دراسة عوامل الفوعة والاستجابة للمضادات

الجرثومية في المكورات المعوية المعزولة من المرضى

رسالة مقدمة إلى

مجلس كلية التربية – جامعة ديالى

وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في

علوم الحياة / الإحياء المهجرية

من قبل

زينب حسين مهدي العزاوي

بإشراف

الأستاذ الدكتور | المدرس الدكتور

عباس عبود فرحان الدليمي | عبد الرزاق شفيق حسن ألجميلي

1428 هـ | 2008 م

بسم الله الرحمن الرحيم

﴿ وَإِذَا مَرِضْتُ فَهُوَ يَشْفِينِ ﴾

صدق الله العظيم

سورة الشعراء الآية (80)

الإهداء

إلى من خلقني بأحسن تقويم ....رب العالمين

إلى نور الهدى وخير البرية.... سيدنا محمد (ص)

إلى سندي في الحياة .... أبـــــي

إلى نبع الحنان ... أمـــــي

إلى الشباب المتجدد بالأمل... أخي علي

إلى رفيقة دربي وبسمة أيامي ... أختي هادية

إلى أرواح الأبرياء من أبناء وطني ...

إلى كل من يهمهُ نجاحي ...و سندني ولو بكلمة

الباحثة

الشكر والثناء

ورد في الأثر انه قيل " من لم يشكر الله، لم يشكر الناس "
فلك الحمد على حسن صنيعك بي وسبوغ نعمك وجزيل عطائك حمدا يكون وصلة لطاعتك وعفوك وسببا لرضائك

يطيب لي ان أتوجه بخالص شكري وتقديري إلى أستاذيَّ الفاضلين الدكتور عباس عبود الدليمي والدكتور عبد الرزاق شفيق الجميلي لاقتراحهما موضوع البحث ومتابعتهما ودعمهما المستمر لي طيلة مدة الدراسة.

وأتقدم بالشكر الجزيل إلى عمادة كلية التربية / جامعة ديالى والى كافة أساتذة قسم علوم الحياة على ماابدوه من اهتمام على إتمام الدراسة.
عميق شكري وعرفاني بالجميل إلى إدارة ومنتسبي مستشفى البتول للولادة والأطفال ومستشفى بعقوبة العام وبالأخص العاملين في الوحدات المختبرية لما قدموه لي من إرشادات وتسهيلات وتوجيهات قيمة فلهم مني كل الشكر .

أجمل عبارة شكر أقدمها لأهلي الذين كانوا سندا وعونا لي بعد رب العزة طيلة حياتي جزأهم الله عني خير الجزاء.
وأخيرا لايفوتني أن اشكر كل زملاء الرحلة ورفاق الدرب ، ومن لم يحضرني اسمه ، او سها عنه قلمي ، فله الشكر مني مرتين
وفق الله الجميع لما يحبه ويرضاه

الباحثة

إقرار المشرفين

نشهد أن إعداد هذه الرسالة قد تم بإشرافنا في قسم علوم الحياة / كلية التربية / جامعة ديالى وهي جزء من متطلبات نيل درجة الماجستير في علوم الحياة / الإحياء المجهرية .

التوقيع:
المشرف
أ.د.عباس عبود فرحان الدليمي
المرتبة العلمية: أستاذ
كلية التربية / جامعة ديالى
التاريخ/ / / 2007

التوقيع :
المشرف
م. د.عبد الرزاق شفيق حسن الجميلي
المرتبة العلمية: مدرس
كلية الطب / جامعة ديالى
التاريخ / / / 2007

بناءا على توصية المشرفين نرشح هذه الرسالة للمناقشة

التوقيع :
الاسم : د. عباس عبود فرحان الدليمي
المرتبة العلمية: أستاذ
رئيس لجنة الدراسات العليا
رئيس قسم علوم الحياة
التاريخ : / / / 2007

قرار لجنة المناقشة

نشهد إننا أعضاء لجنة المناقشة اطلعنا على هذه الدراسة الموسومة ((دراسة عوامل الفوعة والحساسية الدوائية في المكورات المعوية المعزولة من المرضى)) وقد ناقشنا الطالبة زينب حسين مهدي العزاوي في محتوياتها وفيما له علاقة بها ونعتقد بأنها جديرة بالقبول لنيل درجة الماجستير في علوم الحياة / أحياء مجهريه بتقدير (أمتياز).

رئيس اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. كريم ابراهيم مبارك

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

المعهد التقني / بعقوبة / هيئة التعليم التقني

التاريخ : / / 2007

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم : د. عدنان نعمة عبد الرضا

المرتبة العلمية : استاذ مساعد

كلية التربية / جامعة ديالى

التاريخ/ / / 2007

عضو اللجنة

التوقيع :

الاسم: د. محمد خليفة العزاوي

المرتبة العلمية : مدرس

كلية العلوم / جامعة ديالى

التاريخ / / / 2007

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :

الاسم :د.عباس عبود فرحان الدليمي

كلية التربية / جامعة ديالى

المرتبة العلمية : استاذ

التاريخ/ / / 2007

عضو اللجنة (المشرف)

التوقيع :

الاسم : د.عبد الرزاق شفيق حسن الجميلي

كلية الطب / جامعة ديالى

المرتبة العلمية : مدرس

التاريخ / / / 2007

مصادقة عمادة كلية التربية

التوقيع :

الاسم : د. عدنان محمود المهداوي

المرتبة العلمية : أستاذ مساعد

التاريخ : / / 2007

الخلاصة

اجريت هذه الدراسة خلال المدة من 9/1 /2005 الى 30 /9 / 2006 في مستشفى البتول للولادة والاطفال ومستشفى بعقوبة العام في مدينة بعقوبة، وذلك بهدف عزل وتشخيص جراثيم المكورات المعوية من نماذج مرضية مختلفة، ومعرفة النوع السائد منها، وتحديد بعض عوامل الفوعة التي تمتلكها هذه الجراثيم وتاثيرها على حساسيتها الدوائية تجاه بعض المضادات الجرثومية.

جمعت خلال مدة الدراسة (343) عينة مرضية من المرضى الراقدين(231) والوافدين(130) الذين يعانون من اخماج مرضية مختلفة، تم خلال الدراسة تشخيص (44) عزلة لجراثيم المكورات المعوية بنسبة (12.8%) من جميع النماذج المرضية توزعت الى 17 (17%) من الادرار، 10 (55.5%) من البراز، 4 (16%) من المسحات المهبلية، 3 (5%) من مسحات اللوزتين، ، ،3 (8.3%) من مسحات الحروق، 2 (10%) من زرع الدم، 2 (7.7%) من مسحات الاذن الوسطى، 1 (9.1%) من مسحات الجروح ، 1 (3.6%) من القشع ، 1(5.3%) من سائل النخاع الشوكي. (200) عينة كانت من الاناث (58.3%) ، و(143) عينة من الذكور (41.7%)، وكان الوسط الحسابي للاعمار (17.2±32.8) سنة .

بينت الدراسة ان النوع *Enterococcus faecalis* هو من اكثر الانواع شيوعا في الاصابات المرضية الناتجة عن هذا الجنس اذ تم الحصول على 30 عزلة (68.2%) تعود لهذا النوع ويليه النوع *Enterococcus faecium* بنسبة 10 (22.7%) ثم النوعان *Enterococcus. gallinarium* و *Enterococcus avium* بنسبة 3 (6.8%) و 1 (2.3%) على التوالي .كما اظهرت النتائج عدم وجود علاقة بين الاصابة بهذه الانواع وبين جنس المرضى (P=0.52) ، وعمر المرضى (P=0.13) ، ونوعية المرضى (P=0.4) .

شملت هذه الدراسة الاستدلال عن بعض صفات عزلات المكورات المعوية والتي تعد من عوامل فوعتها التي تؤدي دورا مهما في امراضيتها .اذ تم الكشف عن قابلية تلك العزلات على انتاج الانزيم الحال للدم (الهيمولايسين) اذ كانت معظم العزلات منتجة

للانـزيم مـن نـوع كامـا 22 (50%) فـي حـين كانـت 10 (22.7%) عزلات منتجة لنوع الفا، و 12 (27.3%) منها منتجة لنوع بيتا .

اما امتلاكها للصفات الاخرى فقد اظهرت 31(70.5%) من العزلات قابليتها على انتـاج الجلاتينيـز ،32 (72.7%) انتـاج البتالاكتـاز ، 34 (77.3%) تكـوين الغشـاء الحيـوي ، 33 (75%) قابليتهـا علـى الالتصـاق بالخلايـا الظهاريـة ،28 (63.6%) قابليتها على تلزن كريات الدم الحمر للانسان ، 9 (20.4%)وامتلاكها للمحفظة .

استخدمت طريقة الانتشار من الاقراص لدراسة الحساسية الدوائية لعزلات المكورات المعوية تجاه (12) مضاد جرثومي، واظهرت العزلات مقاومة مطلقة (100%) لخمسة مضادات جرثومية وهي الكلوكساسلين ، والسيفوتوكسيم ، والاموكساسلين ، والتتراسايكلين ، والارثرومايسـين . بينمـا كانـت حساسـة لمضـاد حـامض النالدكسـك (79.5%) ، وللسبروفلوكسين ، وخليط الاموكساسلين مضافا اليه حامض الكلافيولانك (61.4%) كلا على انفراد. في حين اظهرت العزلات تباينا في معدلات الحساسية للمضادات الجرثومية الاخرى وهي الريفادين (36.4%) ، والامبسلين (27.3%) ، المثبريم الثلاثي (22.7%) ، الفانكومايسيين (11.4%) .

لـم تتـاثر حساسـية العـزلات للمضـادات الجرثوميـة المسـتخدمة بشـكل معنـوي مـع قابليتها على انتاج الانزيم المحلل للدم ، وتلزن كريات الدم الحمر في حين اظهرت تاثير معنوي بين انتاجها للجلاتينيز وحساسيتها لمضاد المثبريم الثلاثي (P =0.043) ، وبين انتاجها للبيتالاكتاز وحساسيتها لمضاد البنسلين (P =0.001) ، وبين قابليتها على تكوين الغشاء الحيوي وحساسيتها لهذا المضاد (P=0.002) ، كما اظهرت العزلات التي لها القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية وامتلاكها للمحفظة فرقا معنويا مع حساسيتها تجاه مضاد البنسلين (P=0.045) كل على انفراد .

اظهرت الدراسة كذلك مقاومة جميع عزلات *E. faecalis* لمضاد الفانكومايسين بفارق معنوي (P= 0.002) مقارنة مع حساسية عزلات الانواع الاخرى لهذا المضاد، في حين لـم تظهـر عـزلات هـذا النـوع فرقـا معنويـا بـين حساسـيتها وحساسـية عـزلات الانـواع الاخرى لباقي المضادات الجرثومية المستخدمة.

المحتويات

ت	العنوان	رقم الصفحة
	الخلاصة	I-II
	قائمة المحتويات	III-IX
	قائمة الجداول	X-XI
	قائمة المختصرات	XII
الفصل الأول : المقدمة		1
1.1	المقدمة	1
1.2	أهداف الدراسة	3
الفصل الثاني : استعراض المراجع		4
1.2	جنس المكورات المعوية *Enterococci*	4
1.1.2	التسمية	4
2.1.2	الموطن	5
3.1.2	المتطلبات الغذائية والخصائص الزراعية	6
4.1.2	الصفات المهجرية	7
2.2	تشخيص جراثيم المكورات المعوية	8
1.2.2	التشخيص بالطرائق التقليدية	8
2.2.2	التشخيص بالطرائق المصلية	11
3.2.2	التشخيص بالطرائق السريعة	12
4.2.2	التشخيص بالطرائق الحديثة	12
3.2	تصنيف الجنس	13
.4.2	اعادة تصنيف جراثيم المكورات المعوية	15
5.2	عوامل الفوعة	17
1.5.2	إنتاج الإنزيم الحال للدم (الهيمولايسين)	17
2.5.2	الجلاتينيز	19

ت	العنوان	رقم الصفحة
3.5.2	المحفظة	20
4.5.2	آليات الالتصاق	21
1.4.5.2	مواد التجمع	21
2.4.5.2	البروتينات السطحية للمكورات المعوية	22
3.4.5.2	الكاربوهيدرات السطحية	23
4.4.5.2	اليات الالتصاق المختلفة	23
5.5.2	حامض اللايبوتايكويك	24
6.5.2	البكتريوسينات	25
7.5.2	الهايلوروندیز	25
8.5.2	انزيم البيتالاكتاز	26
9.5.2	الفرمونات	27
10.5.2	السوبر اوكسيد خارج خلوي	27
6.2	تكوين الغشاء الحيوي	28
7.2	الامراضية	31
8.2	الوبائية	34
9.2	المقاومة للمضادات الجرثومية	37
10.2	مقاومة المكورات المعوية لمضاد الفانكومايسين	39
الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل		43
1.3	الأجهزة والمواد	43
1.1.3	الأجهزة المستخدمة	43
2.1.3	المواد الكيمياوية والبايولوجية	44
1.2.1.3	المواد الكيماوية	44
2.2.1.3	الأوساط الزرعية والمواد البايولوجية	44

ت	العنوان	رقم الصفحة
3.1.2.3	الكواشف والصبغات	45
4.2.1.3	السكريات	45
5.2.1.3	اقراص المضادات الجرثومية	46
3.1.3	السلالة القياسية	46
2.3	طرائق العمل	47
1.2.3	التعقيم	47
1.1.2.3	التعقيم الجاف بالفرن	47
2.1.2.3	التعقيم الرطب بالموصدة	47
3.1.2.3	التعقيم بالترشيح	47
2.2.3	تحضير الأوساط الزرعية	47
1.2.2.3	وسط اكار الازايد والدم	47
2.2.2.3	وسط اكار الدم الاساس	47
3.2.2.3	وسط اكار الماكونكي	48
4.2.2.3	وسط نقيع القلب والدماغ	48
5.2.2.3	وسط اكار نقيع القلب والدماغ	48
6.2.2.3	وسط اكار الصويا تربتكيز	48
7.2.2.3	وسط حليب اللتموس	49
8.2.2.3	وسط اكار مولر هنتون	49
3.2.3	الأوساط الزرعية المستخدمة بالتشخيص	49
1.3.2.3	وسط اختبار تحمل الملوحة	49
2.3.2.3	وسط اختبار تحمل القاعدية	49
3.3.2.3	وسط اختبار تحلل الاسكولين	50
4.3.2.3	وسط اختبار تحمل أملاح تيلوريت البوتاسيوم	50

ت	**العنوان**	**رقم الصفحة**
5.3.2.3	اوساط اختبار تخمر السكريات	51
6.3.2.3	وسط اختبار تخمر الكليسيرول	51
7.3.2.3	وسط اختبار تميع الجلاتين	51
8.3.2.3	الوسط المحور ثلاثي الاختبار	51
9.3.2.3	وسط اختبار الارابينوز والزايلوز	52
10.3.2.3	وسط اختبار الحركة وانتاج الصبغات	52
4.2.3	تحضير الصبغات والكواشف والمحاليل	52
1.4.2.3	الصبغات	52
1.4.2.3.أ	صبغة كرام	52
1.4.2.3.ب	صبغة الحبر الهندي	53
2.4.2.3	الكواشف	53
2.4.2.3.أ	كاشف الكتاليز	53
2.4.2.3.ب	كاشف الفينول الأحمر	53
3.4.2.3	المحاليل	53
3.4.2.3. أ	محلول ثابت العكرة القياسي (محلول ماكفرلاند)	53
3.4.2.3.ب	محاليل الكشف عن انزيم البيتالاكتاز	54
3.4.2.3.ج	محلول البلور البنفسجي (1%)	54
3.4.2.3.د	محلول التخفيف	54
3.4.2.3.ه	محلول هيدروكسيد الصوديوم (1N) و (0.1N)	54
3.4.2.3.و	محلول الفورمالديهايد (10%)	55
3.4.2.3.ز	محاليل السكريات بتركيز (10%)	55
5.2.3	حفظ وإدامة العزلات الجرثومية	55

ت	العنوان	رقم الصفحة
6.2.3	جمع العينات	55
1.6.2.3	عينات الخروج والقشع	56
2.6.2.3	عينات الإدرار وسائل النخاع ألشوكي	56
3.6.2.3	عينات الدم	57
4.6.2.3	عينات المسحات	57
7.2.3	زرع العينات	58
8.2.3	تشخيص العزلات الجرثومية	58
1.8.2.3	الصفات الشكلية والزرعية	58
2.8.2.3	الفحص المجهري	58
3.8.2.3	الاختبارات الكيميوحيوية	59
3.8.2.3.أ	اختبار انزيم الكاتاليز	59
3.8.2.3.ب	اختبار تحمل الملوحة	59
3.8.2.3.ج	اختبار تحمل القاعدية	59
3.8.2.3.د	اختبار النمو في (10) و(45) درجة مئوية	59
3.8.2.3.ه	اختبار تحلل الاسكولين	59
3.8.2.3.و	اختبار تحمل املاح تيلوريت البوتاسيوم	60
3.8.2.3.ز	اختبار تخمر السكريات والكليسيرول	60
4.8.2.3	التشخيص المصلي بطريقة لانسفيلد	61
9.2.3	الطرائق التشخيصية السريعة لجراثيم المكورات المعوية	61
1.9.2.3	اختبار الوسط المحور الثلاثي الاختبار	61
2.9.2.3	الاختبارات التشخيصية السريعة	61
2.9.2.3.أ	اختبار اختزال حليب اللتموس	61
2.9.2.3.ب	اختبار اختزال الارابينوز والزايلوز	62

ت	العنوان	رقم الصفحة
2.9.2.3.ج	اختبار انتاج الصبغات الصفراء	62
2.9.2.3.د	اختبار الحركة	62
10.2.3	الكشف عن عوامل الفوعة	63
1.10.2.3	الكشف عن انتاج الهيمولايسين	63
2.10.2.3	الكشف عن انتاج الجلاتينيز	63
3.10.2.3	الكشف عن وجود المحفظة	63
4.10.2.3	الكشف عن تلزن كريات الدم الحمراء	63
5.10.2.3	الكشف عن الالتصاق بالخلايا الظهارية	64
6.10.2.3	الكشف عن إنتاج إنزيم البيتالاكتاز	65
11.2.3	الكشف عن تكوين الغشاء الحيوي	66
12.2.3	فحص الحساسية الدوائية بطريقة الانتشار من الأقراص	67
1.3.2.3	التحليل الاحصائي	68
الفصل الرابع : النتائج والمناقشة		69
1.4	عزل جراثيم المكورات المعوية	69
2.4	تصنيف عزلات المكورات المعوية	71
3.4	توزيع العزلات الجرثومية على النماذج المرضية	73
4.4	توزيع أنواع المكورات المعوية حسب جنس المرضى	76
5.4	توزيع أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب الفئات العمرية للمرضى	77
6.4	توزيع أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب نوعية المرضى	78
7.4	عوامل الفوعة لعزلات المكورات المعوية	80
1.7.4	إنتاج الإنزيم الحال للدم	80
ت	**العنوان**	**رقم**

		الصفحة
1.1.7.4	إنتاج أنواع المكورات المعوية لأنواع الإنزيم الحال للدم	81
8.4	عوامل الفوعة الأخرى للعزلات	82
1.8.4	عوامل الفوعةالاخرى موزعةحسب أنواع المكورات المعوية	85
9.4	حساسية عزلات المكورات المعوية للمضادات الجرثومية	89
1.9.4	الحساسية للمضادات الجرثومية حسب أنواع العزلات	92
10.4	أنواع الإنزيم الحال للدم والحساسية للمضادات الجرثومية	**94**
1.1.4	إنتاج إنزيم الجلاتينيز والحساسية للمضادات الجرثومية	95
1.2.4	إنتاج إنزيم البيتالاكتاز والحساسية للمضادات الجرثومية	96
1.3.4	قابلية المكورات المعوية على تكوين الغشاء الحيوي والحساسية للمضادات الجرثومية	97
1.4.4	قابلية الالتصاق بالخلايا الظهارية والحساسية للمضادات الجرثومية	99
1.5.4	القابلية على تلزن كريات الدم الحمر والحساسية للمضادات الجرثومية	100
1.6.4	امتلاك عزلات المكورات المعوية للمحفظة والحساسية للمضادات الجرثومية	101
1.7.4	أنواع المكورات المعوية والحساسية للمضادات الجرثومية	102
الاستنتاجات والتوصيات		
	الاستنتاجات	104
	التوصيات	105
المصادر	ثبت المصادر العربية	105
	ثبت المصادر الأجنبية	107
الملاحق	الملاحق	118

قائمة الجداول

الرقم	العنوان	الصفحة
1-2	الصفات التشخيصية لأنواع المكورات المعوية	9
2-2	الأصناف المظهرية للمكورات المعوية المقاومة لمضاد الفانكومايسين	42
1-3	الأجهزة المستخدمة والمستلزمات المحتبرية المستخدمة	43
2-3	المواد الكيماوية المستخدمة اثناء الدراسة	44
3-3	الأوساط الزرعية والمواد البايولوجية المستخدمة اثناء الدراسة	44
4-3	الكواشف والصبغات المستخدمة اثناء الدراسة	45
5-3	السكريات المستخدمة اثناء الدراسة	45
6-3	أقراص المضادات الجرثومية المستخدمة اثناء الدراسة	46
7-3	أقطار مناطق التثبيط القياسية لأقراص المضادات الجرثومية	68
1-4	أعداد ونسب عزلات المكورات المعوية من مختلف النماذج المرضية	69
2-4	أعداد والنسب المئوية أنواع المكورات المعوية المشخصة خلال الدراسة	71
3-4	توزيع عزلات المكورات المعوية حسب النماذج المرضية	74
4-4	أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب جنس المرضى	77
5-4	أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب أعمار المرضى	77
6-4	أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب نوعية المرضى	78
7-4	أعداد ونسب المكورات المعوية المنتجة لأنواع الإنزيم المحلل للدم	80
8-4	إنتاج أنواع عزلات المكورات المعوية لأنواع الإنزيم المحلل للدم	81
9-4	أعداد ونسب العزلات الموجبة قيد الدراسة لعوامل الفوعة	83
10-4	عوامل الفوعة الأخرى موزعة حسب أنواع عزلات المكورات المعوية	86

11-4	حساسية أنواع عزلات المكورات المعوية للمضادات الجرثومية	90
12-4	العلاقة بين إنتاج الإنزيم الحال للدم والحساسية للمضادات الجرثومية	94
13-4	العلاقة بين إنتاج إنزيم الجلاتينيز والحساسية للمضادات الجرثومية	96
14-4	العلاقة بين إنتاج إنزيم البتالاكتاز والحساسية للمضادات الجرثومية	97
15-4	العلاقة بين القابلية على تكوين الغشاء الحيوي والحساسية للمضادات الجرثومية	98
16-4	العلاقة بين القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية والحساسية للمضادات الجرثومية	99
17.4	العلاقة بين القابلية على تلزن كريات الدم الحمر والحساسية للمضادات الجرثومية	100
18-4	العلاقة بين امتلاك المحفظة والحساسية للمضادات الجرثومية	101
19-4	أنواع المكورات المعوية والحساسية للمضادات الجرثومية	102

قائمة المختصرات

المختصر	الكلمات
AS	Aggregation Substances
API	Analytic Profile Index
APIRS	Analytic Profile Index Rapid Strep

BHIA	Brain –Heart Infusion Agar
BHIB	Brain –Heart Infusion Broth
CFU	Colony Forming Unit
CPS	Capsular polysaccharides
CSF	Cerebrospinal fluid
CYL	Cytolysin
ECM	Extra Cellular Matrix
EARSS	European Antibiotic Resistance Surveillance
EBP	Endocarditis Biofilm Pilli
ESP	Enterococcal Surface Proteins
Gel	Gelatinase
GPI	Gram Positive Identification
HYL	Hyaluronidase
IL	Interleukin
LTA	Lipoteichoic Acid
MDR	Multiple Drug Resistance
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
MSU	Mid Stream Urine
MGP	Methy-α-D Glucopyranoside
NNIS	National Nosocominal Infection Surveillance
NCCLS	National Committee for Laboratory Standers
PBP	Penicillin Binding Proteins
PGE	Prostaglandin
PMNs	Polymorph nuclear cells
PT	Potassium Tellurite
QD	Quinupristin –dalfopristin
RBCs	Red Blood Cells
TSA	Tripticase Soya Agar
TNF-α	Tumor Necrosis Factor- alph
VRE	Vancomycin Resistant Enterococci

الفصل الأول

المقدمة

الفصل الثاني

استعراض المراجع

الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

الفصل الرابع

التنافس والمنافسة

الفصل الخامس

الاستنتاجات والتوصيات

الفصل السادس

المصادر

الفصل الاول: المقدمة

1.1.المقدمة : Introduction

تتواجد جراثيم المكورات المعوية *Enterococcus* في القناة المعدية المعوية Gastrointestinal tract والقناة البولية التناسلية Genitourinary tract للانسان والحيوان كجزء من النبيت الطبيعي Normal flora للقناتين دون ان تسبب اخماج مرضية (Gulhan *et al.*, 2006) ، لكنها ان وجدت في غير مواطنها الطبيعية تصبح ممرضات انتهازية Opportunistic pathogens مهمة مسببة للعديد من الاخماج المرضية في الانسان (Murray, 1990). ومنها التهاب شغاف القلب واخماج القناة البولية والتجرثم الدموي واخماج التجويف البطني والحوضي واخماج جروح العمليات ومن المسببات الامراضية القليلة لاخماج القناة التنفسية والتهاب السحايا (Moellering, 1998). لذلك نالت هذه الجراثيم اهتمام العديد من الباحثين مما ادى الى جعلها هدفا اساسيا للبحوث والدراسات الحديثة (Fabretti *et al*., 2006;Theilacker *et al*., 2006).

ازدادت أهمية هذه الجراثيم ليس لما تسببه من اخماج مرضية خطرة فحسب وانما لامتلاكها صفات خاصة تمكنها من احداث الاصابة منها قدرتها على الالتصاق والغزو ثم الاستعمار في انسجة المضيف وقابليتها على الاقتران الوراثي Conjugation وتبادل الجينات الوراثية المعبرة عن عوامل الفوعة اوالمقاومة للمضادات الجرثومية (Murray, 2000). وقد تم التعرف على العديد من عوامل الفوعة التي تمتلكها هذه الجراثيم والتي يمكن ان ترتبط مع الاخماج الناتجة عنها ومنها انتاج انزيم الهيمولايسين Haemolysin، والجلاتينيز Gelatinase ،والآليات المتعددة للالتصاق بالمادة البينية الخارج خلوية وخلايا المضيف، والفرمونات Phermones، وحامض اللايبوتايكويك Lipotiechoic acid، والبكتريوسينات Bacteriocines، والسوبر اوكسيد خارج خلوي Extracellular superoxid ، وانتاج انزيم الهايلوروندیز Hylouronidase (Jett *et al*., 1994; Kayaoglu & Orstavik, 2004). كما وجد ان بعض عزلاتها لها القدرة على تكوين المحافظ Capsules (Huebner *et al*., 2000)،وانتاج انزيم البيتالاكتاز β-Lactamase (Rice ,2001) ، ووجود الاهداب Pili (Nallpareddy *et al*., 2006).

تتمكن جراثيم المكورات المعوية بعد التصاق خلاياها بالسطوح من تكوين تراكيب معقدة متعددة الخلايا والطبقات تعرف بالاغشية الحيوية Biofilms (Raad *et al*., 2005) ، والتي تعد احد انواع التكيف استجابة للظروف الغير مناسبة منها الكثافة العالية للخلايا ونقص المغذيات والتعرض لضغوط بيئية فيزياوية (O´Toole *et al*., 2000). ترتبط الاصابة بهذه الجراثيم داخل الجسم الحي بقابليتها على تكوين الغشاء الحيوي بالسطوح الداخلية للمستلزمات الطبية مثل القثاطر الوريدية او البولية والصمامات القلبية (Sandoe *et al*., 2003). تزداد مقاومة الجراثيم المنتجة للاغشية الحيوية لكل من الآليات الدفاعية للمضيف والمضادات الجرثومية لذلك فانها تمثل مصدرا مهما من مصادر الاصابة بهذه الجراثيم من جهة ومن جهة اخرى تساهم بانتشار جينات المقاومة داخل المستشفيات لهذه الجراثيم والانواع الجرثومية الاخرى (Kristich *et al*., 2004; Merode *et al*., 2006).

تتميز جراثيم المكورات المعوية بالمقاومة المتعددة للمضادات الجرثومية بسبب مقاومتها الذاتية Intrinstic ومقاومتها المكتسبة Acquired المتزايدة للعديد من المضادات الجرثومية واصبحت مقاومتها تمثل مشكلة صحية مهمة يصعب علاج حالات الاصابة بها من جهة ومن جهة اخرى كمشكلة اقتصادية لصعوبة السيطرة عليها حيث تنتشر بشكل واسع وسريع بين مرضى المستشفيات وتتمكن من نقل جيناتها المقاومة بين انواعها وحتى الى الانواع الجرثومية الاخرى وبالتالي تسبب زيادة فترة المكوث وارتفاع تكاليف العلاج في المؤسسات الصحية(Mundy *et al*., 2000; Hsu *et al*., 2006).

خلال العقدين الماضيين برزت عزلات المكورات المعوية المقاومة لمضاد الفانكومايسين مسببة للكثير من المشاكل الطبية الملحوظة بشكل مثير للاهتمام وبالاخص لدى المرضى المعرضون لخطر التثبيط المناعي نتيجة الاصابة بالامراض الخطرة (السرطانية او المزمنة) وفي وحدات العناية المركزة والعمليات الجراحية في العديد من مستشفيات العالم واخذت هذه العزلات تظهر بشكل اكثر انتشارا في الدول الأوربية والولايات المتحدة بنسب متفاوتة (Bonten *et al*., 2001; Nass *et al*., 2006).

تعد جراثيم المكورات المعوية من المسببات المرضية المهمة للاخماج المكتسبة من المجتمع والمستشفيات Nosocomial and community acquired infections لذلك فان التحري عن هذه الجراثيم وانواعها يعتبر حاجة ضرورية لغرض معرفة الاهمية الطبية للاصابات التي تسببها ولتحديد انواعها المرضية الاكثر شيوعا ولوصف العلاج الفعال ضدها فضلا عن الاهمية الوبائية (Prakash *et al*., 2005). وتبرز اهمية هذه الجراثيم في الحالات المرضية الناتجة عنها في المستشفيات فقد عُدّت من ثاني المسببات الجرثومية الشائعة بعد جرثومة *Escherichia coli* والمسببة للاخماج المكتسبة من المستشفيات بنسبة (%12) (Hancock & Gilmore, 2000; Desai *et al*., 2001).

2.1. اهداف الدراسة: Aims of the study

نظرا لقلة الدراسات عن جراثيم المكورات المعوية في عموم العراق ولعدم وجود دراسة سابقة في محافظة ديالى لذلك ارتأينا القيام بهذه الدراسة التي جاءت لتهدف الى :-

1- **عزل وتشخيص جراثيم المكورات المعوية من نماذج مرضية مختلفة لاستبيان دورها في احداث الاخماج المختلفة في الانسان.**

2- **دراسة بعض عوامل الفوعة المرتبطة بامراضية العزلات مثل: انتاج الهيمولايسين ، والجلاتينيز، والمحفظة، وانزيم البيتالاكتاز، وقدرة العزلات الجرثومية على التلزن الدموي ، والالتصاق بالخلايا الظهارية البولية للانسان ، وتحديد قابلية عزلات المكورات المعوية على تكوين الغشاء الحيوي خارج الجسم الحي.**

4- **دراسة حساسية ومقاومة العزلات الجرثومية لبعض للمضادات الجرثومية.**

الفصل الثاني : استعراض المراجع

1.2. جنس المكورات المعوية : The genus of *Enterococci*

1.1.2. التسمية : Nomenclature

اطلق Thiercelin عام (1899) لاول مرة تسمية *Enterococci* وهي مشتقة من كلمة فرنسية Entérocoque لوصف مكورات معوية المنشأ موجبة لصبغة كرام تظهر بشكل مكورات مزدوجة Diplococci او سلاسل قصيرة Short chains في البراز، كما عزل الباحث هذه الجراثيم من مرضى التهاب الامعاء Enteritis والتهاب الزائدة الدودية Appendicitis والتهاب السحايا Meningitis (Murray, 1990). في نفس العام لاحظ Maccalum و Hansting جراثيم مسببة لالتهاب شغاف القلب Endocarditis واطلقا عليها *Micrococcus zymogenes* (Jett *et al.*, 1994). اكدت الدراسات اللاحقة ان هذه العزلات هي في الحقيقة مكورات معوية حالة للدم والجلاتين ولها القدرة على مقاومة الجفاف بدرجة (60) م° فضلا عن مقاومتها للمطهرات مثل الكلوروفورم وحامض الكاربوليك، وعرفت هذه الجراثيم فيما بعد بالمكورات المعوية البرازية *E. faecalis* (Hancock & Gilmore, 2000).

وجد كل من Andrewes و Horder عام 1906 مكورات مسبحية في براز الانسان والحيوانات (المتغيرة والثابتة درجات حرارتها، والحشرات) اطلقا عليها *Streptococcus faecalis* نسبة الى البراز Faeces وقد عزل الباحثان هذه الجراثيم من مريض مصاب بالتهاب شغاف القلب فضلا عن عزلها لاول مرة من حالات اخماج القناة البولية، واكدا بانها ذات صفات كيميوحيوية مميزة. في عام 1919 اقترح Oral-Jensen تسمية *S. faecium* على جراثيم مشابهه تتميزت عن سابقتها بصفات تخميرية مختلفة الا ان هذه التسميات اهملت وبقت تسمية *S. faecalis* هي المستعملة انذاك (Schleife, 1986). في اوائل 1900s اتضح ان هذه العزلات تمثل مسببات مهمة للاصابة بالمرضين المذكورين اعلاه (Murray, 2000).

اضافت الابحاث والدراسات اللاحقة معلومات جديدة لجراثيم *Enterococci*، ففي عام 1937 نشر Sherman مقالة حدد فيها النطاق التعريفي لهذه الجراثيم من كونها تشمل كل المكورات المسبحية البرازية الى حصرها بالجراثيم التي تُظّهر صفات مشابهة لعزلات *S. faecalis* ، ووصف Sherman و Wing في عام 1938 نوعا جديدا عرف *S. duran* يشبه

S. faecium لكن بكفاءة تخميرية اقل مشيرا الى ان مصطلح *Enterococci* يشمل انواع مختلفة الصفات (Facklam & Teixiera, 1997).

2.1.2. الموطن :Habitat

تستوطن جراثيم المكورات المعوية القناة المعوية والقناة البولية التناسلية للانسان والحيوان بشكل متعايش Commensal لذا تعد من النبيت الطبيعي للقناتين (Prakash *et al*., 2005; Gulhan *et al*., 2006) وتتجمع على شكل مستعمرات باعداد قليلة في القناة التنفسية العليا Upper respiratory tract والقنوات الصفراوية Biliary tracts والمهبل Vagina لدى الاصحاء، وكذلك في التجويف الفمي للانسان والحيوان (Desai *et al*., 2001; Zhanel *et al*., 2000). وتتخذ بعض انواعها وخاصة المنتجة للصبغات مثل *E. sulfurous* من بعض النباتات مركزا بيئيا لها (Tyrrell *et al*., 2002). لاتعد هذه الجراثيم المتواجدة في مركزها الطبيعي ممرضة لكنها من الممكن ان تصبح ممرضة انتهازية مسببة بذلك العديد من الامراض والاخماج المهمة للانسان (Murray, 1990).

تتواجد جراثيم المكورات المعوية في بيئات مختلفة مثل التربة ، والمياه ، ومنتجات الالبان، والاغذية المتعفنة. ويكثر تواجدها في البيئات الملوثة بمياه المجاري غير المعاملة او بفضلات الحيوانات، اذ تتمكن من الانتشار الواسع والبقاء حية لفترات طويلة بسبب مقاومتها للظروف البيئية الغير ملائمة ولكثرة اعدادها (Johnston & Jaykus, 2004; Naser *et al*., 2005).اذ وجد ان مدى اعدادها من (10^5–10^8) Colony Forming Unit CFU /G من منتجات الحليب واللحوم الحيوانية (Lester *et al*., 2006). بينما تتواجد بمعدل (3.1×10^3)CFU في القنوات المعوية لكل ذبابة منزلية (Macovei & Zurek,2006)، ويبلغ التركيز النموذجي لهذه الجراثيم في غرام واحد من براز الانسان اكثر من (10^8) CFU / G (Huycke *et al*., 1998).

