروا 19 عزلة من المكورات العنقودية الموجبة على هذا الوسط وملاحظة شكل ولون تلك المستعمرات (Mastura *et al.*, 2005). في حين تتميز مستعمرات المكورات العنقودية القيحية على الوسط الانتخابي بريد–باركر اكار Baird-Parker Agar وكانت النتيجة بانها اعطت مستعمرات سوداء منتظمة 100% ويعزى السبب الى وجود مادة توليرات البوتاسيوم في الوسط.

وجاءت النتائج مطابقة للباحث Captia وجماعته[20] حينما اختبروا وسط البريد–باركر اكار في عزل جرثومة من مختلفة الاغذية، واتفقت نتائجنا مع نتائج الباحثين Lancette و Tatini عندما استخدما الوسط البريد–باركر اكار ايضاً من مختلف الاغذية [21].

بعد تشخيص العزلات والتأكد منها تم اختبارها بالعدة التشخيصية لاختبار التلازن Slide MRSA Detection Kit للكشف عن العتر المقاومة للمضاد الحيوي المشيلين MRSA من خلال تنمية الجراثيم اولاً قبل الفحص على اكار الاوكساسلين وتم اختيار العينات التي نمت فقط على هذا الاكار فكانت نسب الجراثيم المقاومة ، للمضاد الحيوي الاوكساسلين 25% من 20 عزلة من بيئة الانتاج و 55% من 40 عزلة لعزلات العمال مقاومة والباقي حساسة. الجدول (5) يوضح نتائج تلك الاختبارات.

لو قورنت نتائج الدراسة مع الباحث Alkamo , Heymann [22] اشار الى عزل المكورات العنقودية المقاومة للاوكساسلين Oxacillin في مستشفى برازيل 19.9% ومن بيئة المستشفى 66%. كما اشار Alkamo , Heymann [23] الى مقاومة *Staph.aureus* للمضاد الحيوي اوكساسلين 69.8% من بيئة مستشفى البرازيل. واكدت دراسة اشواق [24] عزل 30% من بيئة مستشفى الموصل واختلاف النتائج يعود الى اختلاف مواقع اخذ العينات مقارنة مع بيئة لصنع الادوية واختلاف طرائق التشخيص.

ثم بعد ذلك تم اختيار العينات بالعدة التشخيصية للمشيلين فوجد ان 22% هي مقاومة والباقي حساسة من بيئة الانتاج ومن انوف الكادر العامل في بيئة الانتاج 50% مقاومة والباقي حساسة. والجدول (3) يوضح نتائج تلك الاختبارات.

تشير معظم البحوث الى ان الجرثومة المقاومة للمشيلين يمكن ان تنقل من العمال العاملين بشكل مباشر الى البيئة اي ممكن ان يكون الانسان مصدر لهذه الجراثيم كما اشار اليها الباحث البنا [25] وسبب زيادة النسب من بيئة المستشفى مقارنة بنتائجنا يعود الى عدم كفاءة تعقيم الادوات الطبية وايدي الكادر الطبي قبل فحص المرضى يؤدي الى انتقال العدوى من مريض الى آخر او الى المحيط حيث تصبح البيئة مرتعاً خصباً للنمو والانتشار وزيادة سلالات المقاومة للمضادات الحيوية.

تم اختبار العتر المكورات العنقودية الذهبية التي نمت فقط على اكار الاوكساسلين من (20) عزلة نمت على هذا الاكار اما باختبار الحساسية للمضاد الحيوي المشيلين وجد (5) عينة قاومت المضاد في حين وجد في اختبار الشريحة ان العينة من (40) عينة التي اختبرها هي مقاومة للمضاد الحيوي المشيلين. يستنتج من خلال النتائج التي ظهرت ان اختبار الشريحة هو اكثر دقة من بقية الاختبارات اذ ان اختبار الشريحة يعمل مباشرة على جين MecA-gene والذي يعد هو المسؤول على انتاج خميرة البيتا–لاكتاميز المقاومة للمضاد الحيوي الميثسيلين داخل جرثومة المكورات العنقودية الذهبية [28]. وقد جاءت هذه التنائج متفقة مع ما ذكره Bhumia [25] اذ اشار الى قدرة غالبية انواع جنس المكورات العنقودية على انتاج انزيمات البيتا–لاكتاميز التي تحطم مضادات البيا–لاكتام، ان المكورات العنقودية وخاصة *Staph.aureus* تقاوم مضادات البنسلينات بانتاجها انزيمات البيتا–لاكتاميز، اذ اوضحت دراسة الجبوري[26] الى قدرة البكتريا الموجبة لصبغة كرام على انتاج انزيمات البيتا–لاكتاميز وخاصة *Staph.aureus* وبنسبة(95.7%). واشارت دراسة الدليمي [27] الى قدرة جرثومة *Staph.aureus* على انتاج انزيمات البيتا–لاكتام بنسبة 93.7% من العينات السريرية، واوضحت دراسة الى امتلاك اكثر من 90% من سلالات المكورات العنقودية والمعزولة من العينات السريرية والبيئية انزيمات البيتا–لاكتاميز[25]. وقد اشارت الدراسة الى ثلاث طرق لتحديد العزلات المنتجة للانزيمات البيتا–لاكتاميز وهي الطريقة الحامضية وطريقة الانبوب الايودية وطريقة البقعة الايودية[23].

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان طريقة الشريحة بالعدة التشخيصية اكفأ الطرائق من ناحية الدقة والسهولة اذ من الممكن الكشف عن وجود الانزيم بعزل الجين MecA-gene مما يوفر الوقت والجهد وبشكل سريع ليعطي دليلاً مبكراً للمختصين على كفاءة المضاد في العلاج، والاهم من ذلك تجنب استخدام المضادات الحساسة لهذه الانزيمات البيتا–لاكتاميز كأخذ الاختبارات الروتينية على العزلات المرضية. واوضح البنا [25] ان طريقة الشريحة باستخدام العدة التشخيصية هي افضل طريقة في الكشف عن السلالات المنتجة لانزيمات البيتا–لاكتاميز.

اظهرت نتائجنا اختبار حساسية الجرثومة لمختلف المضادات الحيوية قيد الدراسة وكما ذكرت في المواد وطرائق العمل، وسجلت اعلى نسبة حساسية للمضاد الحيوي CRO30 95% ثم يليه VA30 70% ثم سيفلاثان 60%، اما ME5 و AX5 فتراوحت نسبة التثبيط 50%، اما CIP5 45%، اما SXT1.3 و C30 و GN10 نسبة التثبيط 40%، اما اقل نسبة سجلت P10 20%، اما بالنسبة للمقاومة اعلى نسبة سجلت للمضاد CFM C30 كانت 100%، ويليه AX5 75% ثم يليه GN10، P10، C30 فكانت المقاومة 45%، اما CIP5، SXT1.3 و ME5 30%، اما اقل نسبة مقاومة سجلت للمضاد الحيوي يليه CRO30 7.1% ثم P10 و VA30 15% اما المكورات العنقودية القيحية المتوسطة فان البنسلين ظهر اعلى نسبة 60% اما بقية المضادات 4%–25%.

جاءت نتائجنا مطابقة لنتائج الباحث Palmer وجماعته [29] عندما استخدموا CRO30 لفحص الحساسية فوجدوا انه ثبط نمو جراثيم المكورات العنقودية القيحية حيث كانت نسبة 99%.

ومطابقة للباحث البنا [23]، اما الباحث Vinodhkumar-adithyoa وجماعته[30] فقد اختبروا MRSA وحساسيتها لبعض المضادات كانت 44.4% ثم GN10 و CIP5 20%، اما اقل نسبة حساسية للمضاد الحيوي ER هو 14.3%.[30].

لو قورنت بالنتائج التي ظهرت لدينا لوجد انها تختلف في حساسية الجرثومة لمضادات ومتطابقة بنسب لبعض المضادات الاخرى ويعود السبب الاستخدام الواسع للمضادات بالاضافة الى الاختلافات النسبية التي تحدث بين انواع العزلات المختلفة للجرثومة [31].

المصادر

1. Kitai, S.; Shimizu, A.; Kawano, J.; Sato, E.; Nakano, C.; Uji, T. and Kitagawa, H. (2005). Characterization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolated from retail raw chicken meat in Japan. J. Vet. Med. Sci., 67(1), 107-110.

2. Hotchkiss, J.R.; Holley, P.and Crooke,P.S. (2007).Analyzing pathogen transmission in the dialysis Unit.Clin.J.Am.Soc.Nephrol.,2:1176-85.

3. Le loir, Y.; Baron, F. and Gautier, M. (2003). Staphylococcus aureus and food poisoning. Genetics and Molecular Research, 2(1): 63-76.

4. Kilic, S.; Kuplulu, O. (2009). Detection the enterotoxin producing capacity of coagulase positive Staphylococcus by EIA (Enzyme Immuno Assay) isolated from turkey meat. Ankara Üni. Vet. Fak. Derg., 56, 183, 186.

5. Elsner, H.A.; Sobottka, I.; Mack, D.; Claussen, Laufs, R. and Wirth, R. (2000). Virulence factors of

Enterococcus faecalis & *E.faecium* blood culture isolates. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 19:39-42.

6. Monica Cheesbrogh, (2000, 2006). District Laboratory Practice in Tropical Countries.

7. Lindquist, J.A. (2006). General Microbiology – A LaboratoryManual, 4th edition, McGraw-Hill/Primis Custom Publishing, ISBN0-07-339101-8.

8. Koneman, E.W.; Allan, S.D. and Janda, W.M. (2007). Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5th ed., J.B. Lippincott, Philadelphia.

9. Carter, G.R. and Cole, J.R.Jr. (1990). Diagnostic Procedures in Veterinary Bacteriology & Microbiology. 5th ed., Academic Press, Inc., Harcourt Brace Jovanovich Publishers, London, New York, pp.201-207.

10. Da Silva, W.P.; Destro, M.T.; Landgraf, M. and Franco, B.D.G.M. (2000). Biochemical characteristics of typical & atypical *Staphylococcus aureus* in mastitic milk & environmental samples of Brazilian diary farms. B.J. Microbiol., 3(2):103-106.

11. Vandepitte, J.; Verhaegen, J.; Engbaek, K.; Rohner, P.; Piot, P. and Heuck, C.C. (2003). Basic laboratory procedure in clinical bacteriology. 2nd ed. Word Health Organizetion, Geneva.

12. Brooks, G.F.; Carroll, K.C.; Butel, J.S. and Morse, S.A. (2010). Jawetz, Melinck, & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition. McGraw-Hill-Lange, New York, pp:140.

13. 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, 978-984.

14. El-Jakee, J.; Nagwa, A.S.; Bakry, M.; Zouelfakar, S.A.; Elgabry, E. and Gad El-Said, W.A. (2008). Characteristics of *Staphylococcus aureus* strains Isolated from Human and Animal Source, American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci., 4(2):221-229.

15. Bokarewa, M.I. ; Jin, T. and Tarkowski, A. (2006). *Staphylococcus aureus* staphylokinase. Int. J. Biochem. Cell Biol. 38, 504-509.

16. El-Safey, E.M. (2003). Microbiological quality of drinking water cooling system (water supplies) in some trains solid in Eygpt, second ment to Community College, King Saud University, Al-Majma'ah 11952.

17. Rodgers, J.D.; McCullagh, J.J.; McNamee, P.T.; Smyth, J.A. and Ball, H.J. (1999). Comparison of *Staphylococcus aureus* recovered from personnel in a poultry hatchery and in broiler parent farms with those isolated from skeletal disease in broilers. Vet. Microbiol., 69(3): 189-98.

18. Pinto, B.; Chenoll, E. and Aznar, R. (2005). Identification and typing of food-borne *Staphylococcus aureus* by PCR-based techniques, Burjassot, Valencia, Spain, Apartado de Correos, 73, E-46100.

19. Mastura, M.; Saiful Azmi, M.J.; Nurhanan Murni, Y. and Mazurah, M.I. (2005). Susceptibility profile of 16 Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) clinical isolates against major antibiotics. Forest Research Institute Malaysia (FRIM), 55109.

20. Captia, R.; Alonso-Calleja, C.; Moreno, B. and Carcia-Fernández, M.C. (2001). Assessment of Baird-Parker Agar as Screening Test for Determination of Staphylococcus aureus in Poultry Meat, the J. of Microbiology, p.321-325.

21. Lancette, G.A. and Tatini, S.R. (1992). *Staphylococcus aureus*, p.533-550. *In* C. Vanderzant and D.F. Splittstoesser (ed.), Examination of Foods. Amer. Publ. Hlth. Assoc., Washington, DC., 20005.

22. Alcamo, I.E. and Heymann, D. (2007). Antibiotic Resistant Bacteria. New York, NY 10001, 132 West 31st Street, pp:64-67.

23. Bhunia, A.K. (2008). Foodborn Microbial Pathogens, Mechanisms and Pathogenesis. Springer Science, Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA, pp:125.

24. اشواق حازم نجم عبدالله (2008). عزل وتشخيص المكورات العنقودية المقاومة للاوكزاسلين من عينات سريرية وبيئية من مستشفى الخنساء في مدينة الموصل.

25. البناء، ايمن محمد جبر فتحي (2009). استخلاص الذيفان المعوي للسلالات المشخصة من المكورات العنقودية الذهبية من لحوم بعض مجازر الدواجن والعاملين فيها. رسالة ماجستير، الطب البيطري، جامعة الموصل.

26. شيت، عمر والجبوري، اقبال والكناني، انتصار (2009). استخلاص ذيفان جرثومة المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من اللحوم المفرومة في مدينة الموصل. المجلة العراقية للعلوم البيطري، المجلد 23، العدد 1، (27–32).

27. الدليمي، محمد جياد (1997). دراسة بكتريولوجية ووراثية لعزلات المكورات العنقودية الذهبية ذات الاهمية الطبية. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد.

28. Quddoumi, S.; Bdour, S. and Mahasneh, A. (2006). Isolation and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from livestock and poultry meats. Annals. of Microbiology, 56, 155-161.

29. Palmer, S.M.; Kang, S.L.; Cappelletty, D. and Rybak, M.J. (1995). Bactericidal Killing Activities of Cefepime, Ceftazidime, Cefotaxime and Ceftriaxone against *Staphylococcus aureus* and b-Lactamase-producing strains of *Enterobacter aerogenes* and *Klebsiella*.

30. Vinodhkumaradithyaa, A.; Uma, A.; Srinivasan, M.; Ananthalakshmi, I.; Nallasivam, P. and Thirumalaikolundusubramanian, P. (2009). Nasal Carriage of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Among Surgical Unit Staff. Jpn. J. Infect. Dis., 62, 228-229.

Staphylococcus aureus strains isolated in the Republic of Georgia. Journal of Clinical Microbiology, p.3477-3483.

31. Revazishvili, T.; Bakanidze, L.; Gomelauri, T.; Zhgenti, E.; Chanturia, G.; Kekelidze, M.; Rajanna, C.; Kreger, A. and Sulakvelidze, A. (2006). Genetic background and antibiotic resistance of

Prevalence of Methicillin Resistance *Staphylococcus aureus* in Nineveh Drug Factory and its Workers

Jehan A.A Al-Brwari [1], Mohamad D. Khaled [2], Basima A.Abdullah[3]

[1] *Nenavah Drug Factory, Mosul, Iraq*
[2] *Blood Bank of Mosul, Mosul, Iraq*
[3] *Dept. Of Biology, College of Science, University of Mosul, Mosul, Iraq*

E-mail basimaaa138@yahoo.com

Abstract

The study was included *isolation &identification of Staphylococcus aureus* from noses, hands and urine from factory workers and from the pharmaceuticals and the environment (machines, preparations containers, filling, walls and the air of the halls) or different depts. in Nineveh drugs factory from of November/2010 to May/2011.The isolates were identified using biochemical, physiological and serological tests which show that the number of the isolates of the pyogenic Staphylococci was 60 *Staph. aureus*, Where the rate of isolates from the noses, hands and urine of the personnel were 40% whereas in the pharmaceuticals was 5% and in the production environment was 4.3%. other types have been isolated with less rates. The diagnosis kit of pyogenic Staphylococci (API Staph) for the final assurance of the isolates and to limit the biotype were used. Where a similarity in the bio serial number of some strains from human and animals sources has been found. The MRSA isolates were identified using the diagnosis kits (test slide MRSA) which was 25% in the environment and 55% in the noses and hands of the personnel working on the production environment. The results also showed that all personnel were sensitive to the antibiotic ceftotrixon, vancomycin and cefalothin and showed resistant against oxytetracycline, gentamycin, penicillin, chloramphenicol and cefixem CFM.