جامعــة الموصــل
كلية العلوم

انتشار سلالات جراثيم المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمضاد الحيوي الفانكومايسين وتأثير الليزر-CO_2 في هذه المقاومة

إسراء طه قاسم الجمعة

رسالة ماجستير
علوم الحياة/ أحياء مجهرية

بإشراف
الاستاذ المساعد
الدكتورة هيام عادل ابراهيم الطائي

1433هـ **2012م**

الخلاصة

عزلت المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* من الأشخاص قيد الدراسة من مستشفيات الزهراوي التعليمي, الخنساء التعليمي و ابن سينا التعليمي ومختبر الصحة العامة في مدينة الموصل من تموز 2010 إلى نيسان 2011.

جمعت (284) عينة شملت عينات من الإدرار والخراجات والحروق وصالات العمليات وعمال المطاعم في المستشفيات, وتم الحصول على (90) عزلة موجبة لجرثومة *Staph. aureus* بنسبة (32.8%) من العدد الكلي (274) للعينات التي أعطت نموا جرثومياً موجبا وبلغت أعلى نسبة عزل (100%) من عينات عمال المطاعم في المستشفيات في حين كانت اقل نسبة عزل (4.76%) من عينات الخراجات.

شخصت العزلات اعتمادا على الصفات الزرعية للمستعمرات والمظهرية والكيموحيوية والفسلجية لهذه المستعمرات الجرثومية, أظهرت جميع العزلات نتيجة موجبة لاختبارات TNase, Coagulase, Catalase, DNase كما أظهرت الجرثومة قدرتها على إنتاج بروتين A عند تشخيصها مصليا باستخدام محلول MASTASTAPH.

اختبرت حساسية الجرثومة للعديد من المضادات الحيوية قيد الدراسة وأظهرت حساسية عالية للمضاد الحيوي Ciprofloxacin بنسبة (84.4%) في حين كانت مقاومة لمضادات Amoxicillin, Ampicillin, Methicillin و Bacitracin بنسبة (100%) أعطت الجرثومة مقاومة للمضاد الحيوي الـ Vancomycin بنسبة (26.66%). كما درس الفعل التآزري بين المضادات الحيوية قيد الدراسة و اظهر المضاد الحيوي Ciprofloxacin قدرته على التآزر مع الكثير من المضادات كما أظهر المضاد الـ Vancomycin فعلا تآزرياً مع مجموعة مضادات البيتالاكتام والـ Ciprofloxacin.

استخدم اختبار أطباق التحري (Screeing plates test) المعتمد من قبل CDC في تحديد وتمييز سلالات *Staphylococcus aureus* Vancomycin Intermediate (VISA), *Staphylococcus aureus* Vancomycin Resistant (VRSA) وأعطت عزلات *Staph. aureus* نموا موجبا على أطباق هذا الاختبار بنسبة (64.4%).

حدد التركيز المثبط الأدنى Minimal Inhibitory Concentration (MIC) للعزلات قيد الدراسة ولوحظ بان أعلى نسبة للعزلات كانت عند التركيز (16 µg/ml) وبنسبة (24.44%)، بينما (3.33%) من العزلات كان الـMIC لها (128 µg/ml)، كما حدد التركيز القاتل الأدنى Minimal Bactericidal Concentration (MBC) ولوحظ بان

أعلى نسبة للعزلات كان عند التركيز (32 µg/ml) وبلغت (24.44%) واقل نسبة للعزلات كانت عند التركيز (256 µg/ml) وبلغت (3.33%)، اظهرت النتائج الحصول على سلالات VRSA, VISA, VSSA (35.6%) و(37.8%) و(26.6%) على التوالي باستخدام اختبار MIC.

أظهرت نتائج اختبار E والذي يعد من المقاييس الذهبية (Golden Standards) في تحديد السلالات الحساسة والمقاومة والمتوسطة المقاومة، تطابقا مع نتائج الـMIC.

أظهرت نتائج التغيرات الشكلية وجود اختلافات بين السلالات الحساسة للـ Vancomycin وهي *Staphylococcus aureus* Vancomycin Susceptible (VSSA) و سلالات VRSA, VISA اذ ظهرت مستعمرات سلالات VSSA صفراء اللون، أكبر حجماً وأسرع نمواً وأكثر قدرة على التحلل الدموي.

استخدمت طرائق عديدة من أجل تشخيص وتصنيف سلالات VRSA, VISA, VSSA وبينت النتائج أن أفضل طرائق التشخيص باستخدام القياسات الذهبية MIC و اختبار E واوضحت النتائج عدم كفاءة طريقة الانتشار بالأقراص في تحديد سلالات VISAإذ تصنف بهذه الأخيرة خطأ على أنهاVSSA.

واعتمدت المعايير الدولية المستخدمة من قبل NCCLS, CDC, BSAC, CA-SFM, CLSI في تصنيف سلالاتنا المحلية وكان التصنيف المقدم من قبل NCCLS أفضل تصنيف في تشخيص سلالاتVISA, VSSA, VRSA.

استخدمت تقانات فيزيائية مثل حيود الأشعة السينية والليزر لدراسة تأثيرها على حساسية ومقاومة سلالات VRSA, VSSA وأوضحت نتائج حيود الأشعة السينية وجود اختلافات في الجدار الخلوي ما بين السلالات المقاومة والحساسة, بينما أعطت نتائج الليزر تأثيرا قاتلا لسلالات VSSA(بنسبة 100%) خلال (10-60) ثانية من التعريض, وكان قاتلا لسلالات VRSA في زمن التعريض (20ثانية) وأخذت مستعمراتها بالنمو وبأعداد متزايدة بزيادة زمن التعرض لأشعة الليزر كما تحولت سلالاتVRSA إلى VSSA.

University of Mosul
College of Science

Prevalence of Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus* and the Effect of Laser-CO_2 on this Resistance

Israa T. Q. Al-Jumm'a

Master Thesis
in
Biology/Microbiology

Supervised by

Asst. Prof.

Dr.Hiyam A. I. Al-Taee

2012 A.D. **1433 A.H**

Abstract

The *Staphylococcus aureus* have been isolated from individuals under study in Al-Zahrawi, Al-Khansaa, and Ibn-Sina teaching Hospitals and General Health Lab in Nineveh from July 2010 –April 2011.

The samples (284) were collected, included urine, abscess, burns, operation halls, kitchen staff in hospitals. The positive isolates (90) of *Staph.aureus* were managed with rate (%32.8) of total samples 274 that showed positive bacterial growth, the higher isolates rate has recorded (%100) of kitchen staff, while the lowest rate of isolate was (%4.76) of abscess samples.

The isolates were diagnosed according the cultural, morphological, biochemical and physiological properties of this type of Bactria. All isolates has shown a positive result of TNase, Coagulase, Catalase, DNase. The bacteria has also shown the ability of generating protein A during serological diagnosis using (MASTASTAPH).

The bacterial sensitivity were tested for several antibiotics under study, the bacteria also showed higher sensitivity to the antibiotic Ciprofloxacin, (%84.4) while the resistant to the antibiotic s Bacitracin, Methicillin, Ampicillin, Amoxicillin (%100). The bacteria were given resistant to the antibiotic Vancomycin (%26.66). The synergism action between the antibiotics under study showed the ability of Ciprofloxacin to synergism with many antibiotics. Vancomycin has also showed synergism with β-lactame group and Ciprofloxacin.

Screening plates test (powered by CDC) was used in specifying and recognizing the Vancomycin Intermediate *Staphylococcus aureus* (VISA), Vancomycin Resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA). Isolates *S. aureus* managed a positive growth on the plates of this test (%64.4).

Minimal Inhibitory Concentration (MIC) has been identified for isolates under discussion, and noted that the higher percentage of isolates was in the concentration (16 µg/ml) and (%24.44), while (%3.33) of isolates was MIC (128µg/ml), the Minimal Bactericidal Concentration (MBC), noted that the higher percentage of isolates was (32µg/ml) during concentration and reached (%24.44) and lower percentage of isolates (256µg/ml) during concentration reached (%3.33), and the results showed VSSA, VISA, VRSA straines (35.6%), (37.8%), (26.6%) on respectively.

The results of E test which used for the first time in Iraq, that can constitute the golden standers in specifying the sensitive strain, resistant, intermediate resistance in accordance with MIC

The morphological changes have shown differences between Vancomycin Susceptible *Staphylococcus aureus* (VSSA) and (VRSA, VISA). The colonies of (VSSA) yellow color, large size, quick growth, more ability to hemolysis.

Many methods have been used to diagnose and specify the VSSA, VISA, VRSA, the results showed that the best methods of diagnosis is by golden standards (E test, MIC). The results showed inefficiency of disk diffusion test to specify VISA, so it is incorrect classified as VSSA.

The world standards used by (NCCLS, CDC, BSAC, CA- SFM, CLSI) to specify the local strains, the technologies of NCCLS was better one to diagnose the VISA, VSSA, VRSA.

The physical techniques were use such as the X ray diffraction, LASER to study the sensitivity and resistance of VRSA, VSSA strains and the results showed the X ray diffractions that there are differences in the cell wall between the resistant and sensitive strains.

While, LASER results showed a cidal effect on VSSA strains (%100) during (10-60 sec.), and cidal for VRSA strains in time 20 sec. and the colonies were growing largely with the increase of the exposure time to LASER, and the strains VRSA changed to VSSA.