تنتقل جراثيم المكورات المعوية المتواجدة بشكل كثيف في مرضى المستشفيات الى البيئة عن طريق طرح مياة الفضلات الملوثة، فقد عزلت انواعها المقاومة للمضاد الجرثومي الفانكومايسين من المياه الجارية المعاملة وغيرالمعاملة ومن المخلفات الحيوانية ومياه المستشفيات في الدول الاوربية بنسبة (36% ،71% ،17% ,16%) على التوالي (Kuhn

(*et al*., 2005. وسجلت المياه السويدية تواجد تلك العزلات بنسبة (60%) للمياه الجارية غير المعاملة و (36%) من مجاري المستشفيات و (19%) من مياه المجاري المعاملة (Iversen *et al*., 2002). لذلك عدت جراثيم المكورات المعوية مؤشرا للتلوث البرازي للمياه في معظم دول العالم لكثرة طرحها مع البراز وقدرتها على البقاء لفترات طويلة (الحديثي والسيمري، 1993 ; Manero & Blanch, 1999; Collee *et al*., 1996).

3.1.2.المتطلبات الغذائية والخصائص الزرعية :

Nutritional requirement and cultural characteristic

تنمو جراثيم المكورات المعوية بظروف لا هوائية اختيارية Facultative anaerobes ضمن مدى حراري (10−45) م° والدرجة المثلى لنموها هي (37)م° وتتمكن من مقاومة الحرارة اذ تبقى حية لمدة (30) دقيقة في درجة حرارة (60) م°وتتغذى تتغذية كيميوعضوية Chemoorganotrophs (Holt *et al*., 1994; Facklam&Teixeira, 1997) .

تتحمل جراثيم هذا الجنس ظروف نمو مختلفة كالنمو في وسط قاعدي(pH 9.6)، وتركيز (4%) من املاح الصفراء، وتركيز (6.5%)من كلوريد الصوديوم،وتركيز (0.1) من املاح التترازوليوم وفي الحليب الحاوي على (0.1) من ازرق المثلين Methylen blue ،وتركيز (0.04%) من املاح تيلوريت البوتاسيوم، وبوجود املاح ازايد الصوديوم،كما تمتاز بقابليتها على تحلل الاسكولين ولذلك تستخدم هذه المواد كعوامل انتخابية في الاوساط الزرعية لتنشيط نموها وتثبيط الاحياء المجهرية الاخرى (Facklam &Collin,1989;Murray, 1990;Manero& Blanch, 1999).

يعتمد نمو جراثيم المكورات المعوية على المواد الكيمياوية الموجودة في الاوساط الزرعية و الانتخابية اذ تظهرعلى وسط اكار الدم الاساس بشكل مستعمرات بيضاء دائرية ناعمة تحلل قسم من عزلاتها الدم حلا كاملاً او جزئياً والاغلبية منها غير محللة (Collee *et al*., 1996). اما على وسط اكار الماكونكي Number 2 فتظهر بشكل مستعمرات وردية ناعمة نتيجة لتخمرها لسكر اللاكتوز، لذا يعد هذا الوسط مفيد بشكل خاص لعزل هذه الجراثيم وتميزها عن الانواع الجرثومية الغير مخمرة لسكر اللاكتوز والقولونيات Coliforms كما يثبط نمو المكورات العنقودية والمكورات البرازية الغير مسبحية (Treagan & Pulliam, 1982) . في حين تظهر مستعمراتها ناعمة بيضاء تتحول الى اللون الرمادي بمرور الوقت على وسط ازايد الصوديوم الذي يستخدم لعزل هذه الجراثيم من النماذج المرضية

لاحتوائه على مادة ازايد الصوديوم التي تثبط نمو الاواع الجرثومية الاخرى السالبة لصبغة كرام (Facklam & Teixeira, 1997; Huycke *et al*., 1998) .

تحلل جراثيم المكورات المعوية الاسكولين بوجود املاح الصفراء لذا تظهر مستعمرات سوداء على وسط اكار الاسكولين الحاوي على املاح الصفراء في حين تظهر مستعمرات حمراء في الوسط الحاوي على (0.1) من املاح التترازوليوم ، وبسبب قابلية بعض انواعها على النمو بوجود املاح تيلوريت البوتاسيوم لذ تظهر بشكل مستعمرات سوداء في الوسط الحا وي على (0.04%) من هذه الاملاح (Facklam,1972). وتختلف قدرة انواعها على انتاج الصبغات الصفراء في الوسط وفي قابليتها على الحركة اذ يظهر النوع *E.casseliflavus* متحركاً ومنتجاً للصبغات (Pompel *et al*., 1991) ، اما الانواع *E. mudndtii* , *E. flavescens* ,*E. gillvus* ,*E. pallens* تظهر غير متحركة ولكنها منتجة للصبغات، في حين تكون *E. gallinarium* متحركة وغير منتجة للصبغات اما الانواع المتبقية لهذا الجنس فلا تمتك الصفتين (Tyrrell *et al*., 2002).

تعد جراثيم المكورات المعوية مخمرات اجبارية Strict fermentors بسبب فقدانها لمسار دورة كربس Krebs cycle والسلسلة التنفسية Respiratory chain لعدم احتوائها على السايتوكروم Cytochrome ماعدا نوع *E. faecalis* اذ يستخدم الهيمين الخارجي Exogenous hemin(في حالة وجوده) لانتاج انواع السايتوكرومات التي تساعد في تنمية هذا النوع في الظروف الهوائية وبالتالي وجوده واستعماره في مواقع غير مناسبة (Huycke *et al*., 1998). تخمر هذه الجراثيم مدىً واسعاً من الكاربوهيدرات والسكريات منتجة حامض الاكتك Lactic acid بدون غاز ناتجا نهائيا لعملية التخمر وبذلك تسلك مسار التخمر المتجانس Homofermentation (Schleifer, 1986).

1.2 .4. الصفات المجهرية: Microscopical characteristics

تتصف خلايا جراثيم المكورات المعوية بانها موجبة لصبغة كرام ذات شكل كروي الى بيضوي وبابعاد ($0.6-2\ \chi\ 0.6-2.5$) مايكروميتر. تظهر بصورة منفردة وازواج او بشكل سلاسل قصيرة في الاوساط السائلة والعينات المرضية وقد تبدو احيانا مكورات عصوية في الاوساط الصلبة، غير منتجة للابواغ وغير متحركة عدا بعض عزلاتها (Teixiera, 1997 &

(Hollt *et al*., 1994; Facklam) . وقد تمتلك بعض العزلات وخاصة المرضية منها المحفظة (Huebner *et al*., 1999).

2.2. تشخيص جراثيم المكورات المعوية:

ان تشخيص المكورات المعوية على مستوى النوع هو امر ضروري ويفيد في الدراسات الوبائية لتحديد الانواع السائدة والمسببة للاصابات المنتشرة في المستشفيات، ولتحديد العلاج الفعال بسبب اختلاف المقاومة المتعددة والمتزايدة للمضادات الجرثومية (Facklam *et al*.,1985 ; Prakash *et al*., 2005). ومن الطرائق المستخدمة في تشخيص جراثيم المكورات المعوية :

1.2.2.التشخيص بالطرائق التقليدية :

يعتمد التشخيص التقليدي لجراثيم المكورات المعوية على دراسة خصائصها المجهرية والزرعية خلال نموها على الاوساط الزرعية والانتخابية، فضلا عن الاختبارات الفسلجية والفحص المصلي (Trttz *et al*., 1990; Desai *et al*., 2001).

استعمل Facklam عام (1972) مجموعة من الاختبارات الفيزيائية والكيموحيوية لتشخيص انواع المكورات المسبحية التي تتفاعل مع المصل المضاد الخاص بمجموعة D المعروفة انذاك والمعزولة من نماذج مرضية مختلفة. اعتمادا على تلك النتائج فقد قسمت هذه الانواع الى ثلاث مجاميع ووجد ان نوع *S. bovis* , *S.equinus* تتفاعل مع المصل المذكور لكنها تختلف عن باقي الانواع التشخيصية بعدم قدرتها على النمو في الاوساط الحاوية على (6.5%) من كلوريد الصوديوم ووسط قاعدي (pH 9.6) ، لذا وضعا لوحدهما في المجموعة الثالثة.

اعتمادا على نتائج الدراسات الوراثية لهذه الجراثيم والتي على اساسها وضعت في جنس منفصل ومع زيادة انواعها المكتشفة وظهورها كممرضات مهمة للانسان ازدادت الحاجة الى اهمية تشخيصها (Cetinkaya *et al*., 2000; Naser *et al*., 2005). لذا فقد وضع (Facklam & Collins, 1989) نظاماً تصنيفياً لتشخيص انواع المكورات المعوية بالاعتماد على نظام Facklam (1972) بعد اجراء التغيرات التطويرية اذ حذفت المجموعة الثالثة لانها لم تعد تابعة لهذا الجنس وكذلك تطوير الاختبارات التشخيصية لتشخيص الانواع المضافة الجديدة. واضاف Holt وجماعته (1994) اختبارات تشخيصية اخرى لغرض تشخيص

الانواع الجديدة ثم طور هذا النظام من قبل (Facklam & Teixeira, 1997) .حيث قسمت انواعها الى (5) مجاميع اعتمادا على الصفات المظهرية والتخميرية للكاربوهيدرات وانتاج الحامض و تشخيص الانواع الموجودة ضمن المجموعة الواحدة استنادا الى صفاتها المظهرية الاخرى مثل انتاج الصبغات الصفراء Yellow pigment والحركة Motility واستهلاك البأيروفيت Pyruvate utilization والنمو في (0.04%) من تيلوريت البوتاسيوم فضلا عن صفات تخمرية اخرى . وطور Blanch & Manero عام (1999) النظام التشخيصي لجراثيم المكورات المعوية واصبح يتضمن العديد من الاختبارات الفيزيائية والكيميائية كما موضح في جدول (1.2)

جدول (2.1): الصفات التشخصية لانواع المكورات المعوية*

الصفات التشخيصية	الانواع المعزولة			
	E.faecalis	*E.faecium*	*E.gallinarium*	*E.avium*
النمو في (6.5) من Nacl	+	+	+	+
النمو في وسط ذو (9.6) PH	+	+	+	+
النمو بدرجات حرارة (10و45) م°	+و+	+و+	+و+	d و+
النمو في (0.04%) تيلوريت البوتاسيوم	+	–	d	–
انتاج الصبغات الصفراء	–	–	–	–
الحركة	–	–	+	–
التفاعل مع المصل المضاد D	+	+	+	+
اختزال حليب اللتموس	+	–	+	–
تخمر كل من السكروز،اللاكتوز،المنيتول،الكلكوز	+	+	+	+
تخمر السوربتول	+	–	d	+
تخمر السوربوز	–	–	–	+
تخمر رافينوز	–	–	+	–
تخمر ادونيتول	–	–	–	+
تخمر ارابينوز	–	+	+	+

تخمر زايلوز	−	−	+	−
تخمر كليسيرول	+	+	+	+
تحلل الاسكولين	+	+	+	+
انتاج الكتاليز	−	−	−	−
نوع تحلل الدم (ß،α)	(v,v)	(d,d)	(d,d)	(−,+)
تحلل الجلاتين	d	−	−	−

. (Holt *et al*., 1994 ; Hanson & Carwright, 1999; Manero & Blanch, 1999).

*** اقتصر الجدول بالانواع المعزولة والاختبارات المستخدمة اثناء الدراسة.**

المختصرات: + : موجبة بنسبة اكثر من 90% ; V : Variableموجبة بنسبة 75−89% ; d: Determine موجبة بنسبة 21−79% ; − : سالبة بنسبة اكثر من 90%.

كما يمكن استخدام العدة التشخيصية الجاهزة للنظام التشخيصي الذي يعرف بنظام الدليل الصوري التحليلي Analytic Profile Index (API) system مثل API20 strep و API−Rapid Strep (API RS) و Gram positive Identification Card (GPI) Vite والتي تتضمن مجموعة من الاختبارات المتعددة لغرض تشخيص انواع المكورات المعوية التي تعطي صفات مظهرية اولية مشابهة (Facklam et al., 1985; Liassine et al,. 1998). الا ان عدم احتواء هذه الانظمة على جميع انواع هذا الجنس مثل عدم قدرة نظام API 20على تشخيص نوع *E. raffinose* وانما يصنف هذا النوع كعزلات من *E.avium* وهذا الخطا يوثر في الدراسات الوبائية وامكانية انتشار العزلة الغير مشخصة بشكل صحيح . (Sandoe *et al*., 2001)

2.22 التشخيص بالطرائق المصلية:

يعتمد التشخيص المصلي لجراثيم المكورات المعوية على تفاعل المصل المضاد مع المستضد السطحي لها اذ تمتلك مستضد كاربوهيدراتي متخصص يميزها على مستوى الجنس وعن باقي المكورات المسبحية (Collee *etal*., 1996). يعرف هذا المستضد بمستضد

حامض اللايبوتايكويك (LTA) Lipoteichoic acid الخاص بمجموعة D من مجاميع لانسفيلد ويثبت هذا البوليمر في غشائها السايتوبلازمي ويمتد خارجيا الى طبقة Pepteidoglycan المكون الرئيسي في الجدار الخلوي للجراثيم الموجبة لصبغة كرام Jawetz (*et al*., 2004; Fabretti *et al*., 2006).

اشارت الدراسات الى ان بعض عزلات المكورات المعوية تمتلك مستضد المحفظة المتعدد السكريات Capsular polysaccharide antigen والذي يتفاعل مع مصل المرضى المصابين بالتهاب شغاف القلب و المجاري البولية الناتجة عن الاصابة بالعزلات المنتجة لهذا المستضد (Xu *et* al.,2000 ; Hancock *et al*, 2003). واظهرت نتائج التحليل الكيميائي لجدار هذه العزلات بان هذا المستضد ينتج نمطين مصليين ، وقد وفر هذا المستضد امكانيات جديدة للتشخيص والعلاج (Huebner *et al*., 2000; Hancock& Gilmor,2002) .

صنفت عزلات *E.faecalis* الى (11) نمط مصلي بالاعتماد على اختلافات الكربوهيدرات السطحية ، وباستخدام طرق التنميط الحديثة صنفت الى (21) نمط مصليا مع سيادة 4(72%) انماط مصلية بين العزلات المصنفة في العينات المرضية (Hancock & Gilmore, 2000; 2002).

كما وجدت اجسام مضادة في مصل المرضى المصابين بالتهاب شغاف القلب ترتبط بتراكيب بروتينية خاصة مثبتة بسطوح عزلات *E.faecalis* المسببة للمرض تعرف بمستضدات الغشاء الحيوي والتهاب شغاف القلب المرتبطة بالاهداب Endocarditis and Biofilm- associated Pili (EBP) والتي تتكون من ثلاثة بروتينات مختلفة تعرف بـ(EBPA-C) تنتج من قبل اوبرون *ebp* المكون من ثلاثة جينات (A ,B, C) لذا فان التمنيع بمستضدات EBP قد يمنع او يعالج هذه الاصابات (Nallapareddy *et al*., 2006).

3.4.2. التشخيص بالطرائق السريعة:

بالرغم من كفاءة التشخيص بالطرائق التقليدية (الانظمة التشخيصية) الانها تحتاج الى وقت طويل في اعطاء النتائج ويعتمد التشخيص المصلي على توفير العدد التشخصية الجاهزة (Facklam *et al*. 1985). لذا فقد استحدثت حنا حنو (2002) طريقة تشخيصية

سريعة وسهلة لغرض التشخيص الاولي السريع لجراثيم المكورات المعوية وتميزها عن باقي المكورات الموجبة لصبغة كرام من العينات المرضية وذلك باستخدامها لوسط محور ثلاثي الاختبار يتضمن اختبار قابلية الجراثيم على الحركة وتحلل الاسكولين واختبار تحمل الملوحة ويتميز هذا الوسط باعطاء نتائج سريعة بعد ساعتين من التلقيح. واستخدم كل من Hanson و Cartwringht (1999) مجموعة من الاختبارات تتضمن اختزال حليب اللتموس ، وتخمر الارابينوز والزايلوز ، وانتاج الصبغة ، والحركة ، و Methy-α- Glucopyranoside (MGP) -D لتشخيص جراثيم المكورات المعوية ذات الاهمية الطبية اذ تعطي هذه الاختبارات نتائج تشخيصية سريعة بعد (4) ساعات من الحضن.

4.4.2. التشخيص بالطرائق الحديثة:

يستخدم انتاج البكتريوسين وتنميط العاثية Phage typing في التعرف الى الاختلافات بين عزلات جراثيم المكورات المعوية الانها صعبة التطبيق بسبب زيادة ظهور العزلات المقاومة بين مرضى المستشفيات ولعدم توفير الكواشف من جهة اخرى. لذا فقد اتجهت الانظار الى الطرق الجزيئية المتطورة (Facklam & Teixiera, 1997).

يعتمد التشخيص بالطرائق الجزيئية على عدة تقنيات منها تقنية الهجرة الكهربائية لفصل بروتينات الخلية والجدار الخلوي. والتقنيات الوراثية الحديثة منها تهجين الحوامض النووية ، وتحلل DNA ، واجراء تضخيم للجينات المقاومة للـ Glycopeptides وتقطيع هذه الجينات بعد تضاعفها ثم تحليلها (Naser *et al*., 2005).وكذلك تحلل البلازميدات الكاملة والمقطعة للانواع وكلونة الجينات Genes cloning ودراسة الترانسبوزونات Transposons الناقلة للجينات (Xu *et al*., 2000; Novais *et al*., 2005). وتستخدم تقنية التفاعل المتسلسل لانزيم بلمرة الدنا PCR for DNA للتشخيص السريع والدقيق للمكورات المعوية (Dutka -Malen- *et al*., 1995) . وتستخدم هذه التقنية في الدراسات الوبائية لمعرفة الانواع الشائعة من هذا الجنس ولغرض التعرف على العزلات المرضية الحاملة للجينات المقاومة للمضادات الجرثومية والانماط المظهرية لمقاومة الفانكومايسين وجينات عوامل الفوعة التي تمتلكها هذه الجراثيم (Creti *et al*., 2004; Leavis *et al*., 2006).

3.2 تصنيف الجنس : Classification of genus

اقترحت العالمة لانسفيلد Lancefielid عام 1933 نظام مصلي لتصنيف جراثيم المكورات المسبحية Streptococci الذي اعتمد على دراسة البنية الكيميائية للكربوهيدرات الموجودة في جدارها الخلوي مستخدمة الاحرف الابجدية الانكليزية في تقسيمها، ووجدت ان جراثيم المكورات المعوية تصنف ضمن مجموعة D من مجاميعها، حيث تمتلك عزلاتها مستضد سطحي متخصص للتفاعل مع المصل المضاد الخاص بمجموعة D (Jawetz *et al.*, 2004).

اما نظام التصنيف الذي وضعه Sherman عام 1973 فقد قسم المكورات المسبحية الى اربعة اقسام هي: *Pyogenic, Viridans, Lactic, Enterococci* واصفا *Enterococci* على انها تلك الجراثيم التي تعيش بدرجات حرارة (10–45) م°، وتركيز (6.5%) من كلوريد الصوديوم ،وفي وسط قاعدي(pH 9.6)، ولها القدرة على تحلل الاسكولين والنمو بوجود املاح الصفراء، وتتفاعل مستضداتها السطحية مع المصل المضاد الخاص بمجموعة D من مجاميع لانسفيلد، مستخدما تلك الصفات للتميز بين المكورات المعوية *Enterococci* والمكورات المسبحية الغيرمعوية Non-enterococcal Streptococci (Schleifer,1986). ونتيجة لوجود تشابه بين هذه الانواع لذا فقد اقترح تسميات اكثر دقة اعتمادا على صفتي تحلل الدم والجلاتين وعلى النحو الاتي

أ– *S. faecalis* سالبة لتحلل الدم والجلاتين.

ب– *S. faecalis* var. liquefaciens سالبة لتحلل الدم و موجبة لحل الجلاتين.

ج– *S. faecalis*.var.haemolyticus موجبة لتحلل الدم وسالبة لحل الجلاتين.

د– *S. faecalis*.var. zymogenes and *S. duran* موجبة لتحلل الدم والجلاتين. (Facklam & Teixeira, 1997) .

في الاربعينات والخمسينات من القرن العشرين تبين ان الانواع التي وصفها-Oral Jensen تختلف بصفاتها الكيميوحياتية عن نوع *S. faecalis* مثل عدم اختزال التترازولوم Tetrazolium والتثبيط بواسطة تيلوريت البوتاسيوم Potassium tellerit (PT) وهذا ماجعلها تعود الى تسمية *S. faecium* الذي لم يكن معروف كنوع منفصل في موسوعة بيرجي عام1957. فضلا عن انواع المكورات المعوية المذكورة فقد عزلت انواع اخرى لهذه الجراثيم من نماذج مختلفة بشرية وحيوانية وغذائية و نباتية، اذ لوحظت الانواع المتحركة منذ عام

1935 وعرفت *S. faecium subsp.mobili* ،والانواع المنتجة للصبغات الصفراء في 1950 وسميت *S. faecium var.casselifavus*. في عام 1955 عزل نوع لجراثيم المكورات المعوية من الاجبان واقترح تسميته *S. malodaratus* (Murray, 1990).

واتضح في الستينات 1960s ان المصطلحات الثلاثة (Faecal *Streptococci*, Group D *Streptococci*, *Enterococci*) لم تعد تمثل اسماء مترادفة ذات دلالة واحدة كما يفهم سابقا. اذ استخدم االمصطلح الاول Fecal *Streptococci* لوصف انواع مختلفة من المكورات المسبحية اصلها من البراز واقترح عدم استخدامه لانه لايعطي غرضاً تعريفياً. اما الثاني فاستخذم لتعريف مجموعة المكورات المعوية التي تتفاعل مع المصل المضاد الخاص بمجموعة D من مجاميع لانسفيلد وذات صفات مميزة، والمصطلح الاخير فاستخدم لتعريف مجموعة مكورات مسبحية تعطي تفاعلاً موجباً مع المصل المضاد بمجموعة D لكنها مختلفة في صفاتها عن المكورات المعوية لذ تسمى بالمكورات المسبحية الغير معوية وشملت *S. bovis* و *S. equinus* (Facklam, 1972).

في عام 1967 شخصت بعض العزلات المشابهة لصفات جراثيم المكورات المعوية الانها تعطي تتفاعلا موجبا مع المصل المضاد الخاص بمجموعة Q فضلا عن المصل المضاد لمجموعة D من مجاميع لانسفيلد، وقدعزلت تلك العزلات من براز الانسان والحيوانات الثابتة الحرارة وبالاخص الدجاج لذ سميت *S. avium* (Nowlan & Deible, 1967)

2.4. اعادة تصنيف جراثيم المكورات المعوية:

في الثمانينات من القرن العشرين استخدمت الطرق والتقنيات الوراثية التي احدثت تطورات تصنفيية مهمة، ففي عام 1983 قدم Farrow وجماعته نتائج دراسات تهجين الحامض النووي DNA hybrodization والصفات الكيميوحيوية التي ميزت الانواع المذكورة سابقا عن بعضها كما وجد ان بعض عزلات المكورات المعوية تمتلك مجموعة D ومعزولة من براز الدجاج ايضا لكنها تختلف عن *S. avium* لذ سميت *S. gallinarum* (Murray , 1990).كما بينت نتائج الدراسات الوراثية لتهجين الحوامض النووية DNA & RNA hybrodization ودراسات الاحماض الدهنية والمقاومة للبنسلينات التي قدمت من قبل

كل من Killper-Balz و Schleifer عام 1984 ان الانواع *S. faecalis* و *S. faecium* مختلفة عن جنس *Streptococci* واحدثت هذه المعلومات تغيراً جذرياً ، لذا اقترح الباحثان نقلها الى جنس منفصل عرف بـ *Enterococci*. بالرغم من ان هذه التسمية قد اطلقت سابقا الاانها لم تستخدم حتى توصل الباحثان لهذه النتائج واصبح استخدامها اكثر قبولا (Schleifer, 1986; Manero & Blanch, 1999).

واستنادا لهذه النتائج وضعت جراثيم المكورات المعوية في جنس منفصل سمي *Enterococci* ونقلت الى هذا الجنس الانواع التي تمتلك صفات مشابه له والتي كانت تعرف سابقا ضمن جنس *Streptococci* وبذلك حلت تسمية الجنس *Enterococci* محل تسمية الجنس السابق (Murray, 2000 Cetinkay., *et al* 2000) . واصبح جنس المكورات المعوية يصنف ضمن عائلة Enterococcaceae (Baron & Fingold, 1990). اضيفت انواع جديدة لاحقا الى هذا الجنس اذ اصبح يضم (12) نوعاً هي *E. avium* , *E. durans* , *E. hirae*, *E. faecium* , *E. gallinarium*., *E. faecalis* , *E.casseliflavus*,, *E. solitarius* , *E. raffiniosus* , *E. psedoavium*, *E. mudndtii* , *maloaoratus* (Facklam & collins, 1989).

اضاف Holt وجماعته في 1994 (4) انواع جديدة وهي *E. dispar* , *E. cecorum* , *E. saccharolyticus* , *E. seriolicida* اعتمادا على بعض الصفات التشخصية، في عام 1998 واعتمادا على تسلسل جزيئة (16s rRNA)، اضيفت الانواع *E.* , *E. sulfurous* , *E. flavescens columbe*، واستقر عدد الانواع حتى عام 2000 (Baron *et al*., 1999; Mundy *et al*., 2000).

ونتيجة لتطور الطرائق التشخيصية فقد عزلت انواع جديدة اخرى تعود لجنس المكورات المعوية منها النوعان *E. gillvus* sp nov و *E. pallens* sp.nov ليضم هذا الجنس في عام 2002 (21) نوعا مختلفا في الصفات الزرعية والكيموحيوية والمرضية والوراثية (Tyrrell *et al*., 2002). في عام 2003 عزلت من مصادر مختلفة (5) انواع جديدة وهي: *E. villorum* , *E. raati*, *E. porcinus* , *E. moraviensis* , E. *heamoperoxidus* ليضم هذا الجنس (26) نوعا (Semedo *et al*., 2003). وبفعل استخدام التقنيات الحديثة مثل تقنيات الهجرة الكهربائية للبروتينات والتقنيات الوراثية منها تهجين الحوامض النووية ،

ومعرفة تركيب القواعد النتروجينية في الحامض النووي DNA والتي تعرف بالنسبة المئوية للسايتوسين Cytosione و Guanine (%C+G)، وتحديد تسلسل القواعد النتروجينية للاحماض النووية باستخدام تقنية التفاعل المتسلسل لانزيم البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR)، وكذلك تحديد تسلسل هذه القواعد لجزيئة 16s rRNA و tRNA لذا فقد اضيفت انواع جديدة منها *E. casin* , *E. hermanniesis* *E.* (Naser *et al*., 2005). *italicus,*كما اضيف النوع sp.nov *E. deviresei* المعزول من مصادر حيوانية مختلفة (Svec *et al*., 2005a) ، والنوع sp.nov *E. aquimarimus* المعزول من مياه البحر ليصل عددها في عام 2005 الى (31) نوعا (Svec *et al*., 2005b).

وشخصت ثلاثة انواع جديدة تضمنت *E. termitis* sp.nov , *E. silesiacus* sp.nov المعزولتان من امعاء الحشرت (Svec *et al*., 2006). ونوع *E. aceae* sp.nov المعزول من براز الاشخاص الاصحاء ليصل عدد انواع جنس المكورات المعوية الى (34) نوعاً لغاية عام 2006 (Carvalho *et al*., 2006).

5.2 عوامل الفوعة : Virulence factors

استخدمت جراثيم المكورات المعوية كمنشطات حيوية Probiotics في صناعة الالبان حيث تلعب دورا مهما في انتاج وتحسين مذاقها ، ولغرض موازنة الاحياء المجهرية الموجودة في الامعاء وفي علاج التهاب المعدة والامعاء Gastroentritis للانسان والحيوان ، ولغرض انتاج البكتريوسين المضاد لجرثومة *Listeria* المسببة للتلوث الغذائي، الا ان هذه الاستخدمات قد تشكل خطر على صحة الانسان لامتلاكها جينات عوامل الفوعة و المقاومة للمضادات الجرثومية القابلة للانتقال بين عزلاتها (Eaton & Gasson, 2001;Hancock & Perego, 2002).

تم التعرف على العديد من عوامل الفوعة التي تنتجها جراثيم المكورات المعوية ولاتزال الدراسات مستمرة في هذا المجال، ومن هذه العوامل: انتاج انزيم الهيمولايسين Haemolysin، وانزيم الجلاتينيز Gelatinase، واليات الالتصاق المختلفة، والفرمونات Phermones،و حامض اللايبوتايكويك Lipotiechoic acid،والبكتريوسينات Bacteriocines، السوبر اوكسيد خارج خلوي Extracellular superoxid وانتاج انزيم الهايلورونديز Hylouronidase (Jett *et al*., 1994; Kayaoglu & Orstavik, 2004). فضلا عن عوامل فوعة اخرى منها المحفظة Capsule (Huebner *et al*., 2000) ، انزيم البيتالاكتاز β- Lactamase (Cetinkaya *et al*., 2000) ، والاهداب Pili (Nallapareddy *et al*., 2006).

1.5.2.انتاج انزيم الحال للدم : Haemolysin

تُعد دراسة Todd عام 1934 اولى الدراسات عن الانزيم الحال للدم المتخصصة بعوامل الفوعة لجراثيم المكورات المعوية، اذ ان بعض عزلاتها تنتج مناطق حل واضحة على وسط اكار دم الحصان لانتاجها الهيمولايسين على هذا الوسط دون الاوساط السائلة، كما لوحظ تكّون مناطق حل رائقة من التحلل تحيط بمستعمراتها على اوساط اكار الدم المحضر من دم الانسان والحصان والارنب والابقار ولاتحلل اكار الدم المحضر من دم الاغنام الذي يستخدم غالبا في مختبرات تشخيص الاحياء المجهرية مما جعل الهيمولايسين صفة غير واضحة لهذه الجراثيم في اغلب الاحيان (Jett *et al*., 1994).

يمتلك الهيمولايسين المنتج من قبل هذه الجراثيم فعاليتي الذيفان Toxin والبكتريوسين Bacteriocin. اذ يعمل على تلف خلايا حقيقية النواة Euokaryotic المصابة كما يعد بكتريوسين محور فعال ضد مدى واسع من الجراثيم الموجبة لصبغة كرام لذا يعرف بالسايتولايسين(Cytolysin (cyl نظرا لفعاليته ضد خلايا حقيقية وبدائية النواة Prokaryotic (Budzik & Schneewind, 2006; Gulhan *et al*., 2006).

دلت العديد من التجارب في الحيوانات المختبرية على دورالهيمولايسين في امراضية هذه الجراثيم، اذ وجد ان العزلات المنتجة للهيمولايسين اكثر فوعة من الغير منتجة او المطفرة بفقدان الجينات المشفرة لانتاجه في حالات التهاب شغاف القلب والتهاب الاغشية البصرية (Jett *et al*., 1992; Chow *et al*., 1993).كما لوحظ ان الجرعة القاتلة لـ (50%)

من العزلات المحللة للدم كانت اكثر (10) مرات من العزلات الغيرمحللة للدم في اصابات الاغشية البريتونية للفئران (Mundy *et al*., 2000).

يسبب انتاج الهيمولايسين من عزلات *E. faecalis* المقاومة لمضاد Gentamycin زيادة (5) اضعاف لخطر الموت المفاجى خلال (3) اسابيع في حالات التجرثم الدموي داخل المستشفيات مقارنة بالعزلات الغير منتجة والحساسة للمضاد المذكور (Huycke *et al*., 1991) . تعد صفة انتاج الهيمولايسين واسعة الانتشار بين العزلات المرضية مقارنة بالعزلات البرازية للاشخاص الاصحاء وتظهر العزلات المنتجة مقاومة متعددة للمضادات الجرثومية اكثر من العزلات الغير منتجة للانزيم (Ike *et al*., 1987 ; Inoue *et al*., 2006) .

يساهم الهيمولايسين بزيادة امراضية المكورات المعوية من خلال تاثيره المحلل للخلايا cytolytic حيث يحلل خلايا كريات الدم الحمر والخلايا المتعددة الانوية Polymorph nuclear cells (PMNs) وخلايا البلعم الكبير Macrophages وبالتالي فانه يسهم بتلف الانسجة بطريقة مباشرة (Kayaoglu & Orstavik, 2004). يعد الهيمولايسين صفة مظهرية مشفرة كروموسوميا احيانا وغالبا ما تشفر من قبل بلازميد عالي التخصص منتج للفرمونات يعرف PAD1 والذي له القابلية على الانتقال من العزلات المحللة الى العزلات الغيرمحللة (Ike *et al*., 1984).

2.5.2 الجلاتينيز :Gelatinase (Gel)

تمكن كل من Zimmerma, Bleiweis عام (1964) لاول مرة من استخلاص ووصف انزيم محلل للبروتينات يتكون من ببتيدات – زنك خارج خلوية لعزلات *E. faecalis*. في عام 1989 اقترح Makinen تسمية هذا الانزيم بالجلاتينيز اشارة لقدرته على تحلل الجلاتين Gelatine ، والكولاجين Gollagen ، والانسولينInsulin ، والكزائين Casein ، والازوكول Azocoll ، والهيموكلوبين Hemoglobin ، والفايبرينوجين Fibrinogen ، والببتيدات المرتبطة بالفرمونات الجنسية لعزلات *E.faecalis* ، والعديد من الببتيدات الفعالة بايلوجيا في اللبائن (Kayaoglu & Orstavik. 2004). واشارت معظم التجارب في الحيوانات المختبرية الى دور Gel في فوعة جراثيم المكورات المعوية اذ وجد ان

العزلات المنتجة لهذا العامل تسبب تحلل الجلاتين وتنخر الاسنان، وان العزلات المنتجة للجلاتينيز والهيمولايسين تسبب التهاب حويض الكلية، بينما لاتسبب العزلات الغير منتجة هذه الاصابات في الحيوانات المختبرية (Jett *et al*., 1994).

يعد Gel عامل مهم يساعد المكورات المعوية للانتقال عبر الخلايا المعوية للانسان وبذلك يزيد من الانتقال والانتشار في مناطق لاتتواجد فيها طبيعيا ، اذ اظهرت عزلات *E. faecalis* المعزولة من نماذج مرضية مختلفة والمنتجة للGel قدرتها على الانتقال بنسبة (63%) مقارنة بالعزلات الغير منتجة التي تنتقل بنسبة (25%) في مزارع الخلايا المعوية خارج الجسم الحي، ويعمل Gel على شطر الطي الخاطئ Misfolded للبروتينات السطحية والفايبرين لاختزال مستويات الفرمونات الطافية Supernatant للعزلات كما يساهم بعملية التحلل الذاتي Autolysis وبذلك يحدد طول سلسلة العزلات المنتجة (Zeng *et al*., 2005).

اشارت الدراسات الوراثية ان انتاج وفعالية Gel لتلك الجراثيم يخضع للنظام ثنائي التركيب اذ ان وجود الجين الكروموسومي *gel* المشفر لانتاج Gel لايرتبط مع تعبيره وانما يخضع لسيطرة المواضع التنظيمية Regulatory loci لنظام اوبرون *fsr* المتكون من(3) جينات وهي (*fsr* A, B, C) مسؤولة عن انتاج بروتينات تنظيمية للسيطرة على انتاج الانزيمات المحللة للبروتينات (Hancock & Perego, 2004). كما لوحظ ان جميع عزلات *E. faecalis* المرضية تمتلك جين *gel* الاان نسبة انتاج Gel فيها بين (60-62%) بسبب فقدان القطعة المشفرة لانتاج البروتينات التنظيمية ل *fsr* بهذه العزلات (Mohamed & Murray,2005).لقد دلت الدراسات اهمية اوبرون *fsr* المنظم لانتاج Gel في تكوين الغشاء الحيوي لهذه الجراثيم ، اذ وجد ان العزلات المطفرة بحذف *fsr* يوثر على تكوين الغشاء الحي مقارنة بالعزلات الغير مطفرة (Carinol *et al*., 2004).

تنتج العزلات المرضية لجراثيم المكورات المعوية انزيم Gel بنسبة اكثر من (50%) مقارنة (27%) في العزلات البرازية وهذا يوكد دور هذا العامل في فوعتها اذ يودي الى تلف الانسجة بطريقة مباشرة (Hancock & Gilmore, 2000).

3.5.2. المحفظة: Capsule

تعد المحفظات المتعددة السكريات Capsular polysaccharide (CPS) من عوامل الفوعة المهمة للعديد من الجراثيم المرضية.لقد اثبتت الدراسات باستخدام تقنية المجهر الالكتروني وجود محافظ في العديد من عزلات المكورات المعوية المرضية تساعدها من التداخل والبقاء حية في المضيف وتمكنها من مقاومة عملية البلعمة ,
(Hsu *et al.*, 2006; Hancock& Gilmore 2000). كماثبت ان CPS تظهر صفة مستضدية اذ ان تمنيع الحيوانات المختبرية بعزلات هذه الجرثيم المنتجة لها يعمل على تقليل اعدادها ويزيد معدل الاجسام المضادة التي تتواسط Mediate عملية قتلها، عليه ربما يوفر هذا المستضد خيار وقائي وعلاجي من الاصابة بتلك العزلات (Huebner *et al.*, 2000).

اكدت دراسة Huebner (1999) وجماعته الى ان عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* المرضيتان تمتلك مستضدات CPS والتي تكون اهداف لعملية الطهاية Opsonization لتسريع حدوث عملية البلعمة وبالتالي امكانية استخدامها في تحضير اللقاحات Vaccines للوقاية من الاصابات الناتجة عن العزلات المنتجة للمستضد، كما بينت الدراسة ان التركيب الكيميائي لهذا النمط من المستضد يشابه مستضد (LTA) مع استبدال ارتباط ذرة الكاربون الثانية للكلوكوز بمجموعة (α-2-1-D-glucose). تصنع البروتينات الضرورية لانتاج هذا النمط بتشفير من مجموعة جينات تعرف *epa* وان كلونة هذا الاوبرون ونقله من عزلات *E. faecalis* الى *E. coli* ليجري له تعبير جيني يتنتج نفس المستضد في المضيف الجديد. كما وجد هذا المستضد يتفاعل مع الاجسام المضادة الموجودة في مصل المرضى المصابين بالتهاب شغاف القلب المسبب من قبل العزلات المنتجة للمستضد Xu *et al.*, 2000).

وصف Hancock و Gilmore (2002) النمط المصلي الثاني لمستضد CPS في العديد من العزلات المرضية والمقاومة لمضاد الفانكومايسين ويتكون من Galactose-glycerol-teichoic acid. كما تم تحديد الاوبرون المشفر لانتاجه ويعرف *cap2* متكون من جينات متسلسلة (*A-K*)، وان ادخال جينات غير فعالة في هذا الاوبرون يودي الى فقدان تفاعل الاجسام المضادة مع مستضدات CPS من هذا النمط ويقلل من اعداد العزلات

المطفرة الموجودة في موقع الاصابة ويزيد من سرعة عملية البلعمة (Hancock *et al*., 2003)

4.5.2. آليات الالتصاق : Mechanisms of **adhesion**

تشترك الصفات السطحية لجراثيم المكورات المعوية ومنها الفة السطح للماء وشحنة سطح الخلية بالتصاقها بخلايا المضيف اذ تعمل على زيادة عملية الالتصاق عن طريق المساهمة في تداخلات كارهة للماء (Waar *et al*., 2002). تعتبرعملية التصاق جراثيم المكورات المعوية على سطوح خلايا المضيف خطوة اساسية لاحداث الاصابة وذلك بعد اختراقها لعومل المناعة الغير متخصصة في المضيف كالجلد والاغشية المخاطية ومن ثم الالتصاق بالخلايا الظهارية والبطانية والخلايا البيضاء والمادة البينية الخارج خلوية ومن ثم احداث الاخماج (Jett *et al*., 1994; Hancock & Gilmore, 2000). تمتلك جراثيم المكورات المعوية عدة اليات للالتصاق

1.4.5.2. مواد التجمع :Aggregation substances (AS)

وهي عبارة عن بروتينات سطحية تتوسط عملية التصاق وتتيح استيطان جراثيم المكورات المعوية بالخلايا حقيقية النواة. تشفر تلك البروتينات من قبل البلازميدات المنتجة للفرمونات وتساعد على انتقال البلازميدات من الخلية المانحة Donor cell الى الخلية المستلمة Recipient cell وتساهم بتكوين التجمعات الجرثومية للعزلات المقترنة.وتحفز تلك البروتينات عزلات *E. faecalis* على الاستيطان والتداخل مع الطبقة الظهارية المبطنة للامعاء في مزارع الخلايا المعوية Enterocytes كما تتوسط التصاقها بالخلايا الظهارية الكلوية (Well *et al*., 2000; Shepard &Gilmore, 2002).

وجد ان العزلات المنتجة لل AS تقاوم دفاعات المضيف مقارنة بالعزلات الغير منتجة اذ تحمي نفسها من دفاعات خلايا العدلة Neutrophils اما عن طريق البقاء داخل خلايا البلعمة مع توقيف عملية القتل او تثبيط لوظائف PMNs ومنها انتاج مادة السوبر اوكسيد وعملية الاكسدة ، ويكثر انتاج AS بين العزلات المرضية مقارنة بالعزلات البرازية (Hirt *et al*., 2002; Kayaoglu & Orstavik 2004). يفسر التصاق جراثيم المكورات المعوية بخلايا اللبائن بحسب نظرية المحفزات Moieties وذلك بتحليل سلاسل ببتيدات AS المنتجة من قبل الجينات المتواجدة على البلازميدات المنتجة للفرمونات والذي يمنح العزلات المنتجة له

خصائص الالتصاق والتداخل المباشر مع المستقبلات المتممة Integrin الموجودة على سطوح خلايا المضيف (Jett *et al* ., 1998; Waters *et al*., 2003).

2.4.5.2. البروتينات السطحية للمكورات المعوية: Enterococcal surface proteins (ESP)

تنتج جراثيم المكورات المعوية بروتينات سطحية مميزة ذات وزن جزيئي عالي مايقارب (202) كيلودالتون وتتكون من (1873) حامض اميني وحوالي (50–743) من هذه الحوامض حاملة للنهاية الطرفية N-terminal وتنتج ESP بتشفير من جين كروموسومي يعرف *esp* الذي يعطيها تركيب فريد ومميز مع تكرار للوحدات المشاركة في الارتباط مع مستقبلات المضيف الضرورية لعملية الالتصاق. تساهم ESP في تثبيط وظائف الجهاز المناعي ويتواجد *esp* في اغلبية العزلات المرضية، لذا تعد من عوامل الفوعة لهذه الجراثيم (Shankar *et al.*, 1999; Raad *et al*., 2005).

بينت دراسة Shankar وجماعته (2001) على انESP تساهم بوجود واستعمار عزلات *E. faecalis* في القناة البولية. وينتشر جين*esp* بين عزلات جراثيم المكورات المعوية بنسبة تتراوح من (23–68%) ،اذ يتواجد في عزلات *E. faecium* و*E. faecalis* وفي عزلات *E. raffinosus* المعزولة من حالات التجرثم الدموي بنسبة (51.7%) و (40.1%) و (100%) على التوالي ويرتبط تواجد هذا الجين مع وبائية العزلات اذ يساهم بشكل جزئي بانتشار العزلات المقاومة لمضاد الفانكومايسين (Harrington *et al*., 2004). ويزداد تواجد جين *esp* بين عزلات *E. faecium* مقارنة مع عزلات *E. faecalis* المعزولتان من نماذج مرضية مختلفة حيث سجلت نسبة التواجد (71%) و(60%) على التوالي (Dupre *et al*., 2003). كماوجد Toledo-Arana (2001) وجماعته ان تكوين الغشاء الحيوي مرتبط بوجود جين *esp* في عزلات *E .faecalis* حيث يشفر لانتاج ESP الضرورية في تكوين التجمعات الاولية ومن ثم تكوين الغشاء الحيوي.

3.4.5.2. الكاربوهيدرات السطحية: Surface carbohydrates

تمتلك جراثيم المكورات المعوية العديد من الكاربوهيدرات السطحية المعقدة ومنها D-manose, D-glucose, L-fucise, D-galactose, التي تتوسط عملية التصاق *E.*

faecalis بالخلايا الظهارية للقناة البولية والخلايا القلبية للانسان(Jett *et al*., 1994). واكدت العديد من الدراسات على ان (LTA) المستضد الكاربوهيدراتي الموجود في الجدار الخلوي لجراثيم المكورات المعوية يتوسط التصاقها بخلايا المضيف المختلفة (Hancock Gilmore, 2000; Kayaoglu & Orstavik 2004; Fabretti *et al*., 2006) .

4.4.5.2. اليات الالتصاق الاخرى : Other mechanisms of adherence

تتمكن جراثيم المكورات المعوية من التداخل والالتصاق مع بروتينات المصل وبروتينات المادة الخارج خلوية Extracellular matrix (ECM) ومنها مجموعة المخثرات الدموية(الفايبرين، الفيبرونكتين، الفايبرينوجين) ، والفترونكتين Vitronectin،واللاكتوفيرين Lactoferrin (Shankar *et al*., 1999). وتبين ان عزلات *E. faecalis* تنتج بروتينات Adhesion collagen (Ace) تتوسط الالتصاق المتخصص لهذه العزلات ببروتينات ECM. تشفر Ace من جين *ace* ،و ان العزلات المطفرة لهذا الجين تكون اقل التصاق بالبروتينات المتخصصة من العزلات الغير مطفرة (Nallapareddy *et*0 *at*., 200).

تنتج بعض عزلات جراثيم المكورات المعوية مستضد التهاب شغاف القلب Endocarditis antigen (Efa A) وهو تركيب بروتيني يشفر من قبل جين *efa* A وهو شائع في عزلات *E. faecalis* المعزولة من مصادر مختلفة (مرضية، غير مرضية، بيئية، غذائية) ، ووجد ان هذه البروتينات تشبه بروتينات الالتصاق المنتجة من قبل جراثيم المكورات المسبحية (Shepard & Gilmore, 2002;Creti *et al*., 2004). تعتبر Efa A مادة لاصقة تساعد العزلات المنتجة لها من الالتصاق بخلايا المضيف ولذا فان وجود جين *efa* A بين عزلات *E.faecalis* يزيد من التصاقها وبالتالي من امراضيتها في التهاب شغاف القلب في الحيوانات التجريبية (Eaton & Gasson, 2001). اثبتت دراسة Dupre وجماعته (2003) تواجد جين *ace* و *efa* A في عزلات *E. faecalis* المعزولة من العديد من النماذج المرضية بنسبة (60%) و(86%) على التوالي.

يعد تلزن كريات الدم الحمر من الاليات التي تساعد جراثيم المكورات المعوية على الالتصاق بخلايا المضيف اذ وجد ان عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* البرازية تتمكن من

تلزن كريات الدم الحمر للانسان بنسبة (37%) و(9%) على التوالي. وكذلك التلزن مع كريات الدم الحمر للحصان والابقار بنفس النسبة (12.5%) و(3.6%) لكل منهما على التوالي (Gulhan *et al*., 2006). اكدت الدراسات الحديثة على وجود تراكيب سطحية تتكون من لييفات بروتينية تدعى الاهداب Pili لجراثيم المكورات المعوية تساعدها من الالتصاق بخلايا المضيف وكذلك لها دور مهم في اصابات التهاب شغاف القلب وتكوين الغشاء الحيوي (Budzik & Schneewid, 2006; Nallapareddy *et at*., 2006).

5.5.2. حامض اللايبوتايكويك : Lipoteichoic acid(LTA)

يتميز بوليمر LTA بانه غير ثابت العناصر في الجراثيم الموجبة لصبغة كرام ومن ضمنها جراثيم المكورات المعوية اذ من الممكن فقدان مجموعة D-alanin المرتبطة مع ذرة الكاربون الثانية للكليسيرول ويلعب هذا التغير دور مهم في التداخلات البيئية فيعمل في عزلات *E. faecalis* على زيادة تكوين الغشاء الحيوي وزيادة المقاومة للمضادات الببتيدية وزيادة الجذب والالتصاق بالخلايا حقيقية النواة بالمقارنة مع العزلات الحاملة لهذه المجموعة وبالتالي زيادة امراضيتها (Fabretti *et al*., 2006) . يشترك LTA في العديد من العمليات الحيوية لجراثيم المكورات المعوية منها تغير الاستجابة الالتهابية المناعية للمضيف حيث يحفز خلايا وحيدة النواة Monocytes على تحرير العديد من الوسائط الالتهابة مثل الانترلوكين Interleukin(IL-6, IL-8, IL-1B) والعامل النخري الورمي Tumor necrosis factor-alph (TNF-α) في مزارع خلايا وحيدة النواة ،وكريات الدم البيض للانسان، وانزيم المُوثين(PGE2) Prostoglandin، وانزيم اللايسوسوم Lysosomal في حالات التهاب الصفاق Peritonitis في الحيوانات التجريبة، وتكوين $O2^-$ من قبل خلايا وحيدة النواة للانسان، كما لوحظ انه يثبط عملية التحلل الذاتي لتلك الجراثيم عند معاملتها بالمضادات الجرثومية والمنظفات (Kayaoglu & Orstavik 2004). كما يساهم LTA بالتبديل والانتشار السريع للمحددات الوراثية Genetic determinants بهذه الجراثيم وكذلك يتوسط التصاقها بخلايا المضيف، ولوحظ دور LTA في مرض التهاب شغاف القلب التجريبي في الارانب (Hancock & Gilmore, 2000).

6.5.2. البكتريوسينات : Bacteriocins

تعرف البكتريوسينات بانها بروتينات او ببتيدات جرثومية تنتج من قبل عترة معينة تثبط نمو الجراثيم الاخرى وكذلك عزلات نفس النوع المنتج لها، وتتصف اغلب البكتريوسينات المنتجة من قبل جراثيم حامض اللاكتك Lactic acid bacteria بانها صغيرة وكارهة للماء وتمتلك تاثير المضادات الجرثومية وثابتة حراريا ومثبطة للجراثيم المسببة للتسمم الغذائي لذا تستخدم كمواد حافظة للغذاء (Nilsen *et al*., 1998).

تنتج جراثيم المكورات المعوية العديد من البكتريوسينات الفعالة ضد نفس عزلاتها وضد الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام، والتي تمنحها افضلية التواجد البيئي والمقاومة للمضادات الجرثومية وبالتالي المساهمة في انتشار العزلات المرضية في المستشفيات (Inoue *et al*., 2006). كما وجد ان العزلات المرضية لهذه الجراثيم والمقاومة لمضاد الفانكومايسين اكثر انتاجا للبكتريوسينات من العزلات البرازية و الحيوانية والبيئية الحساسة له، لذ يقترح ان انتاج البكتريوسين يعد احد العوامل المؤثرة في وبائية انواع هذه الجراثيم المقاومة للفانكومايسين (Campo *et al*., 2001).

7.5.2. الهايلوروندیز : Hyaluronidase(Hyl)

يحلل الهايلوروندیز حامض الهيالورونك Hyaluronic acid المادة الاساسية في الانسجة الضامة ينتج هذا الانزيم من قبل العديد من الانواع الجرثومية مثل الجراثيم اللاهوائية والعنقوديات والمسبحيات.يساعد على انتشار تلك الانواع وسمومها بين الانسجة لذا يعرف بالعامل الناشر The spreading factore (Jawetz *et al*., 2004).

يشترك انزيم Hyl في امراضية جراثيم المكورات المعوية المسببة لامراض الاسنان اذ ان العزلات المنتجة للانزيم تكون اكثر ضراوة من العزلات الغير منتجة في حدوث التنخرات الاولية لامراض الاسنان نتيجة لتخريب في المادة الاسمنتية الاساسية للطبقة الظهارية في الاسنان بسبب فعالية انزيم Hyl الذي تنتجه تلك العزلات (Jett *et al*., 1994). يشفرجين *hyl* لانتاج انزيم Hyl ولوحظ ان وجود ESP و Hyl يرتبط مع عزلات *E.f.aecium* المستوطنة في المستشفيات، اذ وجد جين *esp* و*hyl* بنسبة (67.9%) و (73.9%) على التوالي في عزلات من مستشفيات كوريا (Oh *et al*., 2005).كما وجد في احدى مستشفيات اسبانيا التعليمية ان العزلات المسببة للتجرثم الدموي تنتج انزيم Hyl بنسبة (9%) (Coque *et al*., 2005).

8.5.2. انزيم البيتالاكتاز : β-Lactamase

قبل اكثر من (60) سنة كانت المضادات الجرثومية الحاوية على حلقة β-Lactam وبالاخص مضاد البنسلين Penicillin هو الاكثر فعالية في علاج جراثيم المكورات المعوية الان الاستخدام المفرط لهذه المضادات ادى الى ظهور عزلات جرثومية مقاومة بشكل ملحوظ (Mainardi *et al*., 2005). واصبحت مقاومة جراثيم المكورات المعوية لمضاد البنسلين اكثر من جراثيم المكورات المسبحية وازداد التركيز المثبط الادنى Minimum inhibitory concentration (MIC) الى ضعف ماكان عليه وحددت فعالية هذا المضاد على التثبيط دون القتل (Murray, 1990). تبدي جراثيم المكورات المعوية مقاومة ذاتية مشفرة كروموسوميا لاغلب المضادات الجرثومية الحاوية على حلقة β-Lactam اما بسبب امتلاك العزلات المقاومة بروتينات ذات وزن جزيئي واطى تعرف بالبروتات المرتبطة بالبنسلين Penicillin Binding Proteins (PBP) او بسبب انتاج العزلات المقاومة لانزيم β-Lactamase (Moellering,1998).

ينتج هذا الانزيم من قبل العديد من الجراثيم المرضية ويعمل على تحطيم مضادات البنسلينات والسيفالوسبورينات اذ يعمل على تحطيم حلقة β-Lactam وبالتالي تحويلها الى مركبات غير فعالة (Collee *et al*., 1996).في الثمانينات من القرن الماضي لوحظ لاول مرة عزلات من *E. faecalis* منتجة لكميات قليلة من انزيم β-Lactamase مسببة للعديد من الاصابات المرضية (Murray, 2000). ويرتبط انتاج هذا الانزيم بظهور جراثيم المكورات المعوية بشكل اكثر انتشارا مسببة للاخماج المكتسبة من المستشفيات بسبب *E. faecalis* و *E. faecium* المقاومة للبنسلين (Huycke *et al*., 1998).

اظهرت الدراسات ان الجينات المشفرة لانتاج هذا الانزيم في جراثيم المكورات المعوية تشبه الجينات التي تشفر لانتاجه في جرثومة *S. aureus* والمحمولة على البلازميدات الاقترانية ولها القابلية على الانتقال من عزلات هذه الجراثيم المنتجة للانزيم الى عزلاتها الغير منتجة (Jawetz *et al*., 2004). ولوحظ ان معظم حالات انتاج انزيم البيتالاكتاز في عزلات *E. faecalis* تعزى الى اكتساب تلك الجينات من *S. aureus* ، واشارت احدى الدراسات الى ان انتاج هذا الانزيم يوثر في اصابات التهاب شغاف القلب الناتج عن هذه

الجراثيم ، وعموما فان انتاج هذا الانزيم في جراثيم المكورات المعوية يحدث بشكل غير منتظم (Cetinkaya *et al*., 2000).

يتباين انتاج هذا الانزيم في عزلات *E. faecalis* المرضية المنتجة لهذا الانزيم المعزولة من الولايات المتحدة والعديد من الدول الاخرى تبايناً جغرافياً اذ تظهر تلك العزلات القابلية على الانتقال فوجد ان العزلات المنتشرة في شمال شرق وجنوب الولايات المتحدة يرجع اصلها الى عزلة واحدة. لذا يقترح امكانية انتقال مثل هذه العزلات الى مناطق جغرافية اخرى (Jawetz *et al*.,2004).

9.5.2. الفرمونات : Pheromones

تتميز فرمونات جراثيم المكورات المعوية بانها ببتيدات صغيرة بطول (7–8) حامض اميني لها خاصية رهاب الماء مشفرة كروموسوميا تحفز انتقال بلازميد DNA بين عزلاتها المقترنة. وقد تم التعرف الى (20) نوعاً من البلازميدات المنتجة للفرمونات والشائعة في العزلات المرضية اكثر من العزلات البرازية وهذا مايوكد دورها في امراضية هذه الجراثيم (Waters *et al*., 2003).

10.5.2. مادة السوبر اوكسيد خارج خلوي : Extracellular super oxide

يعد انتاج مادة السوبر اوكسيد خارج خلوي صفة مرتبطة مع فوعة جراثيم المكورات المعوية المسببة للتجرثم الدموي والاصابات المرضية الاخرى، وتنتج هذه المادة من قبل معظم عزلات *E. faecalis* والقليل من عزلات *E. faecium*. ولوحظ في الاصابات تحت الجلدية التجريبية زيادة انتاج هذه المادة داخل الجسم الحي في حالة تواجد عزلات *E. faecalis* في الاصابات المختلطة مع *Bacteriodes fragilis* (Mundy *et al*., 2000).

تزداد معدلات انتاج مادة السوبر اوكسيد خارج خلوي في العزلات المرضية مقارنة مع العزلات البرازية اذ سجلت عزلات *E. faecalis* المرضية معدلات زيادة بنسبة (60%) اكثر من العزلات البرازية (Huycke *et al*., 1998).ويشترك جذر الاوكسجين الحر الموجود في مادة السوبر اوكسيد في تحطيم خلايا وانسجة المضيف من خلال فعاليته التدميرية لمدى واسع من المركبات الحيوية المهمة ومنها الدهون والبروتينات والحوامض النووية Kayaoglu & Orstavikk, 2004) .

6.2. تكوين الغشاء الحيوي : Biofilm formation

تعرف الاغشية الحيوية Biofilms بانها تجمعات لاحياء مجهرية وحيدة الخلية لتكوين تراكيب متعددة الخلايا تلتصق بالسطوح، وتكوينها يحدث نتيجة استجابة لاسباب بيئية منها الكثافة العالية للخلايا، ونقص المغذيات، والتعرض لضغوط بيئية فيزيائية (Watnic & Kolter, 2000.O´Toole *et al*., 2000).

يتطلب تكوين الاغشية الحيوية التصاق خلية جرثومية مفردة بالسطح لبناء ركيزة Substratum لنموها الى مستعمرات صغيرة متكونة من عدة مئات من الخلايا المتزايدة، ثم تفرز هذه المستعمرات مادة بينية تعرف بمتعدد السكريات الخارج خلوي Exopolysaccharide matrix تحيط بالمستعمرات لتكوين تنظيم معقد متعدد الطبقات من الاغشية الحيوية(Costerton *et al*., 1999; Jawetz *et al*., 2004; Merode *et al*., 2006)..

تتنوع البيئات الداخلية للاغشية الحيوية بشكل كبير فيما يتعلق بتواجد المغذيات والظروف البيئية الاخرى،هذا التنوع في المراكز البيئية هو شرط مهم لانتاج معقد الغشاء الحيوي الذي يتواجد فيه سلالة من نوع معين متعايشة بطريقة تعاونية Mutualism (Kreft *et al*., 2001).ولغرض تكيف الجراثيم داخل هذه المراكز المختلفة فانها تعرض تباين واسع في معدلات عمليتي الايض والتضاعف(Sternberg *et at*., 1999).

تتمكن الفطريات والجراثيم المرضية من تكوين الغشاء الحيوي في سطوح المستلزمات الطبية المختلفة مثل القثاطر المستخدمة لقسطرة الاوردة الرئسية والمجاري البولية،وصمامات القلب المصنعة، والمفاصل البديلة لذ يوصى في هذه الحالات بالعلاج لفترات زمنية طويلة (Donlan, 2001; Li *et al*., 2003). فضلا عن ذلك تتمكن جراثيم المكورات المعوية من تكوينه في قنوات جذور الاسنان،وفي قنوات الكبد الصفراوية، وفي العديد من المواد الحيوية المختلفة (Mohamed & Murray, 2005; Waar *et al*., 2002).

تمتلك الخلايا المنتجة للغشاء الحيوي بشكل واضح قابلية التعبير عن خصائص متميزة تختلف عن الخلايا العالقة Planktonic cell المفردة للجراثيم ومنها المقاومة المتعددة للمضادات الجرثومية اذ يمكنها الغشاء الحيوي من استبعاد فعالية المركبات القاتلة الحيوية Biocides وقد يتخصص ضد مجموعة معينة من المضادات الجرثومية لذا يظهر كصفة مظهرية (Mah & O´Toole, 2001). كما يعمل على زيادة مقاومة العزلات المنتجة لاليات دفاع المضيف، ولذلك فان الاغشية الحيوية تمثل مصدر مستمر لاصابة العديد من

المرضى وزيادة تميزها يعتبر مشكلة صحية مهمة لمرضى المصابين بالاحياء المجهرية وبشكل خاص الاصابات الجرثومية (Costerton *et al*., 1999).

اشارت العديد من الدراسات الى قابلية جراثيم المكورات المعوية على تكوين الغشاء الحيوي خارج الجسم الحي *In vitro* ، اذ وجد ان عزلات *E. faecium* المرضية المسببة لحالات التجرثم الدموي الناتج عن عملية قسطرة الاوردة الرئيسية تكون اكثر انتاجا للغشاء الحيوي من العزلات البرازية ، وزيادة مقاومة العزلات المنتجة للغشاء الحيوي الى فعالية المضادات الجرثومية مقارنة بالعزلات الغير منتجة (Kristich *et al*., 2004; Raad *et al*., 2005).

ترتبط الاصابات المرضية الشديدة الخطورة الناتجة عن عزلات هذه الجراثيم بانتاج الغشاء الحيوي خارج الجسم الحي وفي سطوح المستلزمات الطبية المختلفة، اذ وجد ان عزلات *E.faecalis* المسببة للتجرثم الدموي بفعل عملية القسطرة وحالات التهاب شغاف القلب تكون اكثر انتاجا للغشاء الحيوي من العزلات المسببة لاصابات اخرى (Sandoe *et al*., 2003; Mohamed & Murray, 2005).

تناولت العديد من الدراسات تفسير تكوين الغشاء الحيوي في جراثيم المكورات المعوية،فقد اكد Toledo-Arana وجماعته(2001)على ان بروتينات ESP ضرورية في تكوينه لعزلات*E. faecalis*.الاان دراسات اخرى لم توكد ذلك، اذ يمكن لعزلات هذه الجراثيم انتاج الغشاء الحيوي بالرغم من فقدانها لجين *esp* المشفر لانتاج ESP (Udo *et al*., 2003 Ramadhan & Hegedus, 2005).

اشارت دراسات اخرى ارتباط وجود جينات المجموعة التنظيمية *fsr* وجين *gel* المشفر لانتاج Gel معا لانتاج الغشاء الحيوي في عزلات *E. faecalis* ، اذ وجد ان العزلات المطفرة بحذف *fsr* و *gel* تفقد قدرتها على انتاج الغشاء الحيوي (Hancock & Perego, 2004; Carniol *et al*., 2004). على اى حال فقد ثبت عدم وجود علاقة بين انتاج Gel وتكوين الغشاء الحيوي لبعض عزلات *E. faecalis* من نماذج مرضية مختلفة (Mohamed & Murray, 2005).

بالرغم من المساهمة الجزئية لـ*esp* وGel في تكوين الغشاء الحيوي الا ان الاليات او المحددات الوراثية المسؤولة بشكل رئيسي عن تكوينه غير محددة. على اى حال فقد ثبت ان شحنة سطح الخلية تلعب دور مهم في استعمار والتصاق الخلية الجرثومية والتي من الممكن

ان تتطور لانتاج الغشاء الحيوي، اذ وجد ان عزلات *E. faecalis* المتغايرة الشحنات السطحية تنتج الغشاء الحيوي اكثر من العزلات المتماثلة الشحنات (Merode *et al*., 2006). كما وجد ان حذف مجموعة استرات الالنين الموجودة في جزيئة LTA يودي الى زيادة تكوين الغشاء الحيوي لهذه العزلات مقارنة مع العزلات الطبيعية الغيرمطفرة (Fabretti *et al*.,2006).

تمتلك بعض جراثيم المكورات المعوية الاهداب التي تنتج بتحفيز من السورتيز Sortase (srtc) الذي يقوم بربط النهاية الطرفية C-terminal للمجموعة الكاربوكسيلية للبروتينات السطحية المفردة (المنتجة من قبل الخلية) باصرة ببتيدية مع بقايا اللايسين لمجموعة سلسلة الامين لتكوين تراكيب شعرية المعروفة بالاهداب التي تلعب دور مهم في تكوين الغشاء الحيوي وفوعة الاصابة بالتهاب شغاف القلب التجريبي الناتج عن عزلات *E. faecalis* (Budzik & Schneewind, 2006). وجد ان هذه العزلات المنتجة لبروتينات الاهدابEBP بتشفر من اوبرون *ebp* وجين*srtc* تكون اكثر انتاجا مقارنة بالعزلات المطفرة الغير مهدبة، وقد يرتبط انتاج الغشاء الحيوي مع محددات وراثية اخرى منها محدد التحلل الذاتي Autolysin (*atn*) ومجموعة جينات *epa* المشفر لانتاج متعدد السكريات. بالرغم من الاختلافات الملاحظة بوجود او عدم وجود جينات مرتبطة بتكوين الغشاء الحيوي الانها قد تساهم بشكل جزئي في امكانية تكوينه (Nallapareddy *et at*., 2006).

7.2. الامراضية :Pathogenicity

يعد جنس المكورات المعوية من الاجناس الجرثومية ذات الاهمية الطبية نظرا لما تمتلكه من عوامل فوعة تساهم في نشوء وتطوير اصاباته (Facklam&Teixeira, 1997; Shepard & Gilmore , 2002) . تتمكن هذه الجراثيم من احداث الاخماج المرضية اولا بالالتصاق بسطوح خلايا المضيف وتتخذها موقع للاستعمار Colonization فيها ومن ثم النفوذ والتخلص من الآليات المناعية الدفاعية للمضيف وتنتج تغيرات امراضية في المضيف اما بشكل مباشر عن طريق انتاج السموم او فعالية عوامل ضراوتها وبالاخص الهيمولايسين والجلاتينيز التي تساهم بزيادة الاخماج التي تسببها هذه الجراثيم او بشكل غير مباشر وذلك بتحفيز الاستجابة الالتهابية (Hancock & Gilmore, 2000).

وتكون معظم حالات الاصابة بهذه الجراثيم داخلية المنشأ Endogneous أي من المريض نفسه مصدرها القناه المعوية والتناسلية المشتركة واصابتها او خارجية المنشأ Exogneous مصدرها من اشخاص اخرين كالعاملين في المستشفيات او الزائرين فضلا عن البيئة الملوثة (Cetinkaya *et al*., 2000).

يعد مرض التهاب شغاف القلب Endocarditis من اخطر الامراض التي تسببها هذه الجراثيم اذ يمكنها مهاجمة الصمامات الطبيعية والبديلة والمرضية للقلب وينتج عن ذلك تلف في البطانة الداخلية للصمامات وبالتالي فشل في وظيفة القلب وربما تؤدي الى الوفاة. ويصنف هذا المرض الى التهاب شغاف القلب تحت الحاد Subacutal والحاد Acutal، وتعد جراثيم المكورات المعوية ثالث الاجناس الجرثومية الشائعة بعد المكورات العنقودية والمسبحية اذ تشكل (5–20%) من مجموع الجراثيم المسببة لهذا المرض (Giessel *et al*., 2000; Nallapareddy *et al*., 2006). كما تسبب هذه الجراثيم اخماج القناة البولية والتي تعد من اكثر الحالات شيوعا وترتبط هذه الاخماج بالتراكيب الغير طبيعية او بوجود القثاطر، فبحسب النظام المسحي لعدوى المستشفيات National Nosocomial Infection Survellainace (NNIS) System وجد ان هذه الجراثيم تسبب (12–14%) من اخماج القناة البولية المكتسبة من المستشفيات وتعد ثاني الاجناس الجرثومية المسببة لهذه الاخماج بعد جرثومة *E. coli* (Huebner *et al*., 2000; Desai *et al*., 2001).

اشار Shankar وجماعته (2001) ان التصاق ESP لهذه الجراثيم بالخلايا الظهارية لمثانة الحيوانات المختبرية يعد الخطوة الرئسية الاولى لحدوث هذه الاخماج، اذ تسبب هذه الجراثيم التهاب المثانة Cystitis والتهاب البروستات Prostatitis عن طريق المسلك التصاعدي الى الاحليل والحالبين وقد تؤدي الى حدوث خراج حول الكليتين (Murray, 1990). كما لوحظ بانها تتمركز بكثرة في انسجة الكلى للحيوانات المختبرية مسببة بذلك التهاب الحويض والكلية Pylonephrotitis (Kau *et al*., 2005).

تسبب جراثيم المكورات المعوية التجرثم الدموي Bacteremia وذلك بعد نفوذها الى مجرى الدم من مصادر اصاباتها واغلب حالات دخولها تحدث نتيجة لاستخدام القثاطر الوريدية اذ تسبب حوالي (35%) من حالات التجرثم الدموي (Sandoe *et*

(*al*., 2003). وبالرغم من ذلك تبقى العديد من هذه الاصابات غير واضحة المصدر ويعتقد ان مصدرها يعود الى القناة المعوية استنادا الى نظرية الانتقال Translocation، اذ تقوم خلايا البلعم الكبير اوبعض خلايا الظهارية المعوية بالتهام الجراثيم الملتصقة بالمعي وتهاجر حاملة أياها الى القنوات اللمفاوية ويودي فشل عملية البلعمة الى تكاثرها وانتشارها في الدم وبذلك تسيب اصابات جهازية Systematic infection (Jett *et al*. 1994; Hancock & Gilmore, 2000) . لقد امكن عزل *E. faecalis* من العقد اللمفاوية والكبد والطحال بعد تجريعها فمويا الى الحيوانات المختبرية (Zeng *et al*., 2005). تأتي هذه الجراثيم بالمرتبة الثالثة من المسببات الجرثومية الشائعة لاصابات التجرثم الدموي المكتسبة من المستشفيات اذ تسبب (12.8%) من حالات الاصابة ; Liassine *et al*., 1998) Hancock & Gilmore, .2000) ويسبب التجرثم الدموي بتلك الجراثيم معدل وفيات من (30–68%) من المرضى، وترجع اغلب الاسباب الى عمر المريض ، والمعالجة المتكررة بالمضادات ، والمرضى المعرضون لخطر التثبيط المناعي، واطالة فترة بقاء المريض في المستشفى فضلا عن التجرثم الدموي المتعدد الجراثيم (Huycke *et al*., 1991).

تسبب هذه الجراثيم اخماج التجويف البطني والحوضي Intra abdominal& pelvic infection حيث تعد الاكثر شيوعا من بين الجراثيم المسببة لهذه الاخماج والتي يكون معظمها داخلي المنشا اذ لوحظ بان هذه الجراثيم تشكل (25%) من المسببات الجرثومية لهذه الاخماج وان (44%) من هذه الاخماج كان مصدرها القولون و(18%) منها مصدرها المعدة والاثني عشر. كماعزلت من التهاب الغشاء البريتوني (الصفاق) ومن اخماج التلوث بعد العمليات Postoperative infections ومن اخماج القناة الصفراوية ومن تقيحات البطن والتهاب الرحم بعد الوضع Post-partum endomyometritis (Zervous & Lewis, 1990).

اشار Balish و Warner (2002) الى ان *E. faecalis* تحفز الامراض الالتهابية التجريبية في الامعاء اكثر من الجراثيم الاخرى مثل *Bascillus spp, E.coli* *Candida albicans* , وانواع من *Lactobacillus* بمظاهر اصابة متعددة اذ تسبب اولا التهاب القولون التقرحي Ulcerative colitis نتيجة لالتهاب الطبقة المخاطية المبطنة للقولون والمستقيم ومن ثم ينتج عنها التهاب حبيبي في الامعاء الغليضة والدقيقة وبالتالي خلل

نسيجي في الامعاء وقد يتطور الى اصابات عضوية سرطانية Carcinoma. وتسبب انواعها المقاومة للمضادات اصابات خطرة لدى مرض الديال الدموي Hemodialysis (Kalocheretis *et al*., 2004).

وجد ان هذه الجراثيم تسبب التهاب الاذن الوسطى Otitis media، اذ عزلت من الاطفال باعمار (10) اشهر من تقيحات الاذن الوسطى بصورة نقية او مختلطة مع المسببات الجرثومية الاخرى، وتستطيع هذه الجراثيم احداث اخماج في الجهاز التنفسي بالرغم من انها تتواجد فيه باعداد قليلة اذ تسبب ذات الرئة Pnemonia Murray, (1990)، كما عزلت من التقيحات الرئوية وكذلك من المرضى المصابين بسرطان الرئة (Pompel *et al*., 1991).

تسبب المكورات المعوية اخماج الجروح Wound infection سواء كانت جروح الكي Burn-wounds وجروح العمليات وجروح غير العمليات فقد عزلت بنسبة (29.%) و(22.2%) و(17.7%) من اخماج الجروح المذكورة على التوالي (Desai *et al*., 2001). كما تسبب تلك الجراثيم وبشكل محدد خراجات الجلد والانسجة الملساء Skin and soft tissue abscess وتكون الاصابة شائعة عندما تتواجد انواع اخرى من الجراثيم المسببة لهذه الاخماج التي تتمثل بالحروق وقرحة القدم والجروح المرتبطة بعمليات البطن والانسجة المحطمة مسبقا ونادرا ماتسبب اخماج في الانسجة السليمة وتكون اصاباتها اشد خطورة عندما تتواجد مع جراثيم *Clostridium perfringens, Bactriodes fragilis* , *E. coli* بسبب تازر Synergism هذه الجراثيم المنتجة لعوامل الفوعة مع المكورات المعوية لاحداث الخمج (Zervous & Lewis,1990; Jett *et al*., 1994).

تعد جراثيم المكورات المعوية من المسببات القليلة لمرض السحايا اذ تسبب هذه الجراثيم اخماج في الجهاز العصبي لدى الاطفال وكبار السن ونادرا ماتحدث في الاشخاص الاصحاء، وتنتج هذه الاصابات اما بسبب مضاعفات الامراض الاخرى مثل التهاب شغاف القلب والتهاب الحويض والكلية اوبسبب اصابات في الجهاز نفسه مثل كسور الجمجمة او الصدمة العصبية او ارتشاح سائل النخاع الشوكي، بالرغم من ان عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* هما الاكثر شيوعا في تلك الاخماج الا انه وجد ان عزلات *E. casselifaras* المرضية قد تسبب ايضا مرض السحايا (Iaria *et al*., 2005).

تسبب تلك الجراثيم التهاب الاغشية البصرية الداخلية Endophthalmitis، اذ وجد ان *E. faecalis* مسؤولة عن (15%) من حالات الاصابة (Jett *et al*., 1994, 1998) . كما وثق ارتباط تلك الجراثيم مع امراض الاسنان اذ تسبب تنخرات االاسنان واخماج حوالي السن Preiodontitis (Kayaoglu & Orstavik 2004)، وحالات قليلة من التهاب المفصل Arthritis والتهاب العظم Osteomyelitis ، اذ عزلت *E. raffinose* من تلك الاخماج (Sandoe *et al*., 2001).

2.8. الوبائية : Epidemiology

برزت جراثيم المكورات المعوية في العقدين الماضيين كممرضات مهمة مسبة للاخماج المكتسبة من المستشفيات والمجتمع (Prakash *et al*., 2005; Fabretti *et al*., 2006). وازدادت أهمية هذه الجراثيم الواسعة الانتشار بزيادة ظهور أنواعها المتعددة المقاومة للمضادات الجرثومية والتي تتميز بقدرتها على الاستيطان والانتشار السريع مسببة بذلك العديد من الاخماج في المستشفيات لذا اصبحت مشكلة صحية بتزايد متسارع ; 2000 (Mundy *et al*., Hancock & Perego, 2002) . ونظرا لما تمتلكه هذه الجراثيم من عوامل الفوعة والقدرة على مقاومة المضادات الجرثومية لذا تبدو منتشرة بشكل عالمي ، اذ سجلت في الدول المتقدمة و النامية على حدا سواء (Nass *et al*., 2005; Oh *et al*., 2005; Zeng *et al*., 2005; Hsu *et al*., 2006).

تختلف وبائية جراثيم المكورات المعوية باختلاف المناطق الجغرافية فتظهرعزلاتها المقاومة لمضاد الفانكومايسين في الولايات المتحدة بشكل مستوطن Endemic بنسبة اصابة (30%) (Leavis *et al*., 2006)، اما في الدول الاوربية فتستوطن في المستشفيات وبين بعض فئات المجتمع وتظهر كفاشيات للامراض المكتسبة من المستشفيات Nosocomial outbreaks تحدث بشكل متفرق بين الحين والاخر بنسبة اكثر من (10%) في ستة اقطار اوربية بحسب النظام المسحي لمقاومة المضادات الجرثومية الاوربي European Antibiotic Resistance Surveillance System (EARSS) لعام 2002 (Coqe *et al*., 2005; Novais *et al*., 2005). ثم ارتفعت نسبة الاصابة بهذه العزلات بالدول الاوربية لتصل الى (20%) وشكلت نسبة (29%) لمرضى وحدات العناية المركزة في الولايات المتحدة (Theilacker *et al*., 2006).واخذت هذه الجراثيم بالانتشار الشائع والتزايد في العديد من دول العالم وخاصة

داخل المستشفيات (Desai *et al*., 2000; Udo *et al*., 2003). كما وتختلف وبائية نوعي *E. faecalis* و *E. faecium*، اذ ان النوع الاول اكثر تكرارا وشيوعا بين العزلات المرضية بينما تظهر عزلات النوع الثاني وبالذات المقاومة للفانكومايسين والامبسلين اكثر ارتباط بتفشي الامراض في المستشفيات (Leavis *et al*., 2004).

وثق النظام المسحي لعدوى المستشفيات الوطنية (NNIS) عام 1996 ازدياد ملحوظ لاصابات هذه الجراثيم عن فترة الثمانينات من القرن الماضي بنسبة زيادة (12% مقابل 17%) من اصابات مجرى الدم و(15% مقابل 11%) من اصابات العمليات و(14%) من اخماج القناة البولية ، كما وجد ان جراثيم المكورات المعوية تشكل مايقارب (110,000) من اخماج القناة البولية و(25,000) من حالات التجرثم الدموي و(40,000) من اخماج الجروح و(1.100) من حالات التهاب شغاف القلب سنويا في الولايات المتحدة وان معظم هذه الاخماج مكتسبة من المستشفيات (Huycke *et al*., 1998). كما بينت دراسة (NNIS) في عام 1998 على ان هذه الجراثيم مسؤولة عن (14%) من اخماج القناة البولية و(20%) من اخماج الصمامات القلبية و(10%) من اخماج مجرى الدم اذ تعد ثاني الاجناس الجرثومية المسببة لاخماج مجرى الدم واكثر شيوعا حتى من المكورات العنقودية (Huebener *et al*., 2000. ولقد ولقد تم الاشارة الى ان جراثيم المكورات المعوية تصنف في المرتبة الثانية من الممرضات المسببة للاخماج المكتسبة من المستشفيات بعد جرثومة *E. coli* بنسبة اصابة اكثر من (12%) لجميع حالات الاخماج (Hancock & Gilmore, 2000; Leavis *et al*., 2004) .

تصيب جراثيم المكورات المعوية الانسان بكلا الجنسين وقد تسبب حالات وفيات بعض الاحيان، وتعد الاخماج بهذه الجراثيم في كبار السن اكثر شيوعا من الاطفال، عدا الاطفال حديثي الولادة Neonatal اذ تظهر بشكل اكثر انتشارا مسببة لحالات التجرثم الدموي والسحايا، ماعدا مرض التهاب شغاف القلب اذ انه اكثر شيوعا في كبار السن وقليل في الاطفال ونادر في حديثي الولادة (Murray,1990).

يختلف التوزيع الجغرافي لانواع المكورات المعوية بين الدول، ففي اوربا والولايات المتحدة والشرق الاقصى، النوع الشائع هو *E. faecalis* ، او *E. faecium* (Huycke *et al*., 1998; Baron *et al*., 1999). زيادة معدلات الاصابة بهذه الجراثيم ربما ترتبط بالعديد من

العوامل منها اطالة فترة مكوث المريض في المستشفى ، الضعف المناعي نتيجة الاصابة بالامراض، المقاومة الذاتية او المكتسبة لمدى واسع من المضادات الجرثومية ،والعمليات الجراحية واستخدام البدائل مثل القثاطر (Dasei *et al*., 2001; Mundy *et al*., 2000; Theilaker *et al*., 2006).

تنتقل هذه الجراثيم بشكل مباشر من المريض المصاب الى الشخص الملامس فضلا عن انتقالها بين المستشفيات عند دخول المريض المصاب مرة اخرى وكذلك انتقالها الى بيوت العاملين في المستشفيات وهذا مايزيد من خطر انتقالها الى المجتمع (Murray, 2000; Ostrowsky *et al*., 2001). وتنتقل بشكل غير مباشر بعدة طرق منها تلوث ايادي العاملين بالمستشفيات بهذه الجراثيم ، اوعن طريق تلوث السطوح البيئية الغير حية لغرفة المريض ،اوعن طريق استخدام اللوازم والمعدات الطبية الملوثة (Ric, 2001; Bonten *et a*l., 2001).

يعد البراز هو المصدر الرئيسي لجراثيم المكورات المعوية والمسؤول عن وبائية الانواع المقاومة للمضادات الجرثومية وتساهم حالات الاسهال بزيادة انتشار وتلوث المستشفيات (Cetinkaya *et al*., 2000; Grayson *et al*., 1999).كما لوحظ امكانية انتقال انواعها المتعددة المقاومة والمنتجة لعوامل الفوعة من البيئات الملوثة بالبراز او السماد الحيواني الى الانسان عن طريق الحشرات او عن طريق تناول الغذاء الملوث ببراز او لعاب الذباب المنزلي (Macovei & Zurek,2006).

2. 9 . المقاومة للمضادات الجرثومية :

ان الاستخدام المستمروالمفرط للمضادات الجرثومية ادى الى ظهور عزلات مرضية متعددة المقاومة اذ اصبحت تمثل مشكلة شائعة عالميا بسبب الانخفاض التدريجي لاعداد المضادات الجرثومية الفعالة في علاج الحالات المرضية (Singh-Nas *et al*., 1999; Macovei & Zurrek, 2006). خلال العقدين الماضيين تطورت مقاومة جراثيم المكورات المعوية للعديد من المضادات الجرثومية بشكل ملحوظ واصبحت صفة المقاومة ميزة معروفة لمعظم انواعها (Facklam & Teixeira, 1997; Rice, 2001; Leavis *et al*.,2004).

ونالت هذه الجراثيم اهتمام العديد من الباحثين والاطباء مع تزايد نسبة الاصابة السنوية بها وخاصة الاصابات المكتسبة من المستشفيات وكذلك بسبب زيادة ظهور وانتشار عزلاتها المتعددة المقاومة وقد تكون السبب وراء تفشي اخماج المستشفيات والمجتمع (Huycke *et al*., 1998; Prakash *et al*., 2005) .

تقسم مقاومة جراثيم المكورات المعوية للمضادات الجرثومية الى نوعين رئيسين هما المقاومة الذاتية Intrinsic resistance والمقاومة المكتسبة Acquired resistance. وتعرف المقاومة الذاتية بانها صفة موروثة الاصل ومشفرة كروموسوميا من قبل جيناتها التي تمنع فعل مجموعة من المضادات الجرثومية ، وتقاوم عزلات هذا النوع مستويات واطئة من المضادات الجرثومية الحاوية على حلقة β–Lactams و Aminoglycocides و Clindamycin و Fluoruinokones و Trimethoprim- Sulfamethoxazol (Cetinaya *et al*., 2000; Jawetz *et al*., 2004). اما المقاومة المكتسبة فتعرف بانها اكتساب جينات تشفر لمقاومة واحد او اكثر من المضادات الجرثومية نتيجة لحدوث طفرة كروموسومية في DNA او عن طريق اكتساب جينات جديدة تحمل صفة المقاومة موجودة اما على البلازميدات او الترانسبوزونات وتقاوم عزلات هذا النوع مستويات عالية من – βLactams ,Fluroquinolones ,Glycopeptides Aminoglycocides , وكذلك Macrolides ,Licosamide , StreptograminB ,Tetracyclin Chloroamphenicol ، StreptograminB (Murray, 1990; Mundy *et al*.,2000) .

تنتقل جينات المقاومة من الخلية المانحة الى الخلية المستلمة فتصبح الاخيرة مقاومة للمضادات ويحدث الانتقال بشكل واسع بواسطة الاقتران الوراثي (Baron *et al*., 1994). وتتواجد ثلاثة انظمة للاقتران في جراثيم المكورات المعوية ، النظام الاول تنتقل فيه البلازميدات المتواجدة بمدى ضيق في المضيف بتردد عالي استجابة للفرمونات المنتجة من قبل الخلية المستلمة ويقتصر على عزلات هذ الجنس ، والنظام الثاني تنتقل فيه البلازميدات المتواجدة بمدى واسع في المضيف بتردد واطى بين عزلات هذه الجراثيم والاجناس الجرثومية الاخرى ، والنظام الثالث هو انتقال العناصر الوراثية القافزة (بالترانسبوزونات) المتواجدة بمدى واسع للجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام. وبذلك تتمكن جراثيم المكورات المعوية من انتقال واكتساب الجينات فيما بينها، مثل بين عزلات *E.*

faecalis اوبين عزلات او *E. faecium* اوبين كلا النوعين ، او بينها وبين الاجناس الجرثومة الاخرى مثل *Lactobacillius spp Streptococci spp* , , *Staphylococci* , *B.subtilis* , *L.monocytogenes* (Jett *et al*., 1994; Murray, 2000). كما لوحظ امكانية التوصيل الوراثي عن طريق النقل الاولي للعاثي Prophage الذي له القدرة على نقل العناصرالوراثية الخاصة بمقاومة المضادات الجرثومية وعوامل الفوعة بين انواعها (Lepage *et al*., 2006).

تتميز اغلب العزلات المرضية بتحملها لفعالية المضادات الجرثومية على جدارها الخلوي لذا فانها تثبط ولا تقتل، لذا فان استخدام المضادات المفردة ذي فائدة محدودة وخصوصا في حالة المرضى ضعيفي المناعة اوالذين يعانون من الاصابة بامراض خطرة مثل التهاب شغاف القلب والتجرثم الدموي والسحايا والاخماج الاخرى، لذلك يستخدم مزيج تآزري Synergistic من المضادات الجرثومية مثل مزيج مضادات β– Lactam منها Penicillin اوAmpicillin اوGlycopeptide مثل Vancomycin مع مضادات Aminoglycocides مثل Streptomycin او Gentamycin (Moellering, 1998) وفي حالة مقاومة العزلات للمضادات المذكورة فيمكن استخدام مزيج كل من Gentamycinو Ciprofloxacin و Rifampin (Murray, 2000).

اما في حالة الاصابات المتعددة المقاومة (MDR) Multi-drug resistance فقد استخدمت العديد من المضادات لغرض المعالجة الانها تظهر فعاليتها لفترة محدودة ثم يحدد استخدامها اما بسبب ظهور عزلات مقاومة او لتاثيرها المثبط دون القاتل اولسمية الجرعة اللازمة للتثبيط او استخدامها لمجموعة مرضى دون غيرهم ومنها Rifampin ،Chloroamphenico، Ketolides وهي من مضادات Macrolide ،Novobiocin،Fosfomycin،Ramoplanin،Glycylcylines (Cetinkaya *et al*., 2000).

وابدت المضادات الجرثومية الجديدة (QD)Quinupristin-Dalfopristin و Linezolid فعالية جيدة تجاه العزلات المتعددة المقاومة استخدمت بنجاح في علاج الاصبات الناتجة عنها. الاان الاستخدام المتكرر لمضاد Linezolid ادى الى اختزال معدلات الاستجابة وظهور العزلات المقاومة (Rice *et al*., 2004).كما ظهرت عزلات مرضية مقاومة لمضاد QD بمعدلات عالية في كوريا واليابان ومن الممكن انتشارها الى

مناطق اخرى ولكن بالرغم من ذلك يبقى المضادان المذكوران هما الاكثر فعالية في علاج اصابات هذه الجراثيم في الوقت الحاضر (Oh *et al*., 2005),

10.2 مقاومة المكورات المعوية لمضاد الفانكومايسين :

ظهرت لاول مرة عام 1986 في فرنسا وانكلترا عزلات من جراثيم المكورات المعوية مقاومة للـ Glycopeptides وبالذات لمضاد Vancomycinمسببة للعديد من الاصابات داخل المستشفيات وسرعان ماانتشرت في الولايات المتحدة وكندا والعديد من دول العالم، اذ اصبحت هذه المقاومة صفة متميزة اذ باتت تعرف بالمكورات المعوية المقاومة للفانكومايسين Vancomycin Resistant Enterococci (VRE) (Toye *et al*., 1997; Murray, 2000). عزلت VRE من عينات مختلفة منها مرضية وبرازية لاشخاص اصحاء وغذائية وحيوانية وحتى من عينات بيئية لذا فقد اقتصر استخدام مضاد الفانكومايسين في بعض الدول لعلاج حالات معينة منها الاصابات الناتجة عن وجود المكورات العنقودية المقاومة لمضاد Methicillin ولعلاج اصابات *Clostridium difficile* واصابات المكورات المعوية المتعددة المقاومة (Inversen *et al*., 2002; Kuhn *et al*., 2005).

فبحسب النظام المسحي (NNIS) لوحظ زيادة سنوية في نسبة الاصابة المكتسبة من المستشفيات والناتجة عن وجود VREمن (0.3%) الى (7.9%) بين السنوات (1989–1993) أي بزيادة (20) مرة (Huycke *et al*., 1998).وسجلت زيادة نسبة الاصابة بـ VREالى (47%) بين السنوات (1994–1998) (Mundy *et al*., 2000). وسجلت نسبة وفيات من (30–46%) للمرضى في وحدات العناية المركزة في الولايات المتحدة نتيجة الاصابة بعزلات VRE المسببة للتجرثم الدموي (Grayson *et al*., 1999). وبحسب نظام NNIS لعام 2004 فقد شكلت عزلات VRE نسبة (25%) من المكورات المعوية المسببة لاصابات المرضى في وحدات العناية المركزة (Rice *et al*., 2004)، وتتواجد هذه العزلات بنسبة (25–50%) في مستشفيات الولايات المتحدة (Eigner *et al*., 2005)، حيث تستوطن عزلات VRE في مستشفيات الدول الاوربية والولايات المتحدة مسببة لاصابات شديد وزيادة في تفشي الامراض المكتسبة من المستشفيات Leavis *et al* (., 2005; Novasis et al., 2005).

وثقت العديد من الدراسات على ان الاصابة بعزلات VRE المكتسبة من المستشفيات والمجتمع اصبحت تمثل مشكلة مهمة متضاعفة الخطورة والانتشار لعدة اسباب منها صعوبة السيطرة اومنع ظهورها، قابلية جراثيم المكورات المعوية ذات التواجد الطبيعي في الانسان على اكتساب صفة المقاومة للفانكومايسن، ومقاومة عزلات VRE لمضادات جرثومية اخرى مستخدمة في علاج الاصابات الناتجة عن هذه الجراثيم منها مضادات βLactams و Macrolides و Aminoglycocides وبالتالي تحديد خيارات العلاج المستخدم وارتفاع نسبة الوفيات المرتبطة باصابات VRE، والامر الاكثر خطورة هو امكانية انتقال المقاومة للفانكومايسين الى الجراثيم الاخرى الموجبة لصبغة كرام الاكثر ضراوة منها المكورات العنقودية (Liassnie *et al*., 1998;;Mundy *et al*., 2000; Freitas *et al*., 2006)

تقسم جراثيم المكورات المعوية المقاومة للـ Glycopeptides الى ستة اصناف مظهرية من A الى E و G اعتمادا على صفة المقاومة لمضادي Vancomycin و Teicoplanin (عالية ، ومتوسطة ، وواطئة) فضلا عن طبيعة المورثات المقاومة (ذاتية ، ومكتسبة) كما هو موضح في حدول (2−2) (Cetinkaya *et al*., 2000).

تظهر عزلات الصنفان VanA و VanB اكثر شيوعا من اصناف المقاومة الاخرى (Kuriyama *et al*., 2003; Bonten *et al*., 2001). يشكل الصنف VanA مايقارب من (70%−80%) بينما VanB (20%) من عزلات VRE في الولايات المتحدة ويشكل اصنفان مايقارب (60%) منها (Moellering, 1998), كما وصف موخرا الصنف van G من *E. faecalis* في استراليا وكندا (Nass *et al*., 2005).

ان تطور مقاومة جراثيم المكورات المعوية ربما يعود الى عدة اسباب منها كون هذه الجراثيم هي جزء من النبيت الطبيعي للقناة المعوية ، والاستخدام المفرط للمضادات الجرثومية وبالاخص للفانكومايسن والجيل الثالث من Cephalosporin وعوامل المضادات المستخدمة ضد الجراثيم اللاهوائية وهذا ماجعلها معرضة لضغط الاستخدام المستمر وبالتالي تطوير ميزة اختيارية للمقاومة (Harbarth *et al*., 2002; Rice *et al*., 2004) ، ويرتبط وجود عزلات VRE في بعض الدول باستخدام المضادات المنشطة لنمو الحيوانات ومنها Avoparcin وهو احد انواع مضادات Glycopeptides ومشابه لحد كبير لمضاد

الفانكومايسين حيث ان استخدام هذه المحفزات يقدم صفة الافضلية لنمو واستعمار عزلات VRE في الحيوانات المعاملة (Gambarotto *et al*., 2000; Macovei & Zurek, 2006). ولوحظ كذلك امكانية انتقال جينات المقاومة للفانكومايسن من العزلات ذات الاصل الحيواني الى العزلات المتواجدة بشكل طبيعي في الانسان عن طريق السلسلة الغذائية (Lester *et al*., 2006).

وترتبط حدوث الاصابة والاستعمار بعزلات VRE بعدة عوامل منها الاستخدام المستمر للمضادات الجرثومية لاغراض علاجية او وقائية، المكوث لفترات طويلة في المستشفيات، الضعف المناعي نتيجة الاصابة بالامراض منها الامراض السرطانية اومرضى عمليات زرع الانسجة او الاعضاء ،فضلا عن مرضى وحدات العناية المركزة (Austin *et al*., 1999; Singh-Naz *et al*., 1999; Rice, 2001).

جدول (2-2) الاصناف المظهرية للمكورات المعوية المقاومة لمضادات Glycopeptides

الخصائص	الصنف المظهري				
	VanA	vanB	vanC	vanD	vanE
Vanco MIC (μg/ml)	1000>64	1000-4	32-2	128-64	16
Teico MIC (μg/ml)	512-16	≤ 0.5	≤ 0.5	4	0.5
اصل المقاومة	مكتسبة	مكتسبة	ذاتية	مكتسبة	مكتسبة
القدرة على انتقال جينات المقاومة	تنتقل	تنتقل	لاتنتقل	لاتنتقل	لاتنتقل
موقع جينات المقاومة	بلازميدات	كروموسوم او بلازميدات	كروموسوم	بلازميدات	بلازميدات
الانواع الاكثر شيوعا	*E. fam*[a] *E. fas*[b]	*E. fam*[a]	*E. gallinarum* *E.cassliflavus* *E. flavesscens*	*E. fam*[a]	*E. fas*[b]

(Moellering, 1998; Centinkaya *et al*., 2000)

Vanco = Vancomycin , Teico = Teicoplanin
van = Vancomycin Resistant Enterococci
a: *E. faecium* ,b: *E.faecali*s

3. المواد وطرائق العمل

1.3.الأجهزة والمواد :

1.1.3. الاجهزة المستخدمة :

استخدمت الاجهزة والمستلزمات المختبرية المدرجة في الجدول أدناه إثناء فترة الدراسة:

جدول (3-1) الأجهزة المستخدمة والمستلزمات المختبرية المستخدمة.

ت	اسم الجهاز	الشركة المجهزة (المنشأ)
1	الموصدة Autoclave	Express (England)
2	حاضنة Incubator	Memmert (Germany)
3	مجهر ضوئي مركب Compound light microscope	Olympus (Japan)
4	فرن كهربائي Electric oven	Memmert (Germany)
5	ميزان Balance	Ohaus (Germany)
6	منبذة Centrifuge	Hettich (Germany)
7	جهاز تقطير Distillator	Exelo (England)
8	ميزان حساس Sensitive balance	Precisa (Switzerland)
9	مقياس الأس الهيدروجيني pH-meter	Jenway (Germany)
10	منظومة الاليزا ELISA	Organon NV (Belium)
11	ماصات دقيقة Micropipettes	Slamed (Germany)
12	وحدة ترشيح غشائي Micro pore filter unit	Gallenkamp (England)
13	أنابيب شعرية Plane capillary tubes	Assistant (Germany)
14	صفيحة دقيقة Microplate	Falcon Becton (Dickinson)
15	ثلاجة Refrigerator	Ishtar (Iraq)
16	ماصة باستور Pasteur pipettes	Brand (W. Germany)

2.1.3. المواد الكيمياوية والبايولوجية: Chemical and biological materials

1.2.1.3.المواد الكيمياوية : Chemical materials

استخدمت المواد الكيمياوية المدرجة في الجدول أدناه إثناء فترة الدراسة:

جدول (3-2) المواد الكيمياوية المستخدمة اثناء فترة الدراسة.

	اسم المادة		الشركة المصنعة (المنشا)
1	هيدروكسيد الصوديوم	NaOH	Merk (Germany)
2	كلوريد الصوديوم	NaCl	B.D.H (England)
3	بيرو كسيد الهيدروجين	H_2O_2	B.D.H (England)
4	كليسيرول	Glycerol	B.D.H (England)
5	حامض الهيدروكلوريك	HCl	B.D.H (England)
6	حامض الكبريتيك المركز	H_2So_4	B.D.H (England)
8	محلول الفورماليهايد	Formaldehyed	B.D.H (England)
9	كلوريد الباريوم المائي	$BaCl_2.5H_2O$	B.D.H (England)
10	تيلوريت البوتاسيوم	Potassium tellurite	B.D.H (England)
11	سترات الامونيوم الحديدية	Ferric ammonium citrae	B.D.H (England)

2.2.1.3. الأوساط الزرعية والمواد البايولوجية :

Culture media and biological materials

استخدمت الاوساط الزرعية والمواد البايولوجية المدرجة في الجدول ادناه اثناء فترة الدراسة.

جدول (3.3) الاوساط الزرعية والمواد البايولوجية المستخدمة اثناء الدراسة.

ت	اسم الوسط / المادة		الشركة المجهزة(المنشا)
1	أكار أزايد الدم	Azid blood agar	Oxiod (England)
2	أكار الدم الأساس	Blood agar base	Oxiod (England)
3	أكار نقيع القلب والدماغ	Brain-heart infusion agar	Difico (U.S.A)
4	مرق نقيع القلب والدماغ	Brain-heart infusion broth	Difico (U.S.A)
5	اكار الماكونكي	MacConkey´s agar	Oxiod (England)
6	اكار مولر هنتون	Muller-Hinton agar	Oxiod (England)
6	المرق المغذي	Nutrient broth	Mast (England)

8	اكار الصويا تربتكيز	Trpticase soya agar	Difico (U.S.A)
9	حليب اللتموس	Litmus milk	Difico (U.S.A)
10	اكار–اكار	Agar-agar	Oxiod (England)
11	مستخلص الخميرة	Yeast extract	Hemedia (Indian)
12	جلاتين	Gelatine	Oxiod (England)
13	ببتون	Pepton	Oxiod (England)
14	املاح البقر الصفراء	Oxbile -salt	B.D.H (England)
15	العدة التشخيصية الجاهزة	Slidex Strepto kit	Bio-merieux (France)

3.2.1.3. الكواشف والصبغات : Indicators and stains

استخدمت الكواشف والصبغات المدرجة في الجدول ادناه اثناء فترة الدراسة:

جدول (4.3) :الكواشف والصبغات المستخدمة اثناء الدراسة.

ت	اسم الكاشف /الصبغة		الشركة المجهزة (المنشا)
1	كاشف الفينول الاحمر	Phenol red	B.H.D (England)
2	صبغة كرام	Cram stain kit	معهد المصول واللقاحات (بغداد)
3	صبغة البلور البنفسجي	Grystal violet stain	B.H.D (England)
4	الحبر الهندي	Indian ink	B.H.D (England)

4.2.1.3 السكريات :

استخدمت السكريات المدرجة في الجدول أدناه أثناء فترة الدراسة :

جدول (5.3): السكريات المستخدمة اثناء الدراسة.

ت	اسم السكر		الشركة المصنعة (المنشأ)
1	لاكتوز	Lactose	Merck (Germany)
2	كلوكوز	Glucose	B.D.H (England)
3	منيتول	Mannitol	Merck (Germany)
4	سوربتول	Sorbitol	Merck (Germany)
5	رافينوز	Raffinos	B.D.H (England)
6	ارابينوز	Arabinose	Merck (Germany)

7	ادونتول	Adonitol	B.D.H (England)
8	سكروز	Sucrose	Merck (Germany)
9	زايلوز	Xylose	Merck (Germany)
10	سوربوز	Sorbose	Merck (Germany)

5.2.1.3. اقراص المضادات الجرثومية : Antimicrobial discs

استخدمت أقراص المضادات الجرثومية المدرجة في الجدول أدناه أثناء فترة الدراسة.

جدول (6.3): اقرص المضادات الجرثومية المستخدمة اثناء الدراسة .

ت	اسم المضاد الجرثومي	الرمز	تركيز المضاد µg/disc	الشركة المصنعة
1	Vancomycin	VA	30	Bioanalyse (Turkey)
2	Ciprofloxacin	CIP	5	Bioanalyse(Turkey)
3	Cloxacillin	CX	1	Bioanalyse(Turkey)
4	Cefotaxim	CTX	30	Bioanalyse(Turkey)
5	Rifampicin	RA	5	Bioanalyse (Turkey)
6	Amoxacillin	AX	25	Bioanalyse(Turkey)
7	Nalidixic acid	NA	30	Bioanalys (Turkey)
8	Tetracycline	TE	30	Bioanalyse (Turkey)
9	Erythromycin	E	15	Bioanalyse(Turkey)
10	Pencillin	P	10 unit	Bioanalyse(Turkey)
11	Trimethoprim	SXT	25	Bioanalyse(Turkey)
12	Amoxacillin + Clavulanic acid	AC	30 (20+10)	Bioanalyse(Turkey)

3.1.3. السلالة القياسية :

تم الحصول على السلالة القياسية Standard strain من قسم علوم الحياة كلية العلوم جامعة الموصل مصدرها معهد باستور Pasteur-Institute الحاملة للأرقام الاتية:

Enterococcus faecalis var.liquefacuens cod No.5430

2.3. طرائق العمل : Methods

1.2.3. التعقيم : Sterilization

1.1.2.3. التعقيم الجاف بالفرن : Dry sterilization by oven

استخدم الفرن الكهربائي (Oven) لتعقيم الزجاجيات المستعملة بدرجة حرارة 180م° لمدة ساعتين (الحديثي والسيمري، 1993).

2.1.2.3. التعقيم الرطب بالموصدة : Sterilization by autoclave

عقمت جميع الاوساط الزرعية بجهاز الموصدة بدرجة حرارة (121) م° وبضغط (15) باوند /انج² ولمدة (15) دقيقة (Collins & Lyne, 1979).

3.1.2.3. التعقيم بالترشيح : Sterilization by filtration

عقمت المحاليل المستخدمة اثناء الدراسة بالترشيح من خلال مرشحات دقيقة Millipore filter بقطر (0.45) مايكروميتر (الحديثي والسيمري، 1993).

2.2.3. تحضير الاوساط الزرعية : Culture media

حضرت الاوساط الزرعية بحسب تعليمات الشركة المنتجة لها والمبينة على العبوات وضبط الأس الهيدروجيني الى(7.2) ثم عقمت بجهاز الموصدة Autoclave في دررجة حرارة (121) م° ولمدة (15) دقيقة وبضغط (15) باوند /انج². حضنت الاوساط الزرعية بدرجة حرارة (37) م° ولمدة (24) ساعة للتاكد من عدم تلوثها ، ثم حفظت بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال.

1.2.2.3. وسط اكار الازايد والدم : Azid blood agar

وهو وسط انتخابي Selective medium استخدم لعزل جراثيم المكورات المعوية من النماذج المرضية المختلفة (Treagan & Pulliam, 1982) .

2.2.2.3. وسط اكار الدم الاساس: Blood agar base

استخدم الوسط لغرض عزل وتنمية جراثيم المكورات المعوية ولمعرفة قابليتها على تحلل الدم Haemolysis بواسطة انتاج الهيمولايسين Haemolysin (Huycke *et al*., 1991; Jett *et al*., 1991) .

حضرت الاوساط المعقمة للوسطين المذكورين اعلاه كل على انفراد وتركت في درجة حرارة الغرفة لتبرد الى درجة حرارة تتراوح بين (45-50) م° واضيف لكل وسط (5%) من دم الانسان مجهز من مصرف الدم في مستشفى بعقوبة العام ثم وزعت الاوساط في

اطباق بتري وتركت لمدة (10-15) دقيقة لتتصلب ، ومن ثم حفظت بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال.

3.2.2.3. وسط اكار الماكونكي : MacConkey´s agar No. 2

وهو وسط انتخابي استخدم لعزل جراثيم المكورات المعوية .

(Treagan & Pulliam, 1982) حضر الوسط المعقم وترك في درجة حرارة الغرفة ليبرد الى درجة حرارة تتراوح بين (45–50) م° ثم وزع في اطباق بتري وترك لمدة (10-15) دقيقة ليتصلب ومن ثم حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال.

4.2.2.3. وسط مرق نقيع القلب والدماغ: Brain-heart infusion broth (BHIB)

استخدم الوسط لتنمية وادامة عزلات المكورات المعوية اثناء فترة الدراسة كما ورد استخدامه لهذا الغرض في دراسات سابقة(Trttz *et al*., 1990; Xu *et al*., 1998) . كما استخدم لغرض عمل مزارع الدم Blood culture حيث ذوب الوسط جيدا ثم وزع في قسم من قناني زرع الدم بمعدل (50) مللتر وبمعدل (100) مللتر للقسم الاخر (Vandepttie *etal*., 1991) ، وبمعدل (5) مللتر في انابيب الاختبار المعقمة ثم عقم الوسط بالموصدة. ترك حتى يبرد في درجة حرارة الغرفة ، ومن ثم حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال.

5.2.2.3.وسط اكار نقيع القلب والدماغ : Brain-heart infusion agar (BHIA)

استخدم الوسط لتنمية عزلات المكورات المعوية اثناء فترة الدراسة كما ورد استخدامه لهذا الغرض في دراسات سابقة (Ruffo *et al*., 1990; Manero & Blanch, 1999).

6.2.2.3. وسط اكار الصويا تربتكيز : Trpticase soya agar (TSA)

استخدم الوسط لغرض اجراء اختباري الحركة وانتاج الصبغات لعزلات المكورات المعوية اثناء فترة الدراسة كما ورد استخدامه لهذا الغرض في دراسات سابقة (Facklam & Collins, 1989; Desai *etal*. 2001) .حضرت الاوساط المعقمة للوسطين المذكورين اعلاه كل على انفراد وتركت في درجة حرارة الغرفة لتبرد الى درجة حرارة تتراوح بين (45-50) م° ثم وزعت في اطباق بتري وتركت لمدة (10-15) دقيقة لتتصلب ، ومن ثم حفظت بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال.

7.2.2.3. وسط حليب اللتموس : Litmuse milk medium

استخدم الوسط لغرض تشخيص عزلات المكورات المعوية. ذوب الوسط بشكل جيد ثم وزع في انابيب اختبار بمعدل (5) مللتر وعقم بالموصدة لمدة (5) دقائق لان تعرض الوسط للحرارة العالية لفترة اطول تغير صفاته (Hanson & Cartwright, 1999). ترك الوسط حتى يبرد في درجة حرارة الغرفة، ومن ثم حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال.

8.2.2.3 . وسط اكار مولر هنتون : Muller-Hinton agar

استخدم الوسط في اختبار فحص الحساسية الدوائية لعزلات المكورات المعوية بطريقة الانتشار من الاقراص (Casals & Pringter, 1991). حضر الوسط المعقم وترك في درجة حرارة الغرفة ليبرد الى درجة حرارة تتراوح بين (45-50) م° ثم وزع في اطباق بتري وترك لمدة (10-15) دقيقة ليتصلب ومن ثم حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال.

3.2.3. الاوساط الزرعية المستخدمة بالتشخيص :

1.3.2.3. وسط اختبار تحمل الملوحة : Salt tolerance test medium

يعد هذا الوسط شبه انتخابي Semi-selective medium لعزل جراثيم المكورات المعوية حضر الوسط باذابة (6.5) غم من كلوريد الصوديوم NaCl في (100) مللتر من وسط BHIB وضبط الاس الهيدروجيني الى (7.2) ووزع في انابيب اختبار معقمة بمعدل (5) مللتر لكل انبوبة ثم عقم الوسط بالموصدة وترك ليبرد بدرجة حرارة الغرفة من ثم حفظ بدرجة (4) م° لحين الاستعمال (Collee *et al*., 1996).

2.3.2.3. وسط اختبار تحمل القاعدية ;Alkaline tolerance test medium

يعد هذا الوسط شبه انتخابي لعزل جراثيم المكورات المعوية حضر وسط BHIB حسب تعليمات الشركة المنتجة ثم ضبط الاس الهيدروجيني الى (9.6) وذلك باضافة محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1N) المحضر في الفقرة (3.4.2.3.هـ) ثم وزع الوسط في انابيب اختبار معقمة بمعدل (5) مللتر لكل انبوبة ثم عقم الوسط بالموصدة وترك ليبرد بدرجة حرارة الغرفة من ثم حفظ بدرجة (4) م° لحين الاستعمال (Facklam, 1972).

3.3.2.3. وسط اختبار تحلل الاسكولين Aesculine hydrolysis tes medium

وهو وسط انتخابي استخدم لعزل جراثيم المكورات المعوية حضر وسط Bile-aesculine agar تركيبيا كما ورد في (Collee *et al*., 1996) من المواد الاتية:

[Meat extract (3) غم ، Peptone (5) غم ، Ox bile (10) غم ، Aesculine (1) غم ، Ferric ammonium citrate (0.5) غم ، NaCl (5) غم ، Agar (15) غم ، ماء مقطر (1) لتر] .اذيب سكر الاسكولين Aesculine في (100) مللتر من الماء المقطر وعقم بالترشيح ، اما المواد المتبقية فذوبت في (900) مللتر من الماء المقطر و ضبط الاس الهيدروجيني الى (7) ثم عقمت بالموصدة وترك في درجة حرارة الغرفة ليبرد الى درجة حرارة تتراوح بين (45-50) م° واضيف اليها محلول سكر الاسكولين المعقم بالترشيح ووزع الوسط في انابيب اختبار معقمة بمعدل (5) مللتر لكل انبوبة وترك لمدة (10-15) دقيقة ليتصلب بعدها حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال .كما وزع الوسط باطباق بتري وترك لمدة (10-15) دقيقة ليتصلب ومن ثم حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال (Baron&Finegold, 1990) .

4.3.2.3. وسط اختبار تحمل املاح تيلوريت البوتاسيوم (0.04%):

Potassium tellurite tolerance test medium (0.04%)

وهو وسط انتخابي استخدم لتشخيص عزلات المكورات المعوية. حضر الوسط وفقا لما ورد في (Facklam, 1972)، وذلك بتحضير (1) لتر من وسط BHIA حسب تعليمات الشركة المنتجة ثم ضبط الاس الهيدروجيني الى (6.0) وذلك باضافة HCl(1N) ، وعقم الوسط بالموصدة وترك في درجة حرارة الغرفة ليبرد الى درجة حرارة تتراوح بين (45-50) م° ثم اضيف اليه كل من (50) مللتر من دم الانسان (مجهز من مصرف الدم في مستشفى بعقوبة العام) ومحلول تيلوريت البوتاسيوم المعقم بالترشيح [(0.5) غم من املاح تيلوريت البوتاسيوم في (150) مللترمن الماء المقطر] ثم وزع الوسط في اطباق بتري وترك لمدة (10-15) دقيقة ليتصلب ومن ثم حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال.

5.3.2.3. اوساط اختبار تخمر السكريات : Sugars fermentation test media

استخدمت هذه الاوساط في تشخيص وتصنيف انواع المكورات المعوية.حضرت الاوساط باذابة كل من [(10) غم ببتون، (5) غم كلوريد الصوديوم، (50) مللترمن كاشف الفينول الاحمر بتركيز (0.2%) محضر في الفقرة (2.4.2.3.ب)] في لترمن الماء المقطر،

وضبط الاس الهيدروجيني عند (8.4) ثم وزع الوسط بمعدل (100) مللتر لكل دورق وعقم بالموصدة. ترك في درجة حرارة الغرفة ليبرد الى درجة حرارة تتراوح بين (45-50) م° واضيف لكل دورق (10) مللتر من محلول سكري معقم بالترشيح ذي تركيز (10%) من محاليل احد السكريات المحضرة في الفقرة (3.4.2.3.ز) بحيث اصبح التركيز النهائي لكل سكر بالوسط (1%) ووزع الوسط في انابيب مختبرية معقمة بمعدل (5) مللتر لكل انبوبة وبعدها حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال (Collee *et al.*, 1996).

6.3.2.3. وسط اختبار تخمر الكليسيرول : Glycerol fermentation test medium

استخدم الوسط لغرض تشخيص انواع المكورات المعوية. حضر باضافة محلول الكليسيرول بتركيز 10% (بتخفيف مللتر واحد من الكليسيرول النقي في 10 مللتر من الماء المقطر ثم عقم بالترشيح) الى (100) مللتر من الوسط المستخدم في اختبار تخمر السكريات بحيث اصبح التركيز النهائي للكليسيرول (1%) ووزع الوسط في انابيب مختبرية معقمة بمعدل (5) مللتر لكل انبوبة وبعدها حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال (Collins & Lyne, 1979).

7.3.2.3. وسط اختبار تميع الجلاتين : Gelatine liquification test medium

حضر وفقا لما ورد في (Cruickshank *et al.*, 1975) وذلك باذابة (12) غم من الجلاتين في (100) مللتر من وسط المرق المغذي ضبط الاس الهيدروجيني الى (7.2) ثم وزع الوسط في انابيب اختبار معقمة بمعدل (5) مللتر لكل انبوبة وعقم الوسط بالموصدة وترك ليبرد بدرجة حرارة الغرفة ثم استخدم مباشرة.

8.3.2.3. الوسط المحور ثلاثي الاختبار :

استخدم الوسط لغرض تشخيص جراثيم المكورات المعوية.ويتضمن اختبار تحلل الاسكولين وتحمل الملوحة واختبار الحركة، وقد حضر الوسط تركيبا من المواد الاتية كما ورد في (حنا حنو، 2002).

[BHIB (3.7) غم ، Asculine (0.2) غم ، NaCl (6.5) غم ، Agar (1.5) غم ، Ox-bile (1) غم ، Ferric ammonium citrate (0.5) غم] اذيبت المواد في (100) مللتر من الماء المقطر ثم وزع الوسط في انابيب اختباربمعدل (5) مللتر وعقم بالموصدة ثم ترك لمدة (15-10) دقيقة ليتصلب بشكل مائل ومن ثم حفظ بدرجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال.

9.3.2.3 وسط اختبار تخمر الارابينوز والزايلوز:

Arabinose and xylose fermentation test medium

استخدم الوسط لغرض تشخيص وتصنيف انواع المكورات المعوية. حضر الوسط باستخدام BHIB بتركيز نهائي (1%) من سكري الارابينوز وألزايلوز كل سكر على انفراد واضيف لكل وسط(1) مللتر من كاشف الفينول الاحمر بتركيز (0.006) المحضر في الفقرة (2.4.2.3.ب) ثم ضبط الاس الهيدروجيني الى (7.4) ووزع الوسط في انابيب مختبرية معقمة بمعدل (5) مللتر لكل انبوبة وعقم بالموصدة لمدة (3–5) دقائق ثم ترك حتى يبرد بدرجة حرارة الغرفة وبعدها حفظ بدرجة حرارة (4) م° الاستعمال Hanson & (Cartwright., 1999).

10.3.2.3. وسط اختبار الحركة وانتاج الصبغات :

استخدم وسط TSA المحضر في الفقرة (6.2.2.3) لغرض الكشف عن قابلية عزلات المكورات المعوية لانتاج الصبغات كما استخدم نفس الوسط لاختبار الحركة، حيث استخدم هذا الوسط لنفس الاغراض في دراسات سابقة Trttz (*et al*., 1990; Hanson&Cartwright., 1999).

4.2.3 . تحضير الصبغات والكواشف والمحاليل:

1.4.2.3. الصبغات

أ. صبغة كرام: Gram's stain

جهزت محاليل صبغة كرام من معهد المصول واللقاحات (بغداد) ويتالف من [صبغة البلور البنفسجي Grystal violet stain ، مثبت الصبغة كرام ايودين Gram's iodine ، مزيل الصبغة Decounterizer الذي يتكون من (30 % استون+70%ايثانول بتركيز 95%) ، الصبغة المخالفة Sufranin] استعملت محاليل صبغة كرام للتفريق المجهري للجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام (Cruickshank *et al*., 1975).

ب. صبغة الحبر الهندي : Indian ink

استخدمت الصبغة المنتجة من قبل شركة B.D.H (إنكلترا) في الكشف عن قابلية عزلات المكورات المعوية على تكوين المحفظة. (Cruickshank *et al*., 1975).

2.4.2.3 الكواشف : Indicators

ا. كاشف الكتاليز : Catalase reagent

استخدمت الكاشف المنتج من قبل شركة B.D.H (إنكلترا) بتركيز (3%) لاختبار قابلية عزلات المكورات المعوية على انتاج انزيم الكتاليز (Baron&Finegold, 1990).

ب. كاشف الفينول الاحمر: Phenol red indicator (0.2%)&(0.006%)

حضر الكاشف بحسب ما ورد في (Collee *et al.*, 1996)، وذلك باذابة (0.2) و (0.006) غم من الفينول الاحمر كل على انفراد في (2) مللتر من (0.1N) من هيدروكسيد الصوديوم المحضر في الفقرة (3.4.2.3.ه) واضيف اليه (4) مللتر من الماء المقطر مع التسخيين البطيى ثم اضيف اليه (2) مللتر من HCl (0.1N) محضر باضافة مللتر واحد منHCL (1N) الى (10) مللتر من الماء المقطر. اكمل الحجم الى (100) مللتر من الماء المقطر للحصول على تركيز نهائي (0.2 %) و(0.006 %) ومن ثم حفظ بقنينة زجاجية معقمة لحين الاستعمال.

3.4.2.3 المحاليل : Solution

أ. محلول ثابت العكرة القياسي (محلول ماكفرلاند): Stander turbidity solution

حضر المحلول بحسب ماجاء في (Baron *et al.*, 1994) وكالاتي:

(A) محلول كلوريد الباريوم $BaCl_2$

حضر باذابة (1.75) غم من كلوريد الباريوم المائي في (90) مللتر من الماء المقطر، ثم اكمل الحجم الى (100) مللتر من الماء المقطر.

(B)محلول حامض الكبريتيك المركز H_2SO_4 بتركيز (1%)

حضر باذابة (1) مللتر من حامض الكبريتيك المركز(100%) في (90) مللتر من الماء المقطر، ثم اكمل الحجم الى (100) مللتر من الماء المقطر.

اضيف (0.5) مللتر من محلول (A) الى (99.5) مللتر من محلول (B) ثم مزجا جيدا ، ووزع المحلول في انابيب زجاجية محكمة الغطاء لمنع التبخر وحفظت بالظلام بدرجة حرارة الغرفة .وتم مزج محتويات الانابيب قبل استخدامها ، استخدم المحلول لمعايرة عدد الخلايا الجرثومية لاعطاء عدد تقريبي للخلايا مساويا الى (1.5×10^8) CFU.

ب. محاليل الكشف عن انزيم البيتالاكتاز :

حضرت بحسب ماورد في (Koneman *et al.*, 1992) وكما ياتي:

(A) كاشف الفينول الاحمر (0.5%) وفقا لما ورد في (Ralovich, 1984) وذلك باذابة (2.5) غم من الفينول الاحمرفي (40) مللتر من محلول هيدروكسيد الصوديوم (0.1N) محضر في الفقرة (4.3.2.3.هـ) ثم اكمل الحجم الى (500) مللتر من الماء المقطر للحصول على تركيز نهائي (0.5%).

(B) مضاد بنسلين (ج) : Penicillin G

حضر باذابة مليون وحدة من المضاد الحيوي في (16.6) مللتر من الماء المقطر.

ج. محلول البلور البنفسجي المائي (1%) :

حضرت بحسب ماورد في (Backer & Silverton, 1985) وذلك باذابة (1) غم من البلور البنفسجي المائي في (100) مللتر من الماء المقطر للحصوالاستعمال. نهائي (1%) عقم المحلول بطريقة الترشيح.وحفظ في قنينة زجاجية معقمة معتمة في درجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال .

د. محلول التخفيف :

حضر المحلول الملحي الفسلجي(Normal saline (NS وذلك باذابة (8.5) غم من كلوريد الصوديوم في لتر واحد من الماء المقطر وضبط الأس الهيدروجيني(7.5) ثم عقم بالموصدة وترك ليبرد في درجة حرارة الغرفة.وحفظ في قنينة زجاجية معقمة في درجة حرارة (4) م° لحين الاستعمال (Baron *et al*., 1994).

هـ. محلول هيدروكسيد الصوديوم (1N) و (0.1N):

الوزن الجزيئي لهيدروكسيد الصوديوم (40) غم، حضر (1N) من هيدروكسيد الصوديوم باذابة (40) غم منه في (300) مللتر من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى لتر واحد من الماء المقطر . اما (0.1N) من هيدروكسيد الصوديوم فقد حضر باذابة (4) غم منه في (300) مللتر من الماء المقطر ثم اكمل الحجم الى لتر واحد من الماء المقطر وعقمت المحاليل بطريقة الترشيح (Backer & Silverton,1985).

و. محلول الفورمالديهايد (10%) : Formaldehted solusion (%10)

حضر بحسب ماورد في (Backer & Silverton, 1985) وذلك باذابة [(100) مللتر من محلول فورمالديهايد بتركيز (40%) و(8.5)غم من كلوريد الصوديوم في (400) مللتر من

الماء المقطر] واكمل الحجم الى لتر واحد من الماء المقطر للحصول على تركيز نهائي (10%) ، وحفظ في قنينة زجاجية معقمة في درجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال .

ز . محاليل السكريات بتركيز (10%) : Sugars solution (10%)

حضرت باذابة كل من السكريات الاتية (سوربيتول ،منيتول ، رافينوز، ارابينوز ، لاكتوز، كلكوز ، زايلوز، سوربوز، سكروز، ادونيتول) كل سكر على انفراد في (10) مللتر من الماء المقطر للحصول على تركيز نهائي لكل سكر (10%) عقمت المحاليل بطرقة الترشيح واستعملت مباشرة في الاوساط المحضرة في الفقرتين (6.3.2.3 و7) (Collins & Lyne, 1979; Collee *et al*., 1996) .

5.2.3. حفظ وادامة العزلات الجرثومية :

حفظت مزارع العمل اليومية على وسط اكار الدم الاساس المحضر في الفقرة (2.2.2.3) حيث لقح الوسط بمستعمرة نقية مفردة من العزلة المراد حفضها ثم حضن بدرجة حرارة (37) م˚ لمدة (24) ساعة وبعدها غلفت الاطباق بشمع البارافين وحفظت بدرجة حرارة (4) م˚ مع تجديدها اسبوعيا.

اما لادامة العزلات الجرثومية فاستخدم وسط مائل BHIA بعد تنمية العزلات على وسط اكار الدم الاساس بالظروف المثالية لنموها نقلت مستعمرة نقية مفردة الى الوسط المائل بطريقة الطعن ثم حضن بدرجة حرارة(37) م˚ لمدة (24) ساعة وبعدها غلفت الاطباق بشمع البارافين وحفظت بدرجة حرارة (4) م˚ مع تجديدها شهريا (Vandepttie *et al*., 1991).

6.2.3. جمع العينات: Samples collection

جمعت343 عينة وقسمت الى (100) عينة من الادرار ، و(18) من الخروج، و(20) من زرع الدم ، و(60) ومسحات اللوزتين ، و(25) المسحات المهبلية، و(36) ومسحات الحروق ، و(26) ومسحات من تقيحات الاذن الوسطى، و(11) من مسحات الجروح ، و(28) من مسحات القشع ، و(19) عينة من سائل النخاع الشوكي ، اخذت هذه العينات من المرضى المراجعين الخارجيين 130(37.9%) والراقدين 213 (62.1%) في كل من مستشفى بعقوبة العام و مستشفى البتول للولادة والاطفال في مدينة بعقوبة وخلال المدة من 2005 /9/1 الى2006 /9/30 ، وكان المرضى مصابين باخماج مرضية مختلفة اذ كان عدد الاناث

المشمولين بالدراسة 200 (58.3%) وعدد الذكور 143 (41.6%) ، وكان الوسط الحسابي للاعمار (17.2±32.8) ، وقد تم تنظيم استمارة تسجيل للمرضى الداخلين في الدراسة كما هو مبين في الملحق رقم (1) وبموجب الموافقات الرسمية المبينف في الملاحق (2–5) . كذلك تم الحصول على عزلة برازية قياسية Standard strain من قسم علوم الحياة كلية العلوم جامعة الموصل مصدرها معهد باستور Pasteur-Institute الحاملة للأرقام التالية:

Enterococcus faecalis var.liquefacuens cod No.5430

1.6.2.3. عينات الخروج والقشع: Stool and sputum samples

جمعت عينات الخروج من المرضى الذين يعانون من حالات الاسهال واخماج التجويف البطني والحوضي . وجمعت عينات القشع من المرضى مع تجنب جمع العينة الملوثة باللعاب او باجزاء الطعام. وضعت العينات المذكورة في قناني زرعية معقمة سعة (50) مللتر من ثم تم زرعها مباشرة على الاوساط الزرعية المعدة باسرع وقت ممكن (Collins & Lyne, 1979) .

2.6.2.3. عينات الادرار وسائل النخاع الشوكي:

Urin and Cerebro Spinal Fluid (CSF)

جمعت عينات الادرارالوسطي Midd-stream urine (MSU) في الصباح الباكر في انابيب بلاستيكية معقمة سعة(10) مللتر. نبذت كل عينة بالمنبذة بسرعة (1000) دورة/ دقيقة لمدة (10) دقائق. فحص راسب كل عينة مباشرة تحت قوة التكبير الصغرى ان وجود خلية بكتيرية في كل حقل (فحص20 حقل) يدل على وجود بيلة جرثومية معنوية Signification bacteriuria اذ ان العدد يكون< 10^5 CFU لذا يستوجب ضرورة الزرع البكتريولوجي لعينة الادراراقل من ساعتين من وقت جمعها (Baron & Finegold,1990;Baron *etal*., 1999). اما عينات سائل النخاع الشوكي فاعتمد جمعها على مايصل منها الى المختبر. موضوعة في انابيب بلاستيكية معقمة سعة (10) مللتر.ونبذت بجهاز المنبذة(Collins & Lyne, 1979) زرعت العينات المذكورة على الاوساط الزرعية المعدة باسرع وقت ممكن.

3.6.2.3. عينات الدم: Blood samples

سحبت عينات الدم بمساعدة العاملين في المختبر مع مراعاة الشروط اللازمة لعملية سحب الدم وزرعه حيث عقمت منطقة السحب بمحلول الكحول الاثيلي بتركيز

(70%) ثم بالايودين (2%) وبعدها ازيل الايودين بالكحول. ربط ذراع المريض بواسطة الضاغطة ثم سحب (5) مللتر بالنسبة للاطفال و(10) مللتربالنسبة للبالغين بواسطة المحقنة.عقم الغطاء القمي لقنينة الزرع بالايودين وبعدها غيرت ابرة المحقنة باخرى جديدة لمنع التلوث وحقن الدم في قناني زرع الدم الحاوية على وسط BHIB وحضنت بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة مع ملاحظة ظهور العكرة بعد الحضن. عمل استنبات ثانوي لكل عينة من عينات الدم على الاوساط الزرعية المعدة، في حالة عدم وجود نمو جرثومي استمر حضن قناني زرع الدم لمدة (7) ايام مع عمل استنبات ثانوي بين يوم واخر خلال فترة الحضن (Vandepttie *etal*., 1991).

4.6.2.3. عينات المسحات: Swab samples

اخذت مسحات الجروح والحروق Wounds & Burns Swabs من المرضى الراقدين بواسطة مسحات قطنية معقمة Sterilized cotton swabs مرطبة بمحلول الملح الفسلجي مع مراعاة اخذ المسحات بعد اليوم الثالث من دخول المرضى الى المستشفيات وقبل عملية غسل وتعقيم الجروح والحروق بالمطهرات وذلك بسبب الاصابة الداخلية او الخارجية المنشا بالانواع الجرثومية المختلفة القادرة على غزو واستعمار الانسجة المحطمة ونفوذها الى مجرى الدم هذا من جهة، ومن جهة اخرى لتجنب ازالة اوتثبيط نمو الانواع الجرثومية المسببة لهذه الاخماج.

اما المسحات المهبلية Vaginal swabs، ومسحات اللوزتين Tonsilar swabs، ومسحات تقيحات الاذن الوسطى Pus from middle ear swabs فاخذت بواسطة مسحات قطنية معقمة ومرطبة بمحلول الملح الفسلجي. وذلك بمساعدة الاطباء بعد معاينة الحالة سريريا والتاكد من وجود الاخماج في المناطق المذكورة .

7.2.3. زرع العينات : Culture of samples

زرعت جميع العينات على وسط اكار الدم الاساس والاوساط الزرعية الانتخابية التالية:اكار ازايد الدم واكار الماكونكي Number 2 واكار املاح الصفراء والاسكولين واكار تيلوريت البوتاسيوم.مع مراعاة عدم تاخير زرع جميع العينات لاكثر من ساعة واحدة بعد جمعها.

زرع راسب عينات الادرار وCSF مباشرة على الاوساط الزرعية المذكورة وذلك باستخدام الناقل المعقم Loop والذي بواسطته ايضا عمل استنبات ثانوي لعينات الدم على هذه الاوساط. وزرعت عينات الخروج والقشع باستخدام مسحات قطنية معقمة ومرطبة بمحلول الملح الفسلجي ومن ثم زرعت بنفس الطريقة التي زرعت بها جميع عينات المسحات الماخوذة وذلك بوضع جزء من المسحة على الاوساط الزرعية المستعملة ثم ينشر بواسطة الناقل المعقم (Vandepttie *etal*., 1991). حضنت جميع الاطباق بالحاضنة بدرجة حرارة (37) م° وبحسب مدة الحضن الخاصة بكل وسط (Facklam & Collins, 1989; Murray, 1990).

8.2.3. تشخيص العزلات الجرثومية :

1.8.2.3. الصفات الشكلية والزرعية :

Cultural and morphological characteristics

بعد اتمام فترة الحضن الخاصة بكل وسط اخرجت الاطباق من الحاضنة وتم ملاحظة الصفات الشكلية والزرعية المتميزة على وسط اكار الدم الاساس والاوساط الزرعية الانتخابية التالية: اكار ازايد الدم واكار الماكونكي No.2 واكار املاح الصفراء والاسكولين واكار تيلوريت البوتاسيوم من حيث شكل ولون وحجم المستعمرات على هذه الاوساط. اعيد تنمية العزلة القياسية ولوحظت صفاتها المميزة على هذه الاوساط وقورنت مع عزلات نفس النوع.

2.8.2.3. الفحص المجهري : Microscopical examination

عملت شرائح Smears من المستعمرات الجرثومية على الاوساط الزرعية المستخدمة وذلك بوضع قطرة من محلول الملحي الفسلجي على شريحة زجاجية نظيفة ونقل (2-3)من المستعمرات بواسطة الناقل المعقم وفرشت على الشريحة. جففت بالهواء ثم ثبتت بامرارها على اللهب لعدة مرات وبعدها صبغت بصبغة كرام ، وجففت بالهواء بتركها بشكل مائل. فحصت اللطخات بالمجهر الضوئي تحت العدسة الزيتية وميز شكل وترتيب واصطباغ خلايا المستعمرات الجرثومية.

3.8.2.3. الاختبارات الكيموحيوية: Biochemical tests

أ. اختبار انزيم الكتاليز: Catalase test

استخدم هذا الاختبار للكشف عن قابلية العزلات الجرثومية على انتاج انزيم الكتاليز الذي يعمل على كسر جزيئة بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) الى ماء واوكسجين.اجري هذا الفحص بوضع قطرة من محلول بيروكسيد الهيدروجين بتركيز (3%) على شريحة زجاجية نظيفة ثم اضيف اليها مستعمرة نقية من الزرع الجرثومي بواسطة عود خشبي. يعد ظهور فقاعات الاوكسجين بعد عدة ثواني دليل على ايجابية التفاعل (Cruickshank *et al*., 1975 ; Baron & Finegold, 1990).

ب. اختبار تحمل الملوحة: Salt tolerance test

استخدم هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على النمو في وسط BHIB بتركيز (6.5) من NaCl. لقح وسط اختبار تحمل الملوحة بـ(2–3) مستعمرة من كل عزلة من العزلات الجرثومية المدروسة في الوسط و حضنت بدرجة حرارة (37) م˚ لمدة (3) ايام. عدت النتيجة موجبة بظهور عكارة بعد فترة الحضن وبعد مقارنتها مع العزلة القياسيةوانبوب السيطرة الحاوي على الوسط بدون تلقيح (Collee *et al*., 1996).

ج . اختبار تحمل القاعدية: Alkaline tolerance test

استخدم هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على النمو في وسط BHIB له اس هيدروجيني (9.6). لقح وسط اختبار تحمل القاعدية بـ(2–3) مستعمرة من كل عزلة من العزلات الجرثومية المدروسة في الوسط وحضنت بدرجة حرارة (37) م˚ لمدة (3) ايام. اعتبرت النتيجة موجبة بظهور عكارة بعد فترة الحضن وبعد مقارنتها مع انبوب السيطرة والعزلة القياسية (Facklam, 1972).

د. اختبار النمو في (10)و(45) درجة مئوية : Growth in (10) and (45) ^{0}C

استخدم هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على النمو في درجات الحرارة (10) م˚ و(45) م˚. اذ لقح (2–3) مستعمرة من كل عزلة من العزلات الجرثومية في انبوبين من وسط اختبار النمو في درجات الحرارة المذكورة . حضن الانبوب الاول بدرجة حرارة (10) م˚ والثاني (45) م˚لمدة (7) ايام. عدت النتيجة موجبة بظهور عكارة بعد فترة الحضن وبعد مقارنتها مع انبوب السيطرة والعزلة القياسية (Collee *et al*., 1996).

هـ. اختبار تحلل الاسكولين : Aesculine hydrolysis test

استخدم هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على تحلل الاسكولين Aesculine الى الاسكولتين Ascultin وقدرتها على النمو بوجود املاح الصفراء. لقح وسط اختبارتحلل الاسكولين بالعزلات الجرثومية بطريقة الطعن وحضنت بدرجة حرارة (37) م° لمدة (48) ساعة. عدّ تحول لون الوسط من اللون الاصفر الى اللون الاسود دلالة على ايجابية الاختبار(Collee *et al*., 1996).

و. اختبار تحمل املاح تيلوريت البوتاسيوم: Potassium tellurite tolerance test

استخدم هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على النمو بوجود املاح تيلوريت البوتاسيوم بتركيز(0.04%) . لقح وسط اختبار تحمل املاح تيلوريت البوتاسيوم بـ (2-3) مستعمرة من كل عزلة من العزلات الجرثومية بطريقة التخطيط وحضنت بدرجة حرارة (37) م° لمدة (3) ايام. عدّ ظهور مستعمرات بلون اسود بعد فترة الحضن دلالة على ايجابية الاختبار (Facklam, 1972).

ج. اختبار تخمر السكريات والكليسيرول: Sugars and glycerol fermentation test

استخدم هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثوميةعلى تخمر السكريات والكليسيرول وانتاج الحامض الذي يسبب انخفاض الاس الهيدروجيني للاوساط من (8.9) الى (6.8) وبالتالي يتحول لون كاشف الفينول الاحمر الى اللون الاصفر. لقحت اوساط اختبار تخمر السكريات والكليسيرول بـ(2-3) مستعمرة من كل عزلة من العزلات الجرثومية وحضنت بدرجة حرارة (37) م° لمدة (72) ساعة. لوحظت النتائج بعد فترة الحضن. عدّ تحول الوسط من اللون الاحمر الى اللون الاصفر نتيجة موجبة. والنتيجة السالبة ببقاء الوسط بلون احمر(Collins & Lyne, 1979; Collee *et al*., 1996).

4.8.2.3 التشخيص المصلي بطريقة لانسفيلد :

Serological identification by Lancefield method

استخدمت العدة التشخيصية الجاهزة Slidex Strepto-kit ، واجري الفحص بحسب تعليمات الشركة المنتجة وذلك بنقل (0.4) مللتر من انزيم الاستخلاص Extraction enzyme الى انبوب اختبار معقم ثم اضيف له (2-3) مستعمرة من المستعمرات المدروسة

وبعمر (4–18) ساعة والنامية على وسط اكار الدم الاساس. مزجت جيدا ثم حضنت الانابيب بدرجة حرارة (37) م° لمدة (10) دقائق ، تم اضافة قطرة من المستخلص بعد الحضن بواسطة ماصة باستور بجانب قطرة اللاتكس Latex D في المكان المخصص للتفاعل على القطعة البلاستيكية ومزجت القطرتان جيدا باستخدام عيدان خشبية Stick وحركت القطعة البلاستيكية يدويا بشكل دائري .ظهور التلازن Agglutination على شكل تجمعات بلون احمر على خلفية خضراء تتحول الى ارجوانية اعتبر نتيجة موجبة وبعد مقارنتها مع العزلة القياسية واختبار السيطرة الموجب (Collee *et al*., 1996).

9.2.3 الطرائق التشخيصية السريعة لجراثيم المكورات المعوية :

1.9.2.3 اختبار الوسط المحور ثلاثي الاختبار :

استخدم هذا الوسط لغرض التشخيص الاولي السريع لجراثيم المكورات المعوية ويتضمن ثلاثة اختبارات كيموحيوية في وسط واحد وهي اختبار قابلية العزلات الجرثومية على تحلل الاسكولين، واختبار تحمل الملوحة ، واختبار الحركة. لقح الوسط المحور ثلاثي الاختبار بـ(3–5) مستعمرات نقية من كل عزلة من العزلات الجرثومية بطريقة الطعن وحضنت الانابيب بدرجة حرارة (37) م°لمدة ساعتين. اعتبر ظهور نمو على خط الزرع وبلون اسود دلالة على النتيجة الموجبة (حنا حنو، 2002).

2.9.2.3 الاختبارات التشخيصية السريعة :

استخدمت طريقة (Hanson & Cartwrigh, 1999) للتشخيص السريع لانواع جراثيم المكورات المعوية.اجريت مجموعة من هذه الاختبارات وشملت مايلي:

أ. اختبار اختزال حليب اللتموس : Litmus milk reduction test

اجري هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على اختزال حليب اللتموس، اذ لقح وسط اختبار اختزال حليب اللتموس بـ(3–5) مستعمرات نقية من كل عزلة من العزلات الجرثومية وحضنت الانابيب بدرجة حرارة (37) م° ولمدة (4) ساعات. ان تغير لون الوسط من البنفسجي الى الابيض يدل على ايجابية الاختبار.

ب. اختبار تخمر الارابينوز و الزايلوز:

Arabinose and xylose fermentation tests

اجري هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على تخمر سكريات الارابينوز و الزايلوز. لقح وسط اختبار تخمر الارابينوز و الزايلوز بـ(3-5) مستعمرات نقية لكل سكر على انفراد من كل عزلة من العزلات الجرثومية وحضنت الانابيب بدرجة حرارة (37) م° ولمدة (4) ساعات. اعتبرت النتيجة موجبة بعد تغير اللون من الاحمر الى الاصفر بعد فترة الحضن.

جـ. اختبار انتاج الصبغات الصفراء: Yellow pigment production test

اجري هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على انتاج الصبغات الصفراء في وسط TSA. لقح وسط اختبار انتاج الصبغات الصفراء بـ(3-5) من مستعمرات نقية لكل عزلة من العزلات الجرثومية وحضنت الاطباق بدرجة حرارة (37) م° ولمدة (4) ساعات. عدّ تلون المستعمرات باللون الاصفر دلالة على انتاج الصبغة الصفراء.

د. اختبار الحركة : Motility test

اجري هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على الحركة في وسط TSA. لقح وسط اختبار الحركة بـ(3-5) من مستعمرات الجرثومية المدروسة بطريقة الطعن ثم حضنت الانابيب بدرجة حرارة (37) م° ولمدة (4) ساعات. عدّت العزلات متحركة بعد ملاحظة انتشار النمو الى مسافات ابعد من خط التلقيح.

10.2.3 الكشف عن عوامل الفوعة : Detection of virulence factors

1.10.2.3 الكشف عن انتاج الهيمولايسين: Detection of haemolysin production

اجري هذا الاختبار لغرض معرفة قابلية العزلات الجرثومية على انتاج الهيمولايسين المحلل للدم في الوسط المحضر في الفقرة (2.2.2.3). لقحت العزلات الجرثومية المدروسة على اطباق الوسط المحضر وحضنت بدرجة حرارة (37) م° لمدة (48) ساعة. قرأت النتائج بملاحظة التحلل الكامل β-Haemolysis حول المستعمرات او بملاحظة التحلل (تام ، جزئي ، غير محلل) (Huycke *et al.*, 1991;Desai *et al.*, 2001).

2.10.2.3 الكشف عن انتاج الجلاتينيز: Detection of Gelatinase production

اجري هذا الكشف لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على انتاج انزيم الجلاتينيز .لقح الوسط المحضر في الفقرة(7.3.2.3) بالعزلات الجرثومية ثم حضنت الانابيب الملقحة بدرجة حرارة (37) م° لمدة (3) ايام ثم نقلت الى درجة حرارة (4) م° لمدة (30) دقيقة. ان تحلل الجلاتين وتحوله الى سائل دلالة على النتيجة الموجبة بعد مقارنة النتائج مع انبوب السيطرة الغير ملقح الحاوي على الجلاتين الصلب (Cruickshank *et al*., 1975).

3.10.2.3 الكشف عن وجود المحفظة : Detection of capsule

استخدمت طريقة الحبر الهندي Indian ink method للكشف عن قابلية العزلات الجرثومية على تكوين المحفظة. اخذت مستعرة من كل عزلة من العزلات الجرثومية المدروسة بواسطة حلقة الزرع ووضعت على شريحة زجاجية نظيفة ثم اضيف اليها قطرة من الحبر الهندي ومزجت ثم نشر المزيج على سطح الشريحة وتركت الشريحة في الهواء لتجف و فحصت بالعدسة الزيتية. عدّت ملاحظة مناطق مضيئة بخلفية سوداء دلالة على وجود المحفظة(حنا حنو، 2002).

4.10.2.3 الكشف عن تلزن كريات الدم الحمر للانسان:

Hemagglutination of human RBCs

(1) تحضير العالق الجرثومي : Bacterial suspension

حضر العالق الجرثومي للعزلات المدروسة من المستعمرات النامية على وسط BHIA المحضر في الفقرة (5.2.2.3) بعمر (24) ساعة وعلقت المستعمرات باستخدام المحلول الملحي الفسلجي.ثم قورنت عكرة العالق الجرثومي مع محلول ثابت العكرة القياسي المحضر في الفقرة (3.4.2.3أ).

(2) تحضير عالق خلايا كريات الدم الحمر للانسان Human erythrocytes suspension

استخدم الدم البشري صنف $O\ Rh^+$ وذلك لخلوه من الاضداد Antibodies اذ تم الحصول عليه من عبوات بلاستيكية معقمة بحجم (500) مللتر من مصرف الدم في مستشفى بعقوبة العام ثم نبذ الدم باستخدام انابيب بلاستيكية معقمة بسرعة(1000) دورة/ دقيقة لمدة (10) دقائق بجهاز المنبذة لغرض التخلص من البلازما والحصول على راسب كريات الدم الحمر حيث غسل الراسب بالمحلول الملحي الفسيولوجي بواقع مرتين مع النبذ في كل مرة. ثم اخذ

(0.5) مللتر من راسب RBCs وعلق بـ(10) مللترمن المحلول الملحي الفسيولوجي أي بنسبة (5%) (Hagberg *et al.*, 1981). استخدمت طريقة تلازن الشريحة Slide hemagglutinationلأجراء هذا الكشف اخذ (0.05) مللتر من العالق الجرثومي واضيف الحجم نفسه من عالق كريات الدم الحمراء وتم المزج بواسطة عيدان خشبية وبعدها لوحظت نتائج التلازن باستخدام المجهر الضوئي لمدة دقيقتين. ان وجود تكتلات تظهر بشكل شبكة متعرجة الحواف دلالة على ايجابية الاختبار (Iwahi *etal*., 1983).

5.10.2.3 الكشف عن الالتصاق بالخلايا الظهارية: Adherence to epithelial cells

(1) تحضير عالق الخلايا الظهارية للانسان

اخذت عينة وسطية من الادرار (MSU) لنساء غير مصابات بالتهاب المجاري البولية ثم نبذت العينة بسرعة (1000) دورة/ دقيقة لمدة (5) دقائق باستخدام جهاز المنبذة. غسل الراسب الحاوي على الخلايا الظهارية باستخدام المحلول الملحي الفسلجي لاربع مرات مع النبذ المركزي في كل مرة ثم علقت الخلايا الظهارية المترسبة بنفس المحول (Hagberg *et al*., 1981).

اجري هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على الالتصاق بالخلايا الظهارية. اخذ (0.5) مللتر من العالق الجرثومي المحضر في الفقرة (1.4.1.8.2.3) واضيف الى (0.5) مللتر من عالق الخلايا الظهارية و مزج الخليط جيدا وحضن بدرجة حرارة (37) م°لمدة ساعة واحدة مع التحريك كل (10) دقائق. غسلت الخلايا اربع مرات بمحلول الملحي الفسلجي مع النبذ المركزي في كل مرة للتخلص من الجراثيم الغير ملتصقة.اخذت قطرة من العالق النهائي ووضعت على شريحة زجاجية وتركت لتجف عند حرارة الغرفة ثم ثبتت بامرارها فوق اللهب. صبغت الشريحة بصبغة كرام وفحصت مجهريا باستخدام العدسة الزيتية. عدّت النتيجة موجبة بملاحظة التصاق الخلايا الجرثومية بالخلايا الظهارية.استخدم محلول الملحي الفسلجي مع الخلايا الظهارية كفحص سيطرة (Iwahi *et al*., 1) .

6.10.2.3 الكشف عن انزيم البيتالاكتاز: β-Lactamase production

استخدمت طريقة الانابيب الشعرية المباشرة Direct capillary tubes method لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على انتاج انزيم البيتالاكتاميز وبحسب ماورد في (Koneman *et al.*, 1992) وكالاتي: .

1- اضيف (2) مللتر من محلول كاشف الفينول الاحمر بتركيز(0.5%) المحضر في الفقرة (3.4.2.3.ب.A) الى محلول بنسلين ج المحضر في الفقرة(3.4.2.3.ب.B).

2- اضيفت قطرات من محلول NaCl (1N) المحضر في الفقرة(3.4.2.3.هـ) حتى تحول لون المحلول الى البنفسجي الاس الهيدروجيني مساويا الى(8.5) .

3- غمس طرف الانبوبة الشعرية في المحلول المحضر حتى وصل ارتفاعه الى (1-2) سم ثم اغلقت فتحة الانبوبة الشعرية بغمسها في مستعمرة جرثومية بعمر (24) ساعة لغرض عمل سدادة جرثومية Bacterial plug حتى تتلامس المستعمرة مع المحلول داخل الانبوبة الشعرية مع تجنب حدوث فقاعة بين المحلول والمستعمرة.

4- حضنت الانابيب الشعرية بصورة عمودية بدرجة حرارة (37) م° ، وقرات النتيجة خلال (5-15) دقيقة. مع ملاحظة تغير اللون اعلى المستعمرة الى الاصفر دليل على ايجابية النتيجة.

11.2.3 الكشف عن تكوين الغشاء الحيوي Detection of biofilm formation

اجري هذا الاختبار لمعرفة قابلية العزلات الجرثومية على تكوين الغشاء الحيوي وحسب ماورد في (Sandoe *etal*., 2003) وكالاتي: .

1-لقح (10) مللتر من وسط BHIB بـ(3-4) مستعرات من العزلات الجرثومية بعمر (1-2) يوم بدون ان ترج الانابيب، وحضنت بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة .

2-غسلت الخلايا الجرثومية النامية بمعدل مرتين بمحلول الملح الفسيولوجي مع النبذ المركزي في كل مرة .

3- استعملت الصفيحة الدقيقة Microplate المستوية المصنوعة من مادة Polysterne والمتكونة من (96) حفرة حيث خصصت لكل عزلة حفرتان من حفر الصفيحة ووضع في جميع الحفر المخصصة لاختبار العزلات الجرثومية (180) مايكروليتر من وسط BHIB

ولقحت الحفر بـ(20) مايكروليتر من كل عزلة من الخلايا الجرثومية المغسولة المترسبة. تركت الحفر الثلاثة الاولى كفحص سيطرة حيث وضع فيها (200) مايكروليتر من وسط BHIB بدون تلقيح. حضنت الصفيحة بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة .

4- رفعت محتويات الحفر باستخدام ماصة دقيقة Micropipet مثبتة عند(200) مايكروليتر ثم غسلت الحفر مرة واحدة باستخدام محلول الملح الفسيولوجي باستخدام غاسل منظومة الاليزا.ELISA - washer

5- ثبت الغشاء الحيوي المتكون من قبل العزلات الجرثومية على السطوح الداخلية لحفر الصفيحة بوضع (200) مايكروليتر لكل حفرة من محلول الفورمالديهايد(10%) المحضر في الفقرة(2.3. 3.4.و) لمدة (30) دقيقة بعدها تم رفعه بواسطة ماصة اوتماتيكية مثبتة عند (200) مايكروليتر .تركت الصفيحة بدرجة حرارة الغرفة لمدة (24) ساعة .

6- صبغ الغشاء الحيوي المتكون بوضع(200) مايكروليتر لكل حفرة من محلول صبغة المحلول البنفسجي (1%) المحضر في الفقرة(3.4.2.3.ج).

7 - قرات الكثافة البصرية باستخدام قارى منظومة الاليزا ELISA reader عند طول موجي 590nm .

8- الحسابات (Calculation) طرح معدل انحراف الكثافة البصرية للحفر الفارغة وحفر السيطرة الثلاثة من معدل كل قراءة بشكل فردي لاعطاء النتيجة النهائية الصحيحة. عدت النتيجة موجبة اذا كان الرقم المتبقي اعلى من الصفر(0).اعيدت التجربة مرتين في ايام مختلفة.

14.2.3 فحص الحساسية الدوائية بطريقة الانتشار من الاقراص

Antimicrobial sensitivity test by discs diffusion method

استخدمت طريقة (Casals & Pringter,1991) وكالاتي:-

1- لقح(5) مللتر من وسط BHIB بـ(3-4) مستعرات من العزلات الجرثومية بعمر(24) ساعة باستخدام الناقل المعقم Loop.

2- رجت الانابيب جيدا بعد الزرع وحضنت بدرجة حرارة (37) م°لمدة (2-5) ساعات لحين ظهور عكرة في الوسط . قورنت عكرة النمو بعكرة ثابت العكرة القياسي (محلول مكفرلاند) المحضر في الفقرة (3.4.2.3.أ) .

3- غمرت مسحة قطنية معقمة بالعالق الجرثومي وتم التخلص من العالق الفائض بضغط المسحة على جوانب الانبوب. مررت المسحة على وسط مولر هنتون اكار المحضر في الفقرة(8.2.2.3) بطريقة التخطيط بثلاثة اتجاهات مع تدوير الطبق بزاوية (60) درجة. تركت الاطباق لمدة (5) دقائق بدرجة حرارة الغرفة لحين امتصاص المزروع وجفافه.

4- نقلت اقراص المضادات الجرثومية بملقط معقم Forcep الى سطح الاكار الملقح بالعالق الجرثومي بواقع (6) اقراص للطبق الواحد وضغط عليها بهدوء وتركت مسافة بين حافة الطبق وبين الاقراص لمنع حدوث تداخل بين مناطق التثبيط التي تنتج من فعل المضاد تجاه العزلات الجرثومية.

5- حضنت الاطباق بدرجة حرارة (37) م° لمدة (24) ساعة. قيست اقطار مناطق التثبيط باستخدام المسطرة وقورنت بالمعدلات القياسية لقطر منطقة التثبيط القياسية كما هو مبين في الجدول (3-7).

جدول (3-7): اقطار مناطق التثبيط القياسية لاقراص المضادات الجرثومية.

اسم المضاد الجرثومي	الرمز	تركيز المضاد µg/disc	قطر منطقة التثبيط القياسية(mm)		
			مقاومة	متوسطة	حساسة
Vancomycin	VA	30	≤14	16-15	≥17
Ciprofloxacin	CIP	5	≤ 15	20-16	≥21
Cloxacillin	CX	5	≤9	13-10	≥14
Cefotaxim	CTX	30	≤14	22-15	≥23
Rifampincin	RA	10	≤11	18-12	≥19
Amoxacillin	AX	25	≤19	-	≥20
Tetracycline	TE	30	≤14	18-15	≥19
Erythromycin	E	15	≤13	22-14	≥23

≥19	18−14	≤13	30	ND	Nalidixic acid
≥15	–	≤14	10 units	PC	Pencillin
≥16	15−11	≤10	25	TM	Trimethoprim
≥20	19−17	≤16	30 20+10	AC	Amoxacillin + Clavulanic acid

(Vandepttie *et al*., 1991; National Committee For Clinical Laboratory Stander, 2002).

1.3.2.3 التحليل الاحصائي :

النتائج المتجمعة اثناء الدراسة تم تحويلها الى قاعدة بيانات حاسوبية وتمت معالجتها باستخدام الجيل الثالث عشر من برنامج

(Statistical package of Social Science Version 13) .

التوزيع لبعض المتغيرات المنتخبة انجزت اولا. العلاقات الاحصائية ذات المدى بين كل فئتين من المتغيرات تم تقييمها باستخدام اختبار مربع كاي الاحصائي (Chi square). العلاقات الاحصائية بين كل فئتين من المتغيرات الثنائية تم تقييمها بواسطة اختبار فشر الاحصائي(Fisher Exact) بسبب قلة حجم العينة. قيم الاحتمالية (P values) الاقل من (0.05) اينما وجدت من خلال تطبيقات الاختبارات الاحصائية اعتبرت معنوية احصائيا (Glantz, 1987).

4.النتائج والمناقشة

النتائج الواردة في هذا الفصل معتمدة على التحليل الإحصائي للبيانات المتجمعة خلال مدة الدراسة

1.4.عزل جراثيم المكورات المعوية:

خلال مدة الدراسة تم جمع (343) عينة من مختلف النماذج المرضية، وبعد إجراء عملية الزرع على الأوساط الانتخابية والتفريقية ومن ثم تعريف و توصيف المكورات المعوية النامية اعتمادا على الخصائص الزرعية والتفاعلات الكيموحيوية كما هو مبين في ملحق رقم (6). تم تشخيص (44) عزلة من المكورات المعوية: 17 (17 %) عزلة شخصت من نماذج الإدرار،10 (55.5 %)عزلة شخصت من نماذج البراز، 4 (16 %) عزلة شخصت من نماذج المسحات المهبلية، 3 (5 %)عزلة شخصت من نماذج مسحات اللوزتين و3 (8.3 %) من مسحات الحروق ، 2 (10%) عزلة شخصت من زرع الدم و2 (7.7 %) من الإفرازات القيحية للإذن الوسطى، وعزلة واحدة (3.6%) من نماذج القشع ، وعزلة واحدة (5.3 %) من سائل النخاع ألشوكي و عزلة واحدة (9.1 %) من مسحات الجروح. الجدول (1.4) يبين أعداد ونسب المكورات المعوية المعزولة من مختلف النماذج المرضية.

الجدول (1.4): أعداد ونسب عزلات المكورات المعوية من مختلف النماذج المرضية.

Type of specimen	No. of specimen	No. of isolates	%
Urine	100	17	17
Stool	18	10	55.5
Vaginal swab	25	4	16
Tonsilar swabs	60	3	5
Burn swabs	36	3	8.3
Blood	20	2	10
Pus from middle ear	26	2	7.7
Wound swabs	11	1	9.1
Sputum	28	1	3.6
Cerebrospinal fluid	19	1	5.3
Total	343	44	12.8

اظهرت الدراسة الحالية ان نسبة الاصابة الكلية بجراثيم المكورات المعوية كانت (12.8%)، اذ اتفقت هذه النتيجة مع دراسة Hancock و Gilmore (2000) التي اشارت الى

ان تلك الجراثيم تسبب اكثر من (12%) من الاخماج المكتسبة من المستشفيات . واختلفت الدراسة الحالية مع الدراسة التي اجريت في الهند والتي وجدت ان نسبة الاصابة بتلك الجراثيم بلغت (22.2%) من النماذج المرضية المختلفة (Desai *et al*., 2001). ربما يعزى هذا الاختلاف في النتائج الى نوع العينات المشمولة في تلك الدراسة اذ كانت معظم عزلات تلك الجراثيم من عينات الادرار الماخوذة من المرضى الخاضعين لعملية القسطرة ومن مسحات جروح الكي بنسبة (48.2%) و(29.5) على التوالي، بينما لم تشمل الدراسة الحالية مثل تلك العينات.

وجاءت نتائج الدراسة الحالية لنسب عزل جراثيم المكورات المعوية من النماذج المرضية متفقة مع الدراسات الاخرى منها دراسة Murray (1990) التي اكدت على ان تلك الجراثيم تشكل نسبة (12.9%) من نماذج الادرار و(17%) من المسحات المهبلية،كما أشارت الباحثة إلى عزل هذه الحراثيم من تقيحات الاذن الوسطى لكن بنسبة قليلة، واكدت ان (34%) من حالات التجرثم الدموي ترتبط مع اخماج الحروق الناتجة عن هذه الجراثيم. في حين لم تتفق الدراسة الحالية مع الباحثة بنسبة عزل تلك الجراثيم من البراز والبالغة (83%) وربما يعزى ذلك الى اختلاف عمر المرضى المشمولين بالدراسة، إذ شملت الدراسة المذكورة نماذج من براز الاطفال بعمر (7) ايام حيث اكدت الباحثة ارتفاع نسبة تواجد هذه الجراثيم في الاطفال حديثي الولادة.

من جانب اخر لم تتفق نتائج عزل هذه الجراثيم من نماذج الادرار مع دراسة الباحثة حنا حنو(2002) والتي وجدت ان(7.2%) من تلك الجراثيم مسببة لاخماج القناة البولية، وربما يعود ارتفاع نسبة العزل في الدراسة الحالية الى زيادة نسبة الاصابة في السنين الاخيرة لكونها جراثيم انتهازية موجودة بشكل واسع في بيئة المجتمع والمستشفيات فضلا عن ازدياد مقاومتها لعدد كبير من المضادات الجرثومية (Huycke *et al*., 1998; Kau *et al*., 2005) . كما تطابقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Huebner (2000) وجماعته التي اشارت الى ان تلك الجراثيم تتواجد بنسبة(10%) من مزارع الدم . وكذلك مع دراسة Iaria (2005) وجماعته التي وثقت بان تلك الجراثيم تشكل (0.3–4%) من المجاميع الجرثومية المسببة لمرض السحايا والمعزولة من سائل النخاع الشوكي . وفي هذا الجانب اكدت دراسة Facklam (1972) على عزل جراثيم المكورات المعوية من نماذج القشع والجروح و سائل

النخاع الشوكي من بين مجموع العينات الماخوذة وقد يكون السبب في ذلك الى اخذ العينات من مركز السيطرة على الامراض لغرض الدراسة التشخيصية واحصاء عددها بحسب نوع النموذج ونوع العزلة التابعة لهذا الجنس .

وجد Bonten (1995) وجماعته ان جراثيم المكورات المعوية هي من المسببات لاخماج التجويف البلعومي والقناة التنفسية المكتسبة من المستشفيات اذ شكلت نسبة عزل (16%) من اخماج القناة التنفسية العليا، وافادت الدراسة الى امكانية تطور الاصابة بهذه الجراثيم الى اخماج رئوية تكون مصدر للتجرثم الدموي . لم تتفق نتائجنا مع هذه الدراسة فيما يخص نسبة العزل و ربما يعزى ذلك الى طبيعة المرضى المشمولين بالدراسة المذكورة الخاضعين لعملية التنفس الاصطناعي وللمعالجة الطويلة بالمضادات الجرثومية والراقدين في وحدات العناية المركزة.

2.4. تصنيف عزلات المكورات المعوية:

يبين الجدول (2.4) أعداد والنسب المئوية لانواع المكورات المعوية التي شخصت خلال مدة الدراسة والبالغة (44) عزلة، إذ جاءت *E. faecalis* بالمرتبة الأولى بواقع (30) عزلة وبنسبة (68.2%) من العزلات، تليها *E. faecium* بواقع (10) عزلة وبنسبة (22.7%) ، ثم *E. gallinarium* بواقع (3) عزلات وبنسبة (6.8%) من العزلات، وعزلة واحدة من *E. avium* وبلغت نسبتها (2.3%) من العزلات .

جدول (2.4): أعداد ونسب انواع المكورات المعوية المشخصة خلال الدراسة.

Species of enterococci	**No. of isolates**	**%**
E. faecalis	30	68.2
E. faecium	10	22.7
E. gallinarium	3	6.8
E. avium	1	2.3
Total	44	100

جاءت نتائج الدراسة الحالية متقاربة مع العديد من الدراسات التي اجريت في مناطق مختلفة من العالم والتي اكدت على ان النوع *E. faecalis* هو الاكثرشيوعا في العزلات

المرضية مقارنة مع انواع جراثيم المكورات المعوية الاخرى، إذ يشكل (80–90%) من الاصابات الناتجة عن تلك الجراثيم ، ثم يليه نوع *E. faecium* الذي يشكل (5–10%) من الاصابات. اما الانواع الاخرى التابعة لهذا الجنس فهي قليلة التواجد في العينات المرضية (Jett *et al*., 1994; Huycke *et al*., 2000; Zhanel *et al*., 2001).

كما اشارت الدراسات الى ان عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* تتصدر الاهمية الطبية من بين انواع جراثيم المكورات المعوية، إذ تشكل (90%) من الاصابات الناتجة عن هذه الجراثيم في حين تشكل الانواع الاخرى التابعة لهذا الجنس نسبة (10%) من تلك الاصابات (Trttez *et al*., 1990; Dutka-Malen *et al*., 1995). وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية التي اظهرت ان النوعين المذكوران شكلا (90.9%) في حين شكلت باقي الانواع (9.1%) من الاصابات المرضية المختلفة.كما جاءت نتائج الدراسة الحالية مقاربة لدراسة Desai وجماعته (2001) التي اظهرت سيادة النوعين *E. faecalis* و *E. faecium* بنسبة 172(86.5) من مجموع 202 عزلة مرضية لهذه الجراثيم والنسبة الباقية 30 (14%) سجلت لاربعة انواع تابعة لهذا الجنس . وتفسر معظم الدراسات السابقة سبب سيادة النوع *E. faecalis* على الانواع الاخرى لهذا الجنس لكونه من اكثرها شيوعا في القناة الهضمية (Facklam & Teixeira, 1997)، اما زيادة نسبة الاصابة بعزلات *E. faecium* فربما تعود الى انتشار هذا النوع بين مرضى المستشفيات بشكل واسع فضلا عن قابليتها لاكتساب صفة المقاومة للعديد من المضادات الجرثومية (Moellering , 1998; Leavis *et al*., 2004; Coque *et al*., 2005).

اتفقت نسب أنواع المكورات المعوية للدراسة الحالية مع العديد من الدراسات المحلية والعالمية ومنها دراسة الباحثة العراقية حنا حنو (2002) التي وجدت ان عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* و *E.gallinarium* شكلت نسبة (70.3%) و(22.2%) و (7.4%) على التوالي من الاصابات الناتجة عن هذه الجراثيم . ومع الدراسة التي اجريت في الكويت والتي بينت ان عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* شكلت نسبة (85.3%) و**(7.7%)** على التوالي . وكذلك مع الدراسة التي اجريت في كوريا والتي اظهرت ان *E. faecalis* هي الاكثر شيوعا اذ شكلت 330 (55%) من (603) عزلة لجراثيم المكورات المعوية المرضية ،

ثم تلتها عزلات النوع *E. faecium* بنسبة 249(41%) في حين شكلت الانواع الاخرى التابعة لهذا الجنس نسبة 24 (4%) من تلك الاصابات (Oh *et al*., 2005).

كما اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة Toledo-Arana (2001) وجماعته الذين وجدوا ان العزلات الاكثر تسببا للاصابات المرضية الناتجة عن جراثيم المكورات المعوية كانت من نوع *E. faecalis* اذ شكلت نسبة 152 (76%) من (200) عزلة من نماذج مرضية مختلفة ثم تلتها عزلات *E. faecium* و *E. avium* بنسبة 35 (20%) و 7(3.2%) على التوالي وشكلت عزلات *E. gallinarium* و *E. duran* بنسبة1(0.5%) لكل نوع من الاصابات الناتجة عن تلك الجراثيم. وكذلك تتفق النتائج الحالية مع دراسة Sandoe (2003) وجماعته التي اظهرت ان الاصابة بانواع المكورات المعوية كانت موزعة الى 70 (64.2%) من عزلات *E. faecalis* و38 (35%) من عزلات *E. faecium* و 1(1%) لعزلة غير محددة النوع من مجموع (109) عزلة مرضية مختلفة ، وكذلك مع دراسة Dutka-Malen (1995) وجماعته الذين شخصوا (23) عزلة مرضية لجراثيم المكورات المعوية وكانت موزعة الى عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* و *E. gallinarium* بنسبة 13 (57%) و 7(30%) و 3 (13%) على التوالي.

اختلفت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة التي اجريت في ايطاليا والتي بينت ان عزلات *E. faecium* هي الاكثر شيوعا في العزلات المرضية اذ شكلت 32(68%) وتليها عزلات *E. Faecalis* بنسبة 5(40%) من مجموع 47 عزلة مرضية لكلا النوعين (Dupre *et al*., 2003)، ويعزى هذا الاختلاف الى ان الدراسة الحالية لم تشمل عينات سائل غسيل القصبات السنخية والتي عزلت منها *E. faecium* باعلى نسبة 12(52%) في تلك الدراسة.

3.4. توزيع العزلات الجرثومية على النماذج المرضية :

أظهرت النتائج أن (30) عزلة من *E. faecalis* توزعت على النحو التالي ، 11 من الإدرار ، 6 من البراز ، 3 من المسحات المهبلية ، وعزلتان من كل من زرع الدم و مسحات اللوزتين و مسحات الحروق ، و عزلة واحدة من كل من مسحات الأذن الوسطى و مسحات الجروح و القشع و سائل النخاع الشوكي. أما عزلات *E. faecium* العشرة فقد توزعت على النحو التالي ، 4 من نماذج الإدرار ، اثنان من نماذج البراز وعزلة واحدة من كل من مسحات اللوزتين و مسحات المهبل و مسحات الحروق و مسحات الأذن الوسطى

.ثلاثة عزلات من *E. gallinarium* عزل اثنان منها من نماذج الإدرار والأخرى من نماذج البراز. العزلة الوحيدة من *E. avium* شخصت من نماذج البراز ، الجدول (3.4) .

جدول (3.4):توزيع عزلات المكورات المعوية حسب النماذج المرضية.

Specimens	Number & percentage of Enterococci isolates				Total (%)
	E. faecalis	*E. faecium*	*E. gallinarium*	*E. avium*	
Urine	11 (64.7)	4 (23.5)	2 (11.8)	0	17 (38.6)
Stool	6 (60)	2 (20)	1 (10)	1 (10)	10 (22.7)
Blood	2 (100)	0	0	0	2 (4.5)
Tonsillar	2 (66.7)	1 (33.3)	0	0	3 (6.8)
Vaginal	3 (75)	1 (25)	0	0	4 (9.1)
Burn	2 (66.7)	1 (33.3)	0	0	3 (6.8)
Middle ear	1 (50)	1 (50)	0	0	2 (4.5)
Wound	1 (100)	0	0	0	1 (2.3)
Sputum	1 (100)	0	0	0	1 (2.3)
CSF	1 (100)	0	0	0	1 (2.3)
Total	30 (68.2)	10 (22.7)	3 (6.8)	1 (2.3)	44 (100)

جاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة مع العديد من الدراسات التي اكدت على ان جراثيم المكورات المعوية هي الاكثر تسببا لاخماج المجاري البولية وان عزلات *E. faecalis* هي الاكثر شيوعا في هذه الاصابات مقارنة مع الاصابات المرضية من جهة ومع عزلات الانواع الاخرى لتلك الجراثيم (Bonetn *et al*., 1995;Zhanel *et al*., 2001; Kau *et al*., 2005).

اتفقت نتائج توزيع انواع المكورات المعوية المعزولة من الادرارفي الدراسة الحالية مع دراسة الباحثة حنا حنو(2002) والتي وجدت ان عزلات *E. faecalis* هي الاكثر تسببا لاخماج المجاري البولية بنسبة (68.2%) مقارنة بعزلات *E. faecium* و*E. gallinarium* التي شكلت نسبة (22.7%) و (9.1%) على التوالي.

وجاءت نتائج عزل انواع هذه الجراثيم من نماذج البراز مشابه لنتائج دراسة Murray (1990) الذي وثقت بان عزلات *E. faecalis* و*E. faecium* و *E. avium* شكلت نسبة عزل 32(64%) و 15(30%) و 1(6%) من مجموع 50 عزلة من نماذج براز المرضى الراقدين والخارجين من المستشفى ، و اكدت الباحثة على انه بالرغم من التواجد الطبيعي لجراثيم المكورات المعوية للانسان الا انها تعد من المسببات لاعراض اخماج التجويف

البطني والحوضي للانسان لذا فان تواجدها في نماذج براز الاشخاص الذين يعانون من تلك الاخماج قد يكون نتيجة للاصابة بهذه الجراثيم اوبشكل مختلط مع الجراثيم الاخرى ، وقد يكون تشخيصها من نماذج البراز للمرضى الذين يعانون مثل هذه الاخماج ومن حالات الاسهال في الدراسة الحالية تعد عزلات مرضية.

لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Freitas وجماعته(2006) التي اظهرت ان نسبة عزلات (VRE) المعزولة من نماذج البراز لمرضى عمليات زرع الكلى والذين يعانون من حالات الديلزة (الاسهال الدموي) شكلت (13.75%)، وربما يعزى الاختلاف الى طبيعة المرضى المشمولين بالدراسة المذكورة فضلا عن وجود عزلات حساسة لمضاد الفانكومايسين في الدراسة الحالية.

أوضحت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة عزلات *E. faecalis* هي الاكثر شيوعا في نماذج زرع الدم، وياتي هذا متفقا مع دراسة Huycke وجماعته (1991) التي بينت ان تلك العزلات شكلت نسبة 190(92%) من مجموع 206 عزلة لجراثيم هذا الجنس من حالات التجرثم الدموي.وكذلك مع دراسة Coque وجماعتها (2005) الذين وجدوا ان نسبة عزل هذا النوع شكلت 481 (77%) من 626 عزلة مسببة لاصابات مجرى الدم.

واختلفت نسبة العزل من اللوزتين في الدراسة الحالية مع دراسة Bonten وجماعته (1995) التي وجدت ان نسبة عزلات *E. faecalis* من الحلقوم والقناة التنفسية العليا شكلت(16%) من مجموع 276 عينة مرضية لهذه النماذج وربما يعزى هذا الاختلاف الى طبيعة المرضى المشمولين بالدراسة المذكورة الخاضعين لعملية التنفس الاصطناعي وللمعالجة طويلة الامد بالمضادات الجرثومية والراقدين في وحدات العناية المركزة.

جاءت نتائج نسب عزلات هذه الجراثيم من النماذج المرضية مقاربة للعديد من الدراسات منها دراسة Facklam (1972) التي وثقت ان نسبة عزل جراثيم المكورات المعوية من نماذج الادرار والمسحات المهبلية وزرع الدم القشع كانت 43(20%) و 30(14%) و 12(5.7%) و3 (1.4%) على التوالي من مجموع 211 عزلة مرضية ،كما وجد ان عزلات *E. faecalis* شكلت نسبة (88%) و*E. faecium* و(5%) من نماذج الادرار. وبنسبة 9(75%) و3(25%) على التوالي من المسحات المهبلية وبنسبة 22(73%) و7(23%) على التوالي من

مزارع الدم ، وكانت جميع العزلات المشخصة من نماذج القشع تعود للنوع *E. faecalis* بنسبة 3(100%).

كما اتفقت الدراسة الحالية مع دراسة Udo وجماعته (2003) التي اظهرت ان نسبة عزل جراثيم المكورات المعوية شكلت (36.6%) من نماذج الادرار، و(9%) من مسحات العينات المهبلية و (10%) من زرع الدم من مجموع (419) عزلة مرضية مختلفة ، وكذلك مع دراسة Creti وجماعته (2004) التي وثقت ان نسبة عزلات *E. faecalis* شكلت 12(20%) من الادرار ، و2(2.4%) من الجروح ، و 1(1.4%) من سائل النخاع الشوكي من مجموع 58 عزلة مرضية مختلفة.

ووجد Ruoff وجماعته (1990) ان *E. faecalis* و *E. faecium* عزلت بنسبة 189(91.8%) و13(6.3%) على التوالي من اخماج القناة البولية وبنسبة 43(87.8%) و2(4.1%) على التوالي من الجروح وكانت تلك النتائج مقاربة لنتائج الدراسة الحالية التي اظهرت سيادة النوع الاول في تلك النماذج في حين اختلفت مع الدراسة حول نسبة العزل الكلية للجراثيم من تلك العينات والبالغة 206 (68%)و49(16%) من الادرار والجروح على التوالي من مجموع 302 عزلة مرضية لهذه الجراثيم ،وفسر الباحثون زيادة نسبة العزل الى ارتفاع نسبة تواجد عزلات *E. faecalis* في تلك العينات مقارنة مع الانواع الاخرى.

4.4. توزيع أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب جنس المرضى :

تبين النتائج في الجدول (4.4) أن نسبة عزل *E. faecalis* من الذكور كان أعلى بفارق غير معنوي (P= 0.52) مقارنة مع الإناث (75 % مقابل62.5 %) ، وبالمثل لم يكن هناك فارق معنوي بين نسبة عزل الأنواع الأخرى من المكورات المعوية بين الجنسين (25 %) للذكور مقابل (37.5 %) للاناث، كما وزعت عزلات المكورات المعوية المعزولة من النماذج المرضية بحسب جنس المرضى كما مبين في ملحق (7)

جدول (4.4): أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب جنس المرضى.

Gender	Enterococci isolates						P value
	E. faecalis		Other species		Total		
	No.	%	No.	%	No.	%	
Female	15	62.5	9	37.5	24	100	0.52
Male	15	75	5	25	20	100	

جاءت نتائج الدراسة الحالية في هذا الخصوص متفقة مع دراسة Murray (1990) التي اشارت الى ان جراثيم المكورات المعوية تصيب الانسان بكلا الجنسين. ومع دراسة Huycke وجماعته (1991) التي اظهرت عدم وجود فرق معنوي بين جنس المصاب بحالات التجرثم الدموي الناتجة عن الاصابة بتلك الجراثيم ،وكذلك مع دراسة Toye وجماعته (1997) التي بينت عدم وجود فرق معنوي بين الجنس وبين نسبة عزل تلك الجراثيم من نوع Van C من نماذج براز المرضى والاصحاء.

لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Kalocheretis وجماعته (2004) الذين وجدوا ان VRE المعزولة من براز المرضى الذكور كانت اعلى من الاناث (92.3% مقابل 55.5%) بفارق معنوي P=0.019 وربما يعود الاختلاف في هذه الدراسة الى وجود عزلات حساسة لمضاد الفانكومايسين.

5.4.توزيع أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب الفئات العمرية للمرضى :

بالرغم من أن معظم عزلات *E. faecalis* كانت من المرضى ممن تتراوح أعمارهم (30-44) سنة مقارنة بعزلات الأنواع الأخرى، فان الفارق الإحصائي لم يكن معنويا، الجدول (5.4).ويبين الملحق رقم (8) توزيع عزلات المكورات المعوية حسب النماذج المرضية المعزولة منها وعمر المرضى.

جدول (5.4): أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب أعمار المرضى.

Age (ys)	Enterococci isolates						P value
	E. faecalis		Other species		Total		
	No.	%	No.	%	No.	%	
< 16	8	27.7	3	27.3	11	100	0.13
16-29	3	50	3	50	6	100	
30-44	11	91.7	1	8.3	12	100	
45 +	8	53.3	7	46.7	15	100	

ان نتائج الدراسة الحالية متفقة مع دراسات الباحثة Murray (1990,2000) التي وثقت بان جراثيم المكورات المعوية كانت اكثر شيوعا في اصابات البالغين وكبار السن مقارنة مع الاطفال عدا الاطفال حديثي الولادة .

وبينت دراسة Huycke وجماعته (1991) الذين اكدوا عدم وجود فرق معنوي بين حالات التجرثم الدموي الناتجة عن الاصابة بعزلات *E. faecalis* وبين معدل اعمار

المرضى المصابين البالغ (15±60) سنة . كما اكدت دراسة Toye وجماعته(1997) عدم وجود فرق معنوي بين معدل اعمار المرضى والاصحاء البالغ (20.3±55.6) و(8.5±55) سنة على التوالي وبين عزل هذه الجراثيم من نوع Van C من نماذج البراز، وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية .

6.4.توزيع أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب نوعية المرضى:

تبين النتائج في الجدول التالي (6.4) أن مجموع عزلات *E. faecalis* من المرضى الخارجيين كانت أكثر من تلك لمعزولة من المرضى الراقدين (84.6 % مقابل 61.3 %) ولكن بفارق غيرمعنوي . وبالمثل كان مجموع العزلات الأخرى من المرضى الراقدين أكثر من تلك المعزولة من المرضى الخارجيين (38.7 % مقابل 15.4 %) ولكن بفارق إحصائي غير معنوي ايضا. كذلك يبين الجدول ان نسبة العزل الكلية لجراثيم المكورات المعوية من المرضى الرقدين كان اعلى من المرضى الخارجيين (14.5% مقابل 10%). كما وزعت عزلات المكورات المعوية المعزولة من النماذج المرضية بحسب جنس المرضى كما مبين في ملحق رقم (9).

جدول (6.4): أنواع المكورات المعوية المعزولة حسب نوعية المرضى.

Type of patients	Enterococci isolates					P value
	E. faecalis		Other species		Isolation rate	
	No.	%	No.	%		
Out-patients (n= 130)	11	84.6	2	15.4	13(10%)	0.4
In- patients (n= 213)	19	61.3	12	38.7	31(14.5%)	

تمتلك عزلات المكورات المعوية القدرة على الانتشار بين وداخل المستشفيات وبالتالي انتقالها الى المرضى الراقدين في المستشفيات فضلاعن قابلية تلك الجراثيم على البقاء لفترات طويلة قد تتجاوز اسابيع او اشهر او حتى سنين في المرضى بعد خروجهم من المستشفى وبدون اعراض سريرية، وهذا مايزيد من خطر انتقالها الى المجتمع فضلا عن المستشفيات بعد دخول المريض المصاب مرة اخرى (Cetinkaya *et al.*, 2000; Liassine *et al.*, 1998) ، وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية التي وجدت ان هذه الجراثيم تستعمر الراقدين والخارجين من المستشفيات على حد سواء دون وجود فرق معنوي.

من الموثق علميا ان جراثيم المكورات المعوية تنتهز الفرص لاحداث الاخماج التي يكون مصدرها اما داخلي من المستعمرات التى تعد جزء من النبيت الطبيعي للقناة المعوية ، او خارجية المصدر عن طريق انتقالها من خلال التلوث بالبراز وملامسة الشخص المصاب او عن طريق السلسة الغذائية وهذا مايودي الى انتقالها الى المرضى الخارجين من المستشفى فضلا عن المرضى الراقدين وبالاخص العزلات المقاومة للفانكومايسين (Mundy *et al*., 2000; Hartbarth *et a*l., 2002).

لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Murray (1990) التي بينت ان عزلات *E. faecalis* المعزولة من براز المرضى الراقدين كانت اكثر من تلك المعزولة من المرضى الخارجين (80% مقابل 48.3%) . وربما يعود الاختلاف الى طبيعة العينات المشمولة بالدراسة الحالية فضلا عن اختلاف العوامل المرتبطة بزيادة الاصابة بهذه العزلات في الدراسة المذكورة منها فترة المكوث الطويلة في المستشفيات ،والتعرض لضغط المضادات الجرثومية ، التثبيط المناعي للمريض (Grayson *et al*., 1999).اكدت دراسة Gambarotto وجماعته (2000) ان عزلات VREعدا *E. faecalis* المعزولة من البراز للمرضى الراقدين في المستشفى كانت اعلى من المرضى الخارجين (37% مقابل 11.8%) وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية.

7.4. عوامل الفوعة لعزلات المكورات المعوية:

1.7.4. إنتاج الأنزيم الحال للدم: Hemolysin production

يبين الجدول (7.4) أعداد ونسب العزلات المنتجة للأنزيم الحال للدم بأنواعه الثلاثة، إذ كانت أعلى نسبة للعزلات غير المنتجة للانزيم من نوع Gamma (50%) ، تليها المكورات المعوية المنتجة للانزيم من نوع Beta (27.3%)، واقل نسبة لتلك العزلات المنتجة للانزيم من نوع Alpha (22.7 %).

جدول (7.4): أعداد ونسب المكورات المعوية المنتجة لأنواع الإنزيم الحال للدم.

Property	No. of isolates	%

Beta hemolysin	12	27.3
Alpha hemolysin	10	22.7
Gamma hemolysin	22	50
Total	44	100

ان نتائج الدراسة الحالية في هذا الخصوص متفقة مع الدراسات التي اشارت الى ان معظم جراثيم المكورات المعوية غير منتجة للهيمولايسين أي غير محللة للدم (من نوع كاما)، في حين تنتج القليل من عزلاتها الهيمولايسن من نوع الفا الذي يسبب تحلا جزئيا للدم والبعض الاخر من عزلاتها تنتج الهيمولايسين من نوع بيتا الذي يحلل الدم تحلا كاملا (Collee *et al*., 1996; Manreo & Blanch, 1999).

تتفق الدراسة الحالية مع دراسة حنا حنو (2002) التي اظهرت ان نسبة جراثيم المكورات المعوية المنتجة للهيمولايسين من نوع الفا وبيتا وكاما (غير المنتجة) شكلت 3(11%) و 9(33.3%) و 15(55.5%) على التوالي من مجموع (27) عزلة مرضية معزولة من نماذج الادرار ومن حالات الثجرثم الدموي والتهاب شغاف القلب. كذلك تتفق نتائج الدراسة الحالية مع ماشار اليه Hancock و Gilmore (2000) الى ان نسبة انتاج انزيم الهيمولايسين من قبل جراثيم المكورات المعوية تتراوح بين (45–60%) ، ومع دراسة Semedo (2003) وجماعته الذين وجدوا ان 14(33%) من 42 عزلة مرضية لجراثيم المكورات المعوية كانت منتجة للهيمولايسين من نوع بيتا.

1.1.7.4إنتاج أنواع المكورات المعوية لأنواع الإنزيم الحال للدم: Hemolysin

يبين الجدول (8.4) أعداد ونسب أنواع المكورات المعوية المنتجة للإنزيم الحال للدم، إذ أظهرت النتائج أن عزلات *E. faecalis* كانت من الأنواع كاما ، بيتا والفا بنسب (% 40) ، (33.3 %) و (26.7 %) على التوالي. أما عزلات *E. faecium* فإنها توزعت على الأنواع كاما ، الفا وبيتا بنسب (60 %) ، (20 %) و (20 %) على التوالي. العزلات الثلاثة من *E. gallinarium* كانت من نوع كاما وكذلك عزلة واحدة من *E. avium* .

جدول (8.4): إنتاج أنواع عزلات المكورات المعوية لأنواع الإنزيم الحال للدم.

Type of hemolysin	**Species of enterococci**							
	E. faecalis		*E. faecium*		*E.gallinarium*		*E. avium*	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%

Alpha	8	26.7	2	20	0	0	0	0
Beta	10	33.3	2	20	0	0	0	0
Gamma	12	40	6	60	3	100	1	100
Total	30	100	10	100	3	100	1	100

جاءت نتائج الدراسة الحالية مماثلة للعديد من الدراسات التي اجريت في مناطق مختلفة من العالم ومنها الدراسة التي اجراها فريق من الباحثين اليابانيين والتي اكدت ان 58(60%) من (106) عزلة من *E. faecalis* معزولة من نماذج مرضية مختلفة كانت منتجة للهيمولايسين وباقي العزلات غير منتجة في حين كانت 4(17%) من 24 عزلة برازية من *E. faecalis* معزولة من اشخاص اصحاء منتجة للانزيم (Ike *et a*l., 1987). كما بينت دراسة Huycke وجماعته (1991) ان 85(44%) من مجموع 190 عزلة من نوع *E. faecalis* معزولة من حالات التجرثم الدموي كانت منتجة للهيمولايسين مقارنة بباقي العزلات غير المنتجة للانزيم. كما وجد Desai (2001) وجماعته ان (58%) من عزلات *E. faecalis* و(40%) من عزلات *E. faecium* المعزولة من نماذج مرضية مختلفة كانت منتجة للهيمولايسين من نوع بيتا، في حين كانت (12%) و(18%) منها على التوالي منتجة للهيمولايسين من الفا مقارنة بباقي العزلات غير منتجة للانزيم (من نوع كاما) ، وقد اعزى الباحث ارتفاع نسبة انتاج الهيمولايسن في عزلات النوعين الى التواجد المستمر لتلك العزلات مع الجراثيم المرضية الاخرى المنتجة لهذا لانزيم مما ادى الى اكتسابها لصفة انتاج الهيمولايسن ، فقد شكلت العزلات النقية لجراثيم المكورات المعوية نسبة 38 (18%) من مجموع 202 عزلة مرضية مختلفة اما باقي العزلات فكانت مسببة لاصابات مختلطة مع الجراثيم السالبة لصبغة كرام والتي من الممكن ان تكون منتجة لهذا الانزيم للهيمولايسين ، بينما كانت عزلات *E. avium* و *E.gallinariun* غير منتجة للانزيم أي من نوع كاما وهذا مقارب لنتائج الدراسة الحالية.

كما اظهرت نتائج دراسة حنا حنو (2002) ان عزلات *E. faecalis* المعزولة من نماذج مرضية كانت منتجة للهيمولايسين من نوع الفا ، بيتا، وغير منتجة (كاما) بنسبة 3(15.8%) و7(36.8%) و 9 (47.4%) على التوالي من مجموع 19 عزلة، وكانت عزلات *E.gallinariun* غيرمنتجة للانزيم بنسبة 2(100%)، وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية. في

حين كانت عزلات *E. faecium* منتجة للهيمولايسين من نوع بيتا بنسبة 2(33.3%) وغير منتجة (كاما) بنسبة 4(66.7%) ولم تنتج الانزيم من نوع الفا. ان انتاج هذه العزلات للانزيم من نوع الفا في الدراسة الحالية قد يعود الى امكانية انتقال البلازميد المشفر لانتاج هذا الانزيم من العزلات المنتجة له الى العزلات الغير منتجة من تلك الجراثيم (Ike *et al.*, 1987).

لم تتفق الدراسة الحالية مع دراسة Coque وجماعتها (2005) التي اظهرت عدم قدرة عزلات *E. faecium* المسببة لحالات التجرثم الدموي على انتاج الهيمولايسين. من الامور المهمة التي يجب الانتباه اليها عند اختبار انتاج الانزيم هو عدم استخدام دم الاغنام، لان كل عزلات جراثيم المكورات المعوية لاتحلل كريات الدم الحمر للاغنام لانها غير حساسة للعامل الحال الموجود في الهيمولايسين (Jett *et al.*, 1994). فضلا عن ان بعض عزلات هذه الجراثيم المنتجة للهيمولايسين من نوع بيتا اعطت هذه النتيجة بعد (48) ساعة من الحضن على وسط اكار الدم المحضر من دم الانسان وهذا ماكدته الدراسات المذكورة اعلاه (Ike *et al*., 1987;Huycke *et a*l., 1991) .

8.4. عوامل الفوعة الاخرى للعزلات : Othere virulence factors of isolates

يبين الجدول (9.4) أعداد ونسب عزلات المكورات المعوية المنتجة لانزيم الجلاتينيز و أنزيم البيتا لاكتاز و العزلات التي أظهرت قابليتها على تكوين الغشاء الحيوي وتلك التي لها القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية و العزلات التي لها القابلية على تلزن كريات الدم الحمر، اذ أظهرت النتائج أن31 (70.5 %) من العزلات لها القابلية على أنتاج انزيم الجلاتينيز ، وان 32 (72.7 %) من تلك العزلات لها القابلية على أنتاج أنزيم البيتالاكتاز. اظهرت النتائج أيضا أن 34 (77.3 %) من العزلات لها القابلية على تكوين الغشاء الحيوي خارج الجسم الحي، فضلا عن ذلك فان 33 (75 %) و 28 (63.6%) و9(20.4%) من العزلات أظهرت قابليتها على الالتصاق بالخلايا الظهارية وتلزن كريات الدم الحمر وامتلاكها للمحفظة على التوالي.ووزعت عوامل الفوعة على عزلات المكورات المعوية بحسب العينات المرضية المعزولة منها كما هو مبين في الملحق رقم (10).

الجدول (9.4) : أعداد ونسب العزلات الموجبة قيد الدراسة لعوامل الفوعة.

Property (n=44)	Negative		Positive	
	No.	%	No.	%

Gelatinase production	13	29.5	31	70.5
B-lactamase production	12	27.3	32	72.7
Biofilms formation	10	22.7	34	77.3
Adherence with epithelial cells	11	25	33	75
Agglutination of RBCs	16	36.4	28	63.6
Presence of capsule	35	79.6	9	20.4

اكدت الدراسات ان الصفات الجرثومية الواردة في هذه الدراسة ربما تلعب دور مهم في زيادة فوعة وشدة امراضية جراثيم المكوات المعوية داخل وخارج الجسم الحي (Mundy *et al*., 2000; Dupre *et al*., 2003).

جاءت نتائج الدراسة الحالية مماثلة لما اشارت اليه الدراسات السابقة عن قابلية هذه الجراثيم على انتاج الجلاتينيز، منها دراسة Hancock وGilmore (2002) التي ذكرت ان (50%) من جراثيم المكورات المعوية المرضية كانت منتجة للجيلاتينيز، في حين شكلت نسبة انتاجه (27%) من العزلات البرازية المعزولة من للاشخاص الاصحاء . وكذلك مع دراسة Gulhan وجماعته (2006) التي اشارت الى ان (55–100%) من العزلات المرضية لتلك الجراثيم كانت منتجة لانزيم الجيلاتينيز مقابل (27–66%) من العزلات البرازية المعزولة من اشخاص اصحاء .

لم تتفق نتائج الدراسة فيما يخص قابلية جراثيم المكورات المعوية على انتاج انزيم البيتالاكتاز مع الدراسات التي اظهرت عدم قابلية تلك الجراثيم على انتاجه بطريقة الاقراص الحاويةعلى مضاد Cefinase (Huykce *et al*., 1991; Grayson et al., 1999; Naas *et al*., 2005) . وربما يعزى الاختلاف لعدة اسباب: منها اختلاف طريقة اجراء الاختبار واختلاف حجم اللقاح الجرثومي للاختبار، فكلما زاد حجم اللقاح الجرثومي كلما امكن ملاحظة انتاج هذا الانزيم ، وامكانية انتقال الجينات المشفرة لانتاج البتالاكتاز بين عزلات هذا الجنس فضلا عن امكانية اكتسابه من المكورات العنقودية. ان انتاج انزيم البيتالاكتاز هو احد الاسباب التي تفسر وجود المقاومة الذاتية او المكتسبة لمضادات البتالاكتام (Cetinkaya *et al*., 2000; Rice, 2001; Jawetz *et al*., 2004).

يعد الغشاء الحيوي نوع من التكيفات البيئية للظروف الغير ملائمة للمكورات المعوية التي تلجأ الى تكوينه على سطوح بعض المستلزمات الطبية، وقد وثق بان العزلات المسببة

للاصابات بين المرضى المستخدمين لتلك المستلزمات منتجة للغشاء الحيوي واكثر فوعة من العزلات الغير المنتجة للغشاء الحيوي والمسببة لاصابات لاترتبط باستخدام الاجهزة الطبية (Mohamed & Murray, 2005; Raad *et al.*, 2005). وبذلك يساهم الغشاء الحيوي بانتشار هذه الجراثيم بشكل جزئي في المستشفيات (Kristich *et al.*, 2004).

واشارت دراسة Sandoe وجماعته (2003) ان 86(78.8%) من مجموع (109) عزلة مرضية لهذه الجراثيم اظهرت قابايتها على تكوين الغشاء الحيوي خارج الجسم الحي وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية .

اختبرت الدراسة الحالية قابلية جراثيم المكورات المعوية للالتصاق بالخلايا الظهارية البولية للإنسان، لان اخماج القناة البولية هي من اكثر الاخماج الناتجة عن تلك الجراثيم شيوعا، فضلا عن اهمية الالتصاق باعتبارها الخطوة التمهيدية لاحداث الاصابة ولامتلاك هذه الجراثيم اليات مختلفة تمكنها من الالتصاق بخلايا المضيف (Jett *et al.*, 1998 ; Shankar *et al.*, 2001).

لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة Dupre وجماعته (2003) التي وجدت ان 16(34%) من مجموع (47) عزلة مرضية لهذه الجراثيم اظهرت قابليتها على الالتصاق بالخلايا الظهارية من نوع Vero. و قد يعزى ذلك الى اختلاف النماذج المرضية التي تم عزل الجراثيم منها فضلا عن اشتراك اكثر من الية من اليات الالتصاق لهذه الجراثيم بحسب اللواصق الموجودة على سطوح تلك العزلات (Jett *et al.*, 1994).

ان قابلية جراثيم المكورات المعوية على تلزن كريات الدم الحمر خارج الجسم الحي تستخدم لدراسة التداخلات الاولية بين هذه الجراثيم وبين المضيف من خلال وجود الملزنات (اللواصق) السطحية لجراثيم المكورات المعوية فضلا عن اثبات عملية الالتصاق ، فقد وجد ان (17%) من العزلات البرازية المعزولة من الاشخاص الاصحاء لها القابلية على تلزن كريات الدم الحمر للإنسان (Gulhan *et al.*, 2006) .لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع الدراسة المذكورة ربما بسبب اختلاف طبيعة العزلات البرازية، فضلا عن اختلاف طبيعة الملزنات السطحية المتواجدة بحسب العزلات المحلية لكل دراسة. في حين اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع دراسة الباحثة حنا حنو (2002) التي وجدت ان 16(66.6%) من العزلات المرضية كانت ملزنة لكريات الدم الحمر للانسان من مجموعة O .

اكدت الدراسات على ان بعض عزلات المكورات المعوية وبالاخص المرضية منها تحتوي على تركيب المحفظة المتعدد السكريات والذي يعد من عوامل الفوعة لتلك الجراثيم ، وتتميز هذه التراكيب بالصفة المستضدية اذ تتفاعل مع الاجسام المضادة الموجودة في مصل الاشخاص المصابين بالتهاب شغاف القلب واخماج القناة البولية نتيجة الاصابة بالعزلات الحاوية على تلك المستضدات

(Huebner et al., 2000; Xu *et al*., 2000).جاءت نتائج الدراسة الحالية فيما يخص قابلية العزلات المدروسة على تكوين المحفظة متفقة مع دراسة Huebner وجماعته(1999) الذين وجدوا ان 7 (31.8%) من مجموع 22 عزلة مرضية كانت منتجة للمحفظة . كما تقاربت النتائج الحالية مع نتائج حنا حنو(2002) التي وثقتت بان 3 (11.15%) من العزلات المرضية كانت تحتوي على المحفظة .

1.8.4. عوامل الفوعة الأخرى موزعة حسب أنواع المكورات المعوية:

أظهرت النتائج في الجدول (10.4) أن 25 (83.3 %) من عزلات *E. faecalis* كانت منتجة لإنزيم الجلاتينيز ، و23 (76.7 %) من العزلات كانت منتجة لانزيم البتا لاكتاز ولها القابلية على تكوين الغشاء الحيوي وتلزن كريات الدم الحمر، و24 (80 %) من العزلات كان لها القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية و8 (26.7 %) من العزلات كانت تحوي على المحفظة. اما عزلات *E. faecium* فان 7 (70 %) منها كان لها القابلية على تكوين الغشاء الحيوي و 6 (60 %) منها كانت منتجة لإنزيمي الجلاتينيز والبيتا لاكتاز وكذلك لها القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية، و4 (40 %) من العزلات لها القابلية على تلزن كريات الدم الحمر وعزلة واحدة (10 %) كانت تحوي على المحفظة . يبين الجدول كذلك أن جميع عزلات *E. gallinarium* كانت لها القابلية على إنتاج إنزيم البتا لاكتاز ولها القابلية على تكوين الغشاء الحيوي أيضا، واثنان منها فقط (66.7 %) لها القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية. أظهرت النتائج أيضا أن العزلة الوحيدة من *E. avium* كانت لها القابلية على تكوين الغشاء الحيوي والالتصاق بالخلايا الظهارية وتلزن كريات الدم الحمر .

الجدول (10.4): عوامل الفوعة الأخرى موزعة حسب أنواع عزلات المكورات المعوية.

Property	Species of isolated enterococci			
	E. faecalis	*E. faecium*	*E. gallinarium*	*E. avium* (n=1)

	(n=30)		(n=10)		(n=3)			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Gelatinase	25	83.3	6	60	0	0	0	0
B-lactamase	23	76.7	6	60	3	100	0	0
Biofilms	23	76.7	7	70	3	100	1	100
Adherence	24	80	6	60	2	66.7	1	100
Agglutination	23	76.7	4	40	0	0	1	100
Capsule	8	26.7	1	10	0	0	0	0

تهتم الدراسات الامراضية والوبائية على نوعي *E. faecalis* و *E. faecium* من جنس المكورات المعوية وذلك لان معظم الاخماج الناتجة عن هذا الجنس يكون سببها هذين النوعين، فضلا عن تميزهما بصفة المقاومة المتعددة للمضادات الجرثومية (Moellering, 1998; Prakash *et al*., 2006) . تمتلك جراثيم المكورات المعوية العديد من الصفات التي تساهم بشكل مباشر او غير مباشر بتحطيم انسجة المضيف وبالتالي زيادة فوعتها وامراضيتها (Eaton & Gasson ,2001; Kayaoglu & Orstavik, 2004) .

وبالرجوع الى الجدول (4–10)، فقد جاءت نتائج انتاج انزيم الجلاتينيز للعزلات المشمولة بالدراسة الحالية متفقة مع العديد من الدراسات ومنها دراسة حنا حنو (2002) التي وجدت ان انتاج هذا الانزيم من عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* شكلت (84.2%) و(66.6%)على التوالي، في حين ظهرت عزلات *E. gallinarium* غير منتجة للانزيم . ومع دراسة Kayaoglu و Orstavik (2004) التي اشارت الى ان عزلات *E. faecalis* المرضية لهل القابلية على انتاج الجلاتينيز بنسبة (45–68%). وكذلك مع دراسة Gulhan وجماعته (2006) والتي وثقت بان7 (58.6%) من 29 عزلة لنوع *E. faecalis* المرضية كانت منتجة للانزيم. كما اشار Jett وجماعته (1994) ان (63.7%) من عزلات هذا النوع منتجة للجلاتينيز وان انتاجه يعد شائعا بين تلك العزلات وخاصة المعزولة من المستشفيات.

وفي ما يخص قابلية جراثيم المكورات المعويةعلى انتاج انزيم البيتالاكتاز فقد كانت نتائجنا متفقة مع عدد من الدراسات (Murray , 1990; 2000; Ric, 2001; Jawetz *et al.*, 2004). في حين اظهرت دراسات اخرى عدم قابلية هذه الجراثيم على انتاج هذا الانزيم (Huykce *et al*., 1991; Grayson *et al*., 1999; Naas *et al*., 2005).

ان نتائج الدراسة الحالية فيما يخص صفة انتاج الغشاء الحيوي لتلك الانواع كانت متفقة مع العديد من الدراسات، فقد اكدت دراسة Mohamad و Murray (2005) ان 151(92.7 %) من عزلات *E. faecalis* المرضية كانت منتجة للغشاء الحيوي. وتقاربت النتائج الحالية مع نتائج دراسة Sandoe وجماعته (2003) الذين وجدوا ان نسبة تكوينه في عزلات *E. faecalis* بلغت (100%) وهي اعلى من قابلية عزلات *E. faecium* على تكوينه والبالغة (42%). وكذلك مع دراسة Dupre وجماعته (2003) التي اظهرت ان 13 (87%) من 15 عزلة مرضية لنوع *E. faecalis* كانت مكونة للغشاء في حين بلغت نسبة تكوينه 5 (16%) من 32 عزلة لنوع *E. faecium*. ان الاختلاف في النتائج ربما يعود الى اختلاف العينات المرضية والى طبيعة المرضى المشمولين بالدراسة فضلا عن اختلاف التقنيات المختبرية للكشف عن تكوين الغشاء الحيوي.

لقد وجد الباحث Toledo-Arana وجماعته (2001) ان 87 (93.5%) من 93 عزلة مرضية لنوع *E. faecalis* الحاوية على الجين المشفر لانتاج ESP كانت مكونة للغشاء الحيوي في حين لم تظهر عزلات *E. faecium* و *E. avium* , *E. gallinarium* القدرة على انتاجه، واقترح الباحثون ان السبب ربما يعزى الى عدم امتلاك تلك العزلات لهذا الجين *esp* . وربما يعود الاختلاف في الدراسة الحالية الى امتلاك العزلات المشمولة بالدراسة للجينات المشفرة لتكوين الغشاء الحيوي والتي لاتزال غير محددة (Nallapareddy *et al*., 2006). وهذا ما يدعو للاقتراح باجراء دراسات جينية مستقبلية في هذا المجال على العزلات المحلية للمكورات المعوية.

اكدت دراسة Dupre وجماعته (2003) ان (66.6%) من عزلات *E. faecalis* المرضية اظهرت قابليتها على الالتصاق بالخلايا الظهارية من نوع Vero، وهذا يتفق من مع نتائج دراستنا الحالية التي اجريت على خلايا ظهارية من المجاري البولية، في حين اختلفت نتائج الدراسة الحالية في نسب الالتصاق لعزلات *E. faecium* والبالغة (19%) ، وربما يعزى سبب الاختلاف الى امتلاك العزلات المحلية لمواد متخصصة تساعدها من الالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية.

وكادت نتائج الدراسة الحالية متفقة ايضا مع دراسة حنا حنو (2002) التي وجدت ان معدل التصاق جراثيم المكورات المعوية بالخلايا الظهارية البولية للانسان لعزلات *E.*

faecalis و *E. faecium* المعزولة من خمج القناة البولية والتهاب شغاف القلب ونوع *E. gallinarium* المعزولة من خمج القناة البولية شكلت (34±8.19) و (25.9±8.93) و (17.2±4.7) جرثومة / خلية على التوالي. واكدت ان معدلات التصاق النوع الاول اعلى من النوع الثاني وبدوره اعلى من النوع الثالث.

من جانب اخر تقاربت النتائج الحالية فيما يخص قابلية انواع المكورات المعوية على تلزن كريات الدم الحمر للانسان من مجموعة O مع ماشارت اليه دراسة Gulhan وجماعته (2006) الى ان 86 (97%) من مجموع 89 عزلة لنوع *E. faecalis* معزولة من مجرى الدم اعطت تلازنا موجبا مع هذه المجموعة . كما اظهرت دراسة حنا حنو (2002) ان عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* كانت ملزنة لهذه المجموعة بنسبة (84.2%) و(33.3%) على التوالي في حين لم تظهر عزلات *E. gallinarium* القابلية على التلازن.

ان نتائج قابلية تكوين المحفظة لانواع المكورات المعوية المشمولة بهذه الدراسة متفقة مع نتائج دراسة Huebner وجماعته (1999) الذين وجدوا ان 5(33%) من 15 عزلة لنوع *E. faecalis* و2 (28%) من عزلات *E. faecium* المرضية اظهرت القدرة على انتاج المستضد الخاص بتركيب المحفظة .وكذلك مع دراسة حنا حنو (2002) التي بينت ان عزلات *E. faecalis* و *E. faecium* المرضية لها القابلية على تكوين المحفظة بنسبة (10.5%)و(16.%)على التوالي،في حين لم تظهرعزلات *E. gallinarium* القابلية على ذلك

ان خاصية تكوين المحفظة من قبل جراثيم المكورات المعوية لم تكن معروفة مسبقا الان توصل الباحث Bottone وجماعته (1998) الى وجود تركيب المحفظة قريب من الجدار الخلوي لعزلات *E. faecalis* المرضية واشارالى ان هذه العزلات تعطي مستعمرات مخاطية القوام على وسط اكار الدم (Xu *et al.*, 2000). اما بالنسبة لعزلات *E. avium* ، ومن خلال متابعتنا للادب العلمي لم تحدد الدراسات السابقة نسبة انتاجها للجلاتينيز والتصاقها بالخلايا الظهارية ونسبة تلزنها لكريات الدم الحمر وتكوينها للمحفظة .وقد يعزى ذلك لقلة تواجدها في العينات المرضية (Mundy *et al.*, 2000).

9.4. حساسية عزلات المكورات المعوية للمضادات الجرثومية:

يبين الجدول (11.4) حساسية عزلات المكورات المعوية للمضادات الجرثومية التي استخدمت في الدراسة ، إذ أظهرت العزلات أعلى حساسية تجاه حامض النالدكسك 35 (%

97.5) ،ثم تلتها الحساسية لكل من السبروفلوكساسين و الاموكساسلين مضافا إليه حامض الكلافيولانك 27 (61.4%) ، وكانت حساسية العزلات للريفادين16 (36.4 %) ، البنسيلين 12 (27.3 %) ، المثبريم الثلاثي10 (22.7 %) و الفانكومايسين 5(11.4%). من جانب أخر فقد أظهرت النتائج أن جميع العزلات كانت مقاومة لكل من الكلوكساسلين ، السيفوتوكسيم ، الاموكساسلين، التتراسايكلين و الارثرومايسين. كما بين الجدول أعداد ونسب أنواع المكورات المعوية الحساسة للمضادات الجرثومية ، إذ كانت حساسية عزلات *E. fecalis* للمضادات الجرثومية المستعملة في هذه الدراسة على النحو التالي ،25 (83.3 %) لحامض النالدكسك ، 18 (60 %) للسبروفلوكساسين،16 (53.3 %) الاموكساسلين+حامض الكلافيولانك،11 (36.7 %) للريفادين ، 7 (23.3 %) للبنسلين ،و6 (20 %) للمثبريم الثلاثي. بينما كانت جميع العزلات مقاومة لكل من الفانكوماسين ، الكلوكساسلين ، السيفوتوكسيم ، الاموكساسلين ، التتراسايكلين و الارثرومايسين.

عزلات *E. faecium* كانت الأكثر حساسية للاموكساسلين + حامض الكلافيولانك 8(80%) ، حامض النالدكسك 7 (70%) ، السبروفلوكساسين 7 (70 %) ، الريفادين 5 (50 %) ، البنسلين 4 (40 %) ، المثبريم الثلاثي 3 (30 %) و الفانكوماسين 2 (% 20). في حين كانت جميع العزلات مقاومة لكل من الكلوكساسلين ، السيفوتوكسيم ، الامبسلين ، التتراسايكلين و الارثرومايسين.

جميع عزلات *E. gallinrium* كانت حساسة لكل من الفانكوماسين و الاموكساسلين + حامض الكلافيولانك (100%). عزلتان كانت حساسة لحامض النالدكسك (66.7 %)، وعزلة واحدة كانت حساسة لكل من السبروفلوكساسين و المثبريم الثلاثي (33.3 %) ، في حين كانت جميع العزلات مقاومة للريفادين ، البنسلين ، الكلوكساسلين ، السيفوتوكسيم ، الامبسلين ، التتراسايكلين و الارثرومايسين.

أما عزلة *E.avium* فكانت حساسة لكل من للسبروفلوكساسين، حامض النالدكسك و البنسلين، في حين كانت مقاومة لبقية المضادات الجرثومية.وبين الملحق رقم (11) حساسية عزلات المكورات المعوية للمضادات الجرثومية موزعة بحسب العينات المرضية.

الجدول (11.4): حساسية أنواع عزلات المكورات المعوية للمضادات الجرثومية.

Antibiotic sensitivity	**Species of isolated enterococci**				Total isolates
	E. faecalis	*E. faecium*	*E. gallinarium*	*E. avium*	

	(n=30)		(n=10)		(n=3)		(n=1)		(n=44)	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Vancomycin	0	0	2	20	3	100	0	0	5	11.4
Ciprofloxacin	18	60	7	70	1	33.3	1	100	27	61.4
Rifampicin	11	36.7	5	50	0	0	0	0	16	36.4
Nalidixic acid	25	83.3	7	70	2	66.3	1	100	35	79.4
Penicillin	7	23.3	4	40	0	0	1	100	12	27.3
Amoxacillin + Clavulanic acid	16	53.3	8	80	3	100	0	0	27	61.4
Trimethoprim	6	20	3	30	1	33.3	0	0	10	22.7
Cloxacillin,	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Cefotaxim	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Amoxacillin	0	0	0		0	0	0	0	0	0
Tetarcyclin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Erythromycin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

جاءت هذه النتائج مماثلة لنتائج الدراسة المحلية للباحثة حنا حنو (2002) التي بينت ان جراثيم المكورات المعوية المرضية كانت مقاومة (100%) لمضادي التتراسايكلين والارثرومايسين، في حين اختلفت النتائج الحالية مع دراسة الباحثة التي وجدت ان جميع العزلات كانت مقاومة للابنسلين وحامض النالدكسك وحساسة لمضاد الريفادين والمثبريم الثلاثي والفانكومايسين بنسبة (81.4%) و (55.5%) و(70.3%) على التوالي. وربما يعود السبب الى طبيعة العينات المرضية المشمولة بالدراسة والى امكانية اكتساب هذه الجراثيم صفة المقاومة للعديد من المضادات الحيوية.

اظهرت عزلات المكورات المعوية في الدراسة الحالية مقاومة عالية لمضادات البتالاكتام منها الاموكساسلين والسيفوتاكسيم والكلوكساسلين والبنسلين هذا يتفق مع ماكدته الدراسات حول امتلاك هذه الجراثيم مقاومة ذاتية ومكتسبة لمضادات البيتالاكتام وقابليتها لتحويلها الى مضادات غير فعالة (Collee *et al.*, 1996;). وتعزى هذه المقاومة اما الى امتلاك العزلات المقاومة للبروتينات المرتبطة بالبنسلين PBP ومنها PBP5 الموجودة في العديد من عزلات هذه الجراثيم والتي تساعدها على اكمال تركيب جدارها الخلوي حتى في التراكيز المتوسطة لمعظم تلك المضادات او الى قابلية العزلات المقاومة على انتاج انزيم البتالاكتاز (Moellering,1998; Rice,2001).

بينما كانت العزلات حساسة لخليط الاموكساسلين وحامض الكلافيولانك وهذا مشابه لما اشارت اليه الدراسات التي اكدت فعالية هذا الخليط ضد عزلات هذه الجراثيم المقاومة لمضادات البتالاكتاز المستعملة في الدراسة الحالية، اذ تعتبرمادة حامض الكلافيولانك مثبطة لانزيم البتالاكتاز وبالتالي يجعلها اكثر حساسية لفعالية تلك المضادات (Murray, 2000; Jawetz *et al*.,2004) .

واظهرت العزلات اعلى نسبة حساسية تجاه مضادات الكوينولونات Quinolones المتمثلة بحامض النالدكسك والسبروفلوكسين، وتعود فعالية هذه المضادات الى منع لف شريط الدنا لفا فائقا بسبب تثبيطها لانزيم DNA gyrase المسؤول عن تلك الوظيفة (Baron *et a*l., 1999). اكدت دراسة Udo (2003) وجماعته ان (60%) من جراثيم المكورات المعوية المرضية كانت حساسة لمضاد السبروفلوكسين وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية . كما اتفقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات التي اشارت الى ان هذا المضاد هو الاكثر فعالية في علاج اخماج المجاري البولية الناتجة عن الاصابة بتلك الجراثيم ، في حين اشارت الى عدم فعالية مضاد الريفادين بسبب ظهور العزلات المقاومة له لكن من الممكن استخدامه بعد مزجه مع مضاد فعال اخر لغرض علاج الاصابات المختلفة (Murray, 1990; Cetinkaya *et al*.2000).

اكتسبت جراثيم المكورات المعوية في العقدين الماضيين مقاومة لمضادات الكلايكوببتيدات وبالاخص الفانكومايسين وذلك نتيجة فعالية مجموعة من الجينات تعرف *van* A,B,C,D,E التي تشفر لانتاج نهاية D-alanin-D-lactate او D-alanin-Dserin بدلا من النهاية الطبيعية D-alanin-D-alanin الموجودة ضمن المكونات الاولية للجدار الخلوي لتلك الجراثيم ، وتجعل التراكيب البديلة من تلك المضادات غير قادرة على الارتباط بمواقع الهدف وبالتالي ظهور العزلات المقاومة (Dutka-Malen *et al*., 1995; Grayson *et al*., 1999) . اظهرت نتائج الدراسة الحالية ارتفاع نسب مقاومة العزلات الجرثومية لمضاد الفانكومايسن عن باقي الدراسات، و منها دراسة Einger وجماعته (2005) في الولايات المتحدة التي اشارت الى ان نسبة عزلات VRE شكلت (25–50%)، وكذلك مع دراسة حنا حنو (2002) التي وجدت ان تلك العزلات شكلت (52%) .وقد يعزى الاختلاف الى استيطان عزلات VRE في المستشفيات وانتشارها الى المجتمع فضلا عن امكانية انتقال الجينات

المشفرة لهذه المقاومة المحمولة على البلازميدات والترانسيوزونات الى العزلات الحساسة لتصبح الاخيرة مقاومة مما ادى الى ارتفاع نسبة ظهورها (Bonten *et al*., 2001; Nass *et al*., 2005 ; Novais *et al*., 2005).

1.9.4.الحساسية للمضادات الجرثومية حسب أنواع العزلات:

ان نتائج حساسية عزلات *E. faecalis* في الدراسة الحالية تتفق مع نتائج دراسة Udo وجماعته (2003) التي اظهرت ان (60%) من تلك العزلات كانت حساسة لمضاد السبروفلوكسين، وكذلك مع دراسة حنا حنو (2002) التي وجدت ان جميع تلك العزلات كانت مقاومة للتترتسايكلين والارثرومايسين . كما تقاربت نتائجنا مع دراسة Dupre وجماعته (2003) التي بينت ان (67%) و(9%) من هذه العزلات كانت حساسة لمضاد النورفلوكسين (احد انواع الكوينولونات) وللامبسلين على التوالي ، في حين اختلفت نتائجنا مع الدراسات المذكورة اعلاه بعدم وجود عزلات حساسة لمضاد الفانكومايسين.

كما اتفقت النتائج الحالية الخاصة بحساسية *E. faecium* مع دراسة حنا حنو(2002) التي اظهرت مقاومة جميع هذه العزلات للتترتسايكلين والارثرومايسين وحساسيتها تجاه الريفادين والمثبريم الثلاثي والبالغة (66.6%) و (50%) على التوالي. ومع دراسة Inoue وجماعته التي اظهرت ان (77%) من العزلات المرضية المختلفة كانت مقاومة للفانكومايسين . وكذلك مع دراسة Harrington وجماعته(2004) ان عزلات هذا النوع المسببة للتجرثم الدموي كانت مقاومة لهذا المضاد بنسبة (72.45) .من جانب اخر اظهرت دراسة Udo وجماعته (2003) ان (50%) من هذه العزلات كانت حساسة لمضاد السبروفلوكسين.في حين وثقت دراسة Leavis وجاعته (2005) ان (51%) من هذه العزلات كانت مقاومة لهذا المضاد. وقد فسر الباحثين ارتفاع نسب المقاومة الى حدوث الطفرة الوراثية التي ادت الى اكتساب جينات C *Par* و A *gyr* المشفرة للمقاومة العالية للسبروفلوكسين . وربما يكون هذا التفسير وراء نتائج الدراسة الحالية.

كما اتفقت نتائج حساسية عزلات *E. gallinarium* في الدراسة الحالية مع دراسة حنا حنو (2002) التي وجدت ان جميع هذه العزلات مقاومة للتتراسايكلين والارثرومايسين والبنسلين وجميعها حساسة لمضاد الفانكومايسين، في حين لم تتفق مع الباحثة بحساسية جميع العزلات للمثبريم الثلاثي والريفادين. وربما يعود السبب في ذلك طبيعة النماذج

المرضية المشمولة بالدراسة و الى قابلية العزلات لاكتساب المقاومة لتلك المضادات. ان حساسية عزلات هذا النوع لمضاد الفانكومايسين ياتي متفقا مع دراسات عديدة اكدت ان حساسيتها تجاه المضاد ومقاومتها الواطئة مقارنة بالنوعين الاخرين *E.faecalis* و *E.faecum* وذلك لانها تصنف ضمن النمط المظهري C Van الذي يتميز بمقاومة منخفضة لهذا المضاد(Cetinkaya *et al*., 2000; Bonten *et al*., 2001). اما فيما يخص حساسية عزلات *E. avium* ، ومن خلال متابعتنا للادب العلمي، لم تحدد الدراسات السابقة حساسيتها للمضادات. وقد يعزى ذلك الى قلة تشخيصها من العينات المرضية .

ان حساسية الانواع الجرثومية المعزولة لباقي المضادات المستعملة في هذه الدراسة، فان اغلب الدراسات العلمية تركز على استخدام طريقة MIC لمعرفة التركيز اللازم من المضاد المثبط او القاتل لهذه الجراثيم هذا من جهة ومن جهة اخرى لغرض معرفة الصنف المظهري السائد لمقاومة مضاد الفانكومايسين في تلك العزلات فضلا عن الاعتماد على طريقة PCR لتحديد وجود الجينات المقاومة للمضادات Lassine *et al*., (1998; Graysone *et al*., 1999) .

10.4.أنواع الإنزيم الحال للدم والحساسية للمضادات الجرثومية:

تظهر النتائج في الجدول (13.4) أن جميع عزلات المكورات المعوية من نوع كاما (غير منتجة للانزيم) الحال للدم كانت حساسة للفانكومايسين (22.7%) ولكن بفارق احصائي غير معنوي (P= 0.06) مقارنة بالعزلات المنتجة لنوعي الالفا والبيتا، فضلا عن ذلك فان العزلات المنتجة لنوع كاما من الإنزيم الحال للدم كانت الأكثر حساسية لكل من السبروفلوكساسين، حامض النالدكسك، الاموكساسلين + حامض الكلافيولنك بنسب 63.6 % , 86.4 %، 72.7 % على التوالي. اما العزلات المنتجة لنوع بيتا من الإنزيم الحال للدم كانت الأكثر حساسية لكل من الريفادين و البنسلين بنسب 41.7 % , 33.3 % على التوالي. أما العزلات المنتجة لنوع الفا من الإنزيم الحال للدم كانت الأكثر حساسية للمثبريم الثلاثي بنسبة (30 %) ولكن جميعها بفوارق إحصائية غير معنوية .

الجدول (12.4): العلاقة بين إنتاج أنواع الإنزيم الحال للدم والحساسية للمضادات الجرثومية.

Antimicrobial	Types of hemolysin						P (X^2)
	Alpha (n=10)		Beta (n=12)		Gamma (n=22)		
	No.	%	No.	%	No.	%	
Vancomycin	0	0	0	0	5	22.7	0.06

Ciprofloxacin	6	60	7	58.3	14	63.6	0.95
Rifampicin	4	40	5	41.7	7	31.8	0.82
Nalidixic acid	8	80	8	66.7	19	86.4	0.4
Penicillin	2	20	4	33.3	6	27.3	0.78
Amoxacillin + clavulanic	5	50	6	50	16	72.7	0.3
Trimethoprim	3	30	2	16.7	5	22.7	0.76
Total	10	100	12	100	22	100	

ان نتائج الدراسة الحالية متفقة مع العديد من الدراسات السابقة التي اشارت الى ان عزلات المكورات المعوية المنتجة للهيمولايسين اكثر مقاومة للمضادات الجرثومية من العزلات الغير منتجة ، واكدت ان صفة انتاج الهيمولايسين والمقاومة للمضادات الجرثومية قد يشتركان بشكل متعاون في احداث الامراض الناتجة عن تلك الجراثيم، اذ ان البلازميدات الاقترانية المشفرة لانتاج الهيمولايسين تشفر في نفس الوقت لمقاومة بعض المضادات الجرثومية، لذا فهي تلعب دور مهم في انتشار الجينات المقاومة للمضادات فضلا عن انتاج الهيمولايسين وهذه مايزيد من فوعة تلك الجراثيم (Jett *et al*., 1994; Mundy *et al*., 2000 .

اظهرت دراسة Huycke وجماعته (1991) ان 62 (91.2%) من عزلات *E. faecalis* المسببة للتجرثم الدموي كانت منتجة للهيمولايسين ومقاومة للجنتامايسين مقابل 23(18.8%) من تلك العزلات كانت منتجة للهيمولايسين وحساسة للجنتامايسين من مجموع 85 عزلة منتجة للهيمولايسين.كما فسرت دراسة Jett وجماعته (1992) شدة الاصابة وعدم الاستجابة لعلاج اخماج الاغشية البصرية الداخلية الناتجة عن تلك الجراثيم في تجارب الحيوانات المختبرية الى ارتباط صفة انتاج الهيمولايسين مع المقاومة للمضادات الجرثومية منها مضادات الكلايكوسيدات .

بالرغم من وجود العلاقة بين انتاج الهيمولايسين والمقاومة للمضادات الجرثومية لجراثيم المكورات المعوية الاانها لم تظهر بفوارق احصائية معنوية في الدراسة الحالية، وربما يعزى ذلك الى ان انتاج الهيمولايسين كصفة مظهرية يتاثر بعدة عوامل عند اجراء الاختبار خارج الجسم الحي منها الظروف البيئية، وتعبير الجينات المشفرة لانتاجه ،وامكانية انتقالها بحسب نظام الفرمونات ، التواجد الكثيف او القليل لتلك الجراثيم الذي يحدد

كمية الهيمولايسين المنتج ، التازر الجرثومي مع جراثيم اخرى منتجة للانزيم ،مدة الحضن، ونوع الدم المستخدم (Eaton & Gasson, 2001; Ike *et al.*,1987) .

11.4.إنتاج إنزيم الجلاتينيز والحساسية للمضادات الجرثومية :

الجدول (14.4) يبين النتائج الخاصة بالعلاقة بين إنتاج إنزيم الجلاتينيز والحساسية للمضادات الجرثومية المستخدمة في الدراسة ، إذ تبين أن العزلات غير المنتجة لهذا الإنزيم هي الأكثر حساسية للمثبريم الثلاثي وبفارق إحصائي معنوي (P= 0.04) مقارنة بالعزلات المنتجة للانزيم.من جانب آخر كانت العزلات غير المنتجة للإنزيم أكثر حساسية للفانكومايسين ، السبروفلوكساسين ، الريفادين ، البنسلين و الاموكساسلين + حامض الكلافيولنك مقارنة بالعزلات المنتجة للإنزيم بفوارق احصائية غير معنوية ، بينما كانت العزلات المنتجة للإنزيم الأكثر حساسية لحامض النالدكسك (80.6 % مقابل 76.9 %) مقارنة بالعزلات غير المنتجة للإنزيم وبفارق إحصائي غير معنوي.

الجدول (13.4): العلاقة بين إنتاج إنزيم الجلاتينيز والحساسية للمضادات الجرثومية.

Antimicrobial	Gelatinase production				P (Fisher's exact)
	Negative (n=13)		Positive (n= 31)		
	No.	%	No.	%	
Vancomycin	3	23.1	2	6.5	0.14
Ciprofloxacin	9	69.2	18	58.1	0.74
Rifampicin	5	38.5	11	35.5	1
Nalidixic acid	10	76.9	25	80.6	1
Penicillin	5	38.5	7	22.6	0.3
Amoxacillin + clavulanic	10	76.9	17	54.8	0.2
Trimethoprim	6	46.2	4	12.9	**0.043 [S]***

***[S] = Significant**

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان العزلات الغير منتجة للجلاتينيز اكثر حساسية للمضادات الجرثومية من العزلات المنتجة للانزيم، وهذه النتيجة ربما تشيرالى دور هذا العامل في زيادة فوعة تلك الجراثيم. قد تنفرد الدراسة الحالية بهذه العلاقة لانه ومن خلال متابعتنا للادب العلمي لم نجد ما يشير الى مدى العلاقة بين انتاج جراثيم المكوارات المعوية للجلاتينيز ومقاومتها للمضادات الجرثومية.

12.4.إنتاج إنزيم البيتالاكتاز والحساسية للمضادات الجرثومية :

تبين النتائج في الجدول (15.4) العلاقة بين إنتاج إنزيم البيتا لاكتاز والحساسية للمضادات الجرثومية المستخدمة في الدراسة. ظهر بان العزلات غير المنتجة لهذا الإنزيم هي الأكثر حساسية للبنسلين (91.7%) مقارنة بالعزلات المنتجة للإنزيم (3.1%) وبفارق إحصائي معنوي(P< 0.001). فضلا عن ذلك فان العزلات غير المنتجة لهذا الإنزيم كانت الأكثر حساسية لكل من السبروفلوكساسين ، الريفادين ، حامض النالدكسك والمثبريم الثلاثي مقارنة بالعزلات المنتجة للإنزيم. بينما كانت العزلات المنتجة للإنزيم الأكثر حساسية للفانكومايسين و الاموكساسلين + حامض الكلافيولنك مقارنة بالعزلات غير المنتجة للإنزيم

الجدول (14.4): العلاقة بين إنتاج إنزيم البيتا لاكتاز والحساسية للمضادات الجرثومية.

Antimicrobial	**B-lactamase production**				P (Fisher's exact)
	Negative (n=12)		Positive (n= 32)		
	No.	%	No.	%	
Vancomycin	1	23.1	4	12.5	1
Ciprofloxacin	8	66.7	19	59.4	0.74
Rifampicin	5	41.7	11	34.4	0.73
Nalidixic acid	10	83.3	25	78.1	1
Penicillin	11	91.7	1	3.1	**< 0.001 [S]**
Amoxacillin + clavulanic	7	58.3	20	62.5	1
Trimethoprim	3	25	7	21.9	1

***[S] = Significant**

اكدت الدراسات على ان عزلات المكورات المعوية المنتجة لانزيم البتالاكتاز تكون اكثر مقاومة لمضادات البتالاكتام من العزلات الغير منتجة للانزيم (Cetinkaya *et al*., 2000; Ric., 2001) . وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية التي اظهرت ان العزلات الغير منتجة للانزيم كانت اكثر حساسية للبنسلين مقارنة بالعزلات المنتجة بفارق احصائي معنوي، اذ يعمل هذا الانزيم على تكسير حلقة البنسلين الموجودة في تركيبة المضاد وبالتالي عدم فعالية هذا المضاد تجاه العزلات المنتجة للانزيم (Collee *et al*., 1996).

كما انفقت نتائج الدراسة الحالية مع الدراسات الاخرى التي اشارت الى ان العزلات المنتجة للانزيم تكون اكثر حساسية لمضاد الاموكساسلين + حامض الكلافيولنك مقارنة

بـالعزلات غيـر المنتجـة للانـزيم، اذ يمتـاز هـذا الخلـيط بقابليتـه علـى تثبـيط فعاليـة انـزيم البيتالاكتاز (Murray ,2000; Jawetz *e t al*., 2004).

13.4.قابليـة المكـورات المعويـة علـى تكـوين الغشـاء الحيـوي والحساسـية للمضـادات الجرثومية :

يبين الجدول (16.4) قابلية عزلات المكورات المعوية على تكوين الغشاء الحيوي والحساسية للمضادات الجرثومية لمستخدمة في الدراسة ، أظهرت النتائج أن العزلات التي لا تمتلك القابلية على تكوين الغشاء الحيوي هي الأكثر حساسية للبنسلين مقارنة مع العزلات التي أظهرت قابليتها على تكوين الغشاء الحيوي (70 % مقابل 14.7 %) وبفارق إحصائي معنوي (P= 0.002). وعموما فان العزلات التي لا تمتلك القابلية على تكوين الغشاء الحيوي كانت الأكثر حساسية لكل من الريفادين ، حامض النالدكسك والاموكساسلين + حامض الكلافيولنك مقارنة مع العزلات التي لها القابلية على تكوين الغشاء الحيوي، ولكن بفوارق إحصائية غير معنوية.

الجدول (15.4): العلاقة بين القابلية على تكوين الغشاء الحيوي والحساسية للمضادات الجرثومية.

Antimicrobial	**Biofilms formation**				P (Fisher's exact)
	Negative (n=10)		Positive (n= 34)		
	No.	%	No.	%	
Vancomycin	0	0	5	14.7	0.57
Ciprofloxacin	6	60	21	61.8	1
Rifampicin	4	40	12	35.3	1
Nalidixic acid	9	90	26	76.5	0.66
Penicillin	7	70	5	14.7	**0.002 [S]**
Amoxacillin + clavulanic	7	70	20	58.8	0.72
Trimethoprim	2	20	8	23.5	1

***[S] = Significant**

جاءت نتائج الدراسة الحالية متفقة بصفة عامة مع الدراسات الاخرى التي اكدت ان عزلات المكورات المعوية التي تمتلك القابلية على تكوين الغشاء الحيوي هي اكثر مقاومة للمضادات الحيوية من العزلات التي لاتمتلك القابلية على تكوينه (Merode *et al*., 2006).

كما افادت دراسة Kristich وجماعته(2004) ان عزلات *E. faecalis* المكونة للغشاء الحيوي تكون اكثر مقاومة لمضادي الفانكومايسين والتيكوبلانين مقارنة مع العزلات الغير مكونة للغشاء.وهذا يتماثل مع النتائج الحالية في ما يخص مقاومتها للبنسلين بفارق معنوي.

بينت دراسة Raad وجماعته (2005) ان عزلات *E. faecium* المسببة للتجرثم الدموي والتي لها القابلية على تكوين الغشاء الحيوي كانت حساسة لمضادات QD, Linozolid,Minocyclin، واكدت الدراسة على انه بالرغم من حساسية العزلات الاانها لاتثبط بشكل كامل . وهذا مشابه لنتائج الدراسة الحالية التي اظهرت حساسية العزلات التي تمتلك الغشاء الحيوي لكن بفوارق غير معنوية. كما اظهرت دراسة Ramadhan و Hegedus (2005)عدم وجدود فرق معنوي بين تكوين الغشاء الحيوي لعزلات هذه الجراثيم وبين حساسيتها او مقاومتها لمضاد الفانكومايسين.

14.4. قابلية الالتصاق بالخلايا الظهارية والحساسية للمضادات الجرثومية :

الجدول (17.4) يبين العلاقة بين قابلية عزلات المكورات المعوية على الالتصاق بالخلايا الظهارية وحساسيتها للمضادات الجرثومية ، إذ أظهرت النتائج أن العزلات التي ليس لها القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية كانت أكثر حساسية للبنسلين مقارنة بالعزلات التي لها القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية (54.5 % مقابل 18.2 %) وبفارق إحصائي معنوي (P= 0.045). فضلا عن ذلك فان العزلات التي ليس لها القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية كانت الأكثر حساسية لكل من الفانكومايسين ، السبروفلوكساسين ،حامض النالدكسك والاموكساسلين + حامض الكلافيولنك ولكن بفوارق إحصائية غير معنوية. بينما أظهرت العزلات التي تمتلك خاصية الالتصاق بالخلايا الظهارية حساسية أكثر لكل من الريفادين والمثبريم الثلاثي مقارنة بالعزلات التي ليس لها القابلية على للالتصاق بالخلايا الظهارية ولكن بفوارق إحصائية غير معنوية.

الجدول (16.4): العلاقة بين القابلية على الالتصاق بالخلايا الظهارية والحساسية للمضادات الجرثومية.

Antimicrobial	**Adhesion to epithelial cells**				P (Fisher's exact)
	Negative (n=11)		Positive (n= 33)		
	No.	%	No.	%	
Vancomycin	2	18.2	3	9.1	0.59
Ciprofloxacin	7	63.6	20	60.6	1

Rifampicin	3	27.3	13	39.4	0.72
Nalidixic acid	9	81.8	26	78.8	1
Penicillin	6	54.5	6	18.2	**0.045 [S]**
Amoxacillin + clavulanic	9	81.8	18	54.5	0.16
Trimethoprim	2	18.2	8	24.2	1

***[S] = Significant**

بالرغم من كثرة الدراسات عن آليات الالتصاق لجراثيم المكورات المعوية الانها لم تتطرق الى العلاقة بين قابليتها على الالتصاقها بالخلايا الظهارية ومقاومتها للمضادات الجرثومية. وقد يعزى ذلك الى اشتراك اكثر من الية واحدة في عملية التصاقها، اذ تمتلك هذه الجراثيم اليات متعددة للالتصاق (Jett *et al*., 1994; Hancock & Glimore, 2000) . فوجد مثلا ان العزلات المعبرة عن انتاج بروتينات ESP (احد آليات الالتصاق) كانت اكثر ارتباط بالعزلات المقاومة للامبسلين والفانكومايسن (Leavis *et al*., 2004). ووجد كذلك ان العزلات المعبرة عن (AS الية اخرى من اليات الالتصاق لهذه الجراثيم) ترتبط مع المقاومة للامينوكلايكوسيدات (Mundy *et al*., 2000). ان تلك النتائج تتفق مع نتائج الدراسة الحالية التي اظهرت فرقا معنويا في حساسية العزلات التي تمتلك القابلية على الالتصاق للامبسلين مقارنة بالعزلات التي لا تمتلك تلك القابلية. اما الفارق الاحصائي في حساسيتها لمضاد الفانكومايسن في الدراسة الحالية فقد كان غير معنوي، وهذا ماكدته دراسة Harrington وجماعته (2004) على انESP يرتبط بشكل جزئي بنشر العزلات المقاومة لمضاد الفانكومايسن.

15.4.القابلية على تلزن كريات الدم الحمر والحساسية للمضادات الجرثومية :

تبين النتائج في الجدول (18.4) العلاقة بين قابلية عزلات المكورات المعوية على تلزن كريات الدم الحمر والحساسية للمضادات الحيوية ، إذ ظهر بان جميع العزلات التي ليس لها القابلية على تلزن كريات الدم الحمر هي الأكثر حساسية لجميع المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة مقارنة بالعزلات التي تمتلك خاصية تلزن كريات الدم الحمر ولكن بفوارق إحصائية متباينة في مجملها غير معنوية.

الجدول (17.4): العلاقة بين القابلية على تلزن كريات الدم الحمر والحساسية للمضادات الجرثومية.

Antimicrobial	**Agglutination of RBCs**		P (Fisher's exact)
	Negative (n=16)	Positive (n= 28)	

	No.	%	No.	%	
Vancomycin	4	25	1	3.6	0.05
Ciprofloxacin	10	62.5	17	60.7	1
Rifampicin	6	37.5	10	35.7	1
Nalidixic acid	13	81.3	22	78.6	1
Penicillin	7	43.8	5	17.9	0.09
Amoxacillin + clavulanic	13	81.3	14	50	0.05
Trimethoprim	6	37.5	4	14.3	0.13

ربما تنفرد الدراسة الحالية بهذه العلاقة لانه ومن خلال متابعتنا للادب العلمي عن جراثيم المكورات المعوية لم نجد ما يشير الى العلاقة بين قابلية عزلات هذه الجراثيم على تلزن كريات الدم الحمر والحساسية للمضادات الجرثومية . في حين اظهرت الدراسة الحالية ان العزلات الغير ملزنة كانت اكثر حساسية للمضادات المستخدمة وهذا ربما يدل على مساهمة هذا العامل بفوعة هذه الجراثيم بالرغم من كون الفوارق الاحصائية في النتائج كانت غير معنوية .

18.4.امتلاك عزلات المكورات المعوبة للمحفظة والحساسية للمضادات الجرثومية:

يبين الجدول (19.4) العلاقة بين امتلاك عزلات المكورات المعوية للمحفظة وحساسيتها للمضادات الجرثومية المستخدمة في الدراسة ،إذ أظهرت النتائج أن جميع العزلات الغير حاوية على المحفظة هي الأكثر حساسية للبنسلين مقارنة مع العزلات التي تمتلك المحفظة (34.3 % مقابل صفر %) وبفارق إحصائي معنوي (P = 0.045). وبشكل عام فان العزلات غير الحاوية على المحفظة كانت الأكثر حساسية لكل من الفانكومايسين ، السبروفلوكساسين ، الاموكساسلين + حامض الكلافيولنك والمثبريم الثلاثي مقارنة بالعزلات الحاوية على المحفظة ولكن بفوارق إحصائية غير معنوية، بينما كانت العزلات الحاوية على المحفظة هي الأكثر حساسية لكل من الريفادين و حامض النالدكسك ولكن بفوارق إحصائية غير معنوية.

الجدول (18.4): العلاقة بين امتلاك المحفظة والحساسية للمضادات الجرثومية.

Antimicrobial	**Presence of capsule**		P (Fisher's exact)
	Negative (n=35)	Positive (n= 9)	

	No.	%	No.	%	
Vancomycin	4	11.4	1	11.1	1
Ciprofloxacin	22	62.9	5	55.6	0.72
Rifampicin	11	31.4	5	55.6	0.25
Nalidixic acid	27	77.1	8	88.9	0.66
Penicillin	12	34.3	0	0	**0.045 [S]**
Amoxacillin + clavulanic	23	65.7	4	44.4	0.28
Trimethoprim	9	25.7	1	11.1	0.66

***[S] = Significant**

اكدت الدراسات ان بعض عزلات جراثيم المكورات المعوية المقاومة او الحساسة لمضاد الفانكومايسين كانت حاوية على المحفظة (Huebner *et al*., 1999; 2000). وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية التي لم تظهر فرق معنوي في حساسية او مقاومة العزلات الحاوية على المحفظة تجاه هذا المضاد. ومن خلال متابعتنا للادب العلمي لم تحدد الدراسات السابقة حساسية عزلات هذه الجراثم الحاوية على المحفظة للمضادات الجرثومية الاخرى . في حين اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان العزلات التي لاتحتوي على المحفظة كانت اكثر حساسية لمضاد البنسلين مقارنة مع العزلات الحاوية على المحفظة بفارق معنوي، وهذا ربما يدل على مساهمة المحفظة في فوعة تلك الجراثيم.

19.4.أنواع المكورات المعوية والحساسية للمضادات الجرثومية :

يبين الجدول (20.4) العلاقة بين أنواع المكورات المعوية المعزولة والحساسية للمضادات الجرثومية المستخدمة في الدراسة ، إذ أظهرت النتائج أن جميع عزلات *E. faecalis* كانت غير حساسة (مقاومة) للفانكومايسين مقارنة بأنواع العزلات الأخرى (صفر % مقابل35.7 %) وبفارق إحصائي معنوي (P= 0.002). إن عزلات *E. faecalis* كانت الأكثر حساسية للريفادين وحامض النالدكسك مقارنة بأنواع العزلات الأخرى وبفوارق إحصائية غير معنوية. بينما كانت عزلات *E. faecalis* الاوطى حساسية للسبروفلوكساسين والبنسلين والاموكساسلين + حامض الكلافيولنك والمثبريم الثلاثي ولكن بفوارق إحصائية غير معنوية.

الجدول (19.4): أنواع المكورات المعوية والحساسية للمضادات الجرثومية.

Antimicrobial	**Species of enterococci**		P (Fisher's exact)
	Other species (n=14)	*E. faecalis* (n= 30)	

	No.	%	No.	%	
Vancomycin	5	35.7	0	0	**0.002 [S]**
Ciprofloxacin	9	64.3	18	60	1
Rifampicin	5	35.7	11	36.7	1
Nalidixic acid	10	71.4	25	83.3	0.43
Penicillin	5	35.7	7	23.3	0.48
Amoxacillin + clavulanic	11	78.6	16	53.3	0.18
Trimethoprim	4	28.6	6	20	0.7

***[S] = Significant**

لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع دراسة حنا حنو (2002) التي وجدت ان (83%) من عزلات *E. faecalis* كانت حساسة لمضاد الريفادين مقارنة بـ(75%) من عزلات الانواع الاخرى،و (52.6%) من تلك العزلات كانت حساسة لمضاد الفانكومايسين . كما اختلفت النتائج الحالية مع دراسة Eigner وجماعته (2005) التي بينت ان (52%) من تلك العزلات كانت حساسة لهذا المضاد. و ربما يكون سبب هذا الاختلاف هو اكتساب صفة المقاومة لهذا المضاد اما عن طريق الطفرات الوراثية او العناصر الناقلة من العزلات المستوطنة في المستشفيات والتي غالبا ماتحمل صفة المقاومة للمضاد وبالتالي انتشارها بشكل متزايد وسريع (Austin *et al*., 1999; Murray,2000) .كما تفسر المقامة المتعددة لعزلات المكورات المعوية لكونها جزء من الجراثيم المتواجة طبيعيا في القناة المعوية لذا تكون بتماس مباشر مع العديد من لجراثيم المتواجدة في هذه المنطقة والتي من الممكن ان تحمل جينات مقاومة قابلة للانتقال الى المكورات المعوية بواسطة الاقتران ، وكذلك من الممكن ان تكتسب المقاومة من الجراثيم الموجبة لصبغة كرام المتواجدة خارج القناة الهضمية منها المكورات العنقودية (Moellering, 1998) .

بالرغم من حساسية عزلات *E. faecalis* تجاه مضادات الكوينولونات غير معنوية في الدراسة الحالية مقارنة مع حساسية عزلات انوع العزلات الاخرى. فقد جاءت هذه النتائج متفقة مع دراسة Udo وجماعته (2003) التي بينت ان عزلات *E. faecalis* كانت مقاومة بنسبة (40%) لمضاد السبروفلوكسين مقارنة بـ(34%) مقاومة لعزلات الانواع الاخرى .

من جانب اخر، اكدت الدراسات ان عزلات *E. faecium* تمتلك قابلية المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية اكثر من عزلات *E. faecalis* (Jawetz *et al*., 2004; Eaton &

(Gasson, 2001) . الاان نتائج الدراسة الحالية لم تتفق مع تلك الدراسات. وقد يعزى ذلك الى ان عزلات *E. faecalis* كانت جميعها مقاومة لمضاد الفانكومايسين بفعل مقاومة ذاتية ومكتسبة ، وتظهر عزلات VRE امتلاكها لقابلية على مقاومة مضادات حيوية اخرى منها الامينوكلايكوسيدات والبيتالاكتام والكلايكوسيدات والماكروليدات (Mundy *et al.*, 2000 Liassine *et al.*, 1998).وهذا ربما يفسر حساسية ومقاومة عزلات VRE من نوع *E. faecalis* للمضادات المستعملة بالرغم من عدم وجود فرق معنوي عند مقارنتها مع عزلات الانواع الاخرى في الدراسة الحالية.

الاستنتاجات

1. تسبب جراثيم المكورات المعوية مختلف الاخماج في الانسان، اذ عزلت بنسبة (12.8%) من نماذج مرضية مختلفة وكانت الاكثر تسببا باخماج القناة البولية.
2. اظهرت الدراسة ان النوع *E. faecalis* هو من اكثر الانواع شيوعا في جميع الاخماج المرضية الناتجة عن انواع هذا الجنس ثم يليه النوع *E. faecium* وبنسبة اقل النوعان *E. gallinarium* و *E. avium* .
3. عدم وجود فرق معنوي بين نسب الاصابة بالمكورات المعوية وبين جنس وعمر ونوعية المرضى المصابين (الوافدين والراقدين في المستشفى) .
4. بينت الدراسة امتلاك عزلات المكورات المعوية لعوامل ربما تساهم بزيادة ضراوتها ومنها انتاج انزيم الهيمولايسين ، والجلاتينيز ، والبيتالاكتاز ، والالتصاق بالخلايا الظهارية ، وتلزن كريات الدم الحمر ، وامتلاكها للمحفظة بالرغم من وجود تباين بين العزلات في انتاجها لتلك العوامل .
5. اظهرت عزلات المكورات المعوية قابليتها على تكوين الغشاء الحيوي خارج الجسم الحي وتاثيره المعنوي بزيادة مقاومتها لمضاد البنسلسن (P=0.002) .
6. ارتباط انتاج انزيم الجلاتينيز لعزلات المكورات المعوية بفارق معنوي مع مقاومة تلك العزلات لمضاد المثبريم الثلاثي (P=0.043). وكذلك وجود ارتباط معنوي بين انتاج انزيم البيتالاكتاز ومقاومة العزلات لمضاد البنسلسن (P=0.001). فضلا عن وجود علاقة معنوية قابلية العزلات على الالتصاق بالخلايا الطلائية وامتلاكها للمحفظة مع مقاومتها لمضاد البنسلين (P=0.045, P=0.047) على التوالي .
7. اظهرت جميع العزلات مقاومة مطلقة لكل من الكلوكاسلين، السيفوتوكسيم، الاموكساسلين، التتراساكلين و الارثرومايسين. وكانت افضل المضادات من حيث حساسية العزلات لها هي حامض النالدكسك والسبروفلوكسين وخليط الاموكساسلين مضافا اليه حامض الكلافيولانك . كما ان مقاومة جميع عزلات *E. faecalis* لمضاد الفانكومايسين اظهرت فارق معنوي (p=0.002) مقارنة مع مقاومة عزلات الانواع الاخرى .

التوصيات

1. عزل جراثيم المكورات المعوية من مصادر اخرى(بيئية، غذائية، حيوانية، ونباتية) واجراء دراسة مقارنة بما تمتلكه من عوامل فوعة مع العزلات المرضية.
2. دراسة مدى انتشارانواع المكورات المعوية داخل المستشفيات وذلك بعزلها من نماذج صالات العمليات والولادة،الردهات، العاملين في الحقل الصحي ، المطابخ وغيرها.
3. استخدام الوسط المحور في العمل الروتيني لمختبرات التشخيص الجرثومي لغرض التشخيص السريع لهذه الجراثيم وتميزها عن المكورات الموجبة لصبغة كرام .
4. التوصية بالاستعمال الامثل للمضادات الحيوية وبالاخص المضادات المرتبطة بظهور عزلات المكورات المعوية المتعددة المقاومة للمضادات.
5. استخدام تقنيات حديثة وسريعة مثل تقنية PCR لغرض تحليل بلازميدات DNA والتي تساعد في الكشف عن صفة المقاومة للمضادات الجرثومية والانماط المظهرية الخاصة بالمكورات المعوية المقاومة لمضاد الفانكومايسين ولمعرفة فيما اذ كانت تلك المقاومة ذاتية او مكتسبة.وكذلك دراسة جينية حول اليات الالتصاق الخاصة بجراثيم المكورات المعوية .

ثبت المصادر العربية :

ألحديثي ، هديل توفيق والسيمري، إحسان عيدان (1993). علم البكتريا العملي الطبعة الثانية. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة البصرة.

المعجم الطبي الموحد انكليزي –عربي– فرنسي .(1983) الطبعة الثالثة . مجلس وزراء العرب بالتعاون مع منظمة الصحة العالمية والمنظمة العلمية للثقافة والعلوم .

حنا حنو، جورجيت نيسان شمعون (2002). دراسة تشخيصية ومرضية للمكورات المعوية المعزولة من المصابين باخماج القناة البولية وقدرتها على إحداث التهاب شغاف القلب التجريبي. أطروحة دكتوراه، كلية العلوم. جامعة الموصل.

البلعبكي ، منير (2006).قاموس انكليزي –عربي.الطبعة الاربعون .دار العلم للملاين. بيروت.

References : ثبت المصادر الاجنبية

Austin, D.J.; Bonten, M.J.M.; Weinstein, R.A.; Slaughter, S. and Anderson,R.M. (1999). Vancomycin-resistant *Enterococci* in intensive- care hospital setting: transmission dynamics, persistence, and the impact of infection control programs. Proc. Nati. Acad. Sci. USA., 96(12): 6908-6913 .

Backer, F.J. and Silverton, R.E. (1985). Introduction of Medical Laboratory Technology. 6th ed. Butterworth and Co.(Publisher).

Balish, E. . and Warner, T (2002). *Enterococcus faecalis* induce inflammatory bowel disease in interleukin-lo knokout mice. American. J. Pathol., 160:2253-2257.

Baron, E.J. and Finegold, S.M. (1990). Baily and Scott's. Diagnostic Microbiology. 8th ed. Moby. Company. USA.

Baron, E.J.; Murray. P.R.; Pfaller, M.A.; Tenover, F.C. and Yolken, R.H. (1999). Manual Clinical Microbiology. 7th ed. American Society for Microbiology. USA.

Baron, E.J.; Peterson, l.R. and Finegold, S.M. (1994). Baily and Scott's. Diagnostic Microbiology. 9th ed. Company. USA.

Bonten, M.J.M.; Gaillard, C.A.; Tiel, F.; Gees, S. and Stobberngh, E (1995). Colonizationand infection with *Enterococcus faecalis* in intensive care units :the role of antimicrobial agents. Antimicrob. Agents. Chemother., 39(12) :2783-2796.

Bonten, M.J.M.; Willems, R. and Weinstein, R.A. (2001). Vancomycin-resistant *Enterococci*: why are they here, and where do they come from?. Lance. Infect. Dis., 1(5): 314-325.

Budzik, J.M and Schneewind, O. (2006). Pili pertinent to enterococcal endocarditis. J. Clin. Invest., 116: 2582-2584.

Campo, R.D.; Tenorio, C.; Jimenez-Diaz, R.; Rubio, C.; Gomenz-Lus, R.; Baqero, F. and Torres, C. (2001). Bacteriocin production in vancomycin-resistant and vancomycin-susceptible *Enterococusisolates* of different origins Antimicrob. Agents Chemother., 45(3):905-912.

Carniol, K. and Gilmore, M.C. (2004). Signal transduction, quorum- sensing and extracellular protease activity in *Enterococcus faecalis* formation. J. Bacteriol., 186(24):8161-8163.

Carvalho, M.G.; Shewmaker, D.L.; Steigerwalt, A.G.; Morey, R.E.; Samposon,A.J.; Joyce, K.; Barrett, T.J; Teixeria, L.M. and Facklam, R.R. (2006) Enterococcus caccae sp.nov., isolated from human stools. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.,56:150501508.

Casals, J.B. and Pringter, N. (1991).Antibacterial and Fungal Sensitivity Testing. 9th ed., Rosco Diagnostic. Denmark.pp:16-29.

Cetinkaya, Y.; Falk, P. and Mayhall, G. (2000). Vancomycin-resistant *Enterococci*. Clin. Microbiol. Rev., 13(4):686-707.

Chow, J.W.; Thal, L.A.; Perri, M.B. and Vazouez, J.A. (1993). Plasmid associated hemolysin and aggregation substance production contribute to virulence in experimental enterococcal endocarditis. Antimicrob. Agents. Chemother., 37(11):2474-2477.

Collee, J.G; Marmion, B.P.; Fraser, A.C. and Simmon, A. (1996). Mackie and MacCartney Practical Medical Microbiology. 14th Ed.., Chruchill Livingstone . New York.

Colline, C.H. and Lyne, P.M. (1979). Microbiological Methods. 14th ed., Butterworth and Co. (Pubilisher).

Coque, T.M.; Willems, R.L.; Fortun, J.; Diz, S.; Loza,E.; Caton, R and. Baquero, F. (2005). Population structure of *Enterococus faecium* causing bacterimia in a Spanish university hospital: setting the scene for future increase in vancomycin- resistance .Antimicrob. Agents Chemother., 49(7):2693-2700.

Costeron, J.W.; Stewart, P.S. and Greenbery, E.P. (1999). Bacterial biofilms: a common caused of persistent infection. Science,248:1318-1322.

Creti, R.; Imper, M.; Bertuccin, L.; Fabretti, F.; Orefici, G.; Rosa, R.D. and Baldassarri, L. (2004) Survey for virulence determinants among *Enterococus faecalis* isolated from different source. J. Med. Microbiol., 35:13-20

Cruickshank, R.; Duguid, J.D.; Maramar, B.R. and Swain, R.H.A. (1975). Medical Microbiology 12TH ed., Vol.II. Churchill Livingstone. London.

Desai, P.T.; Pandit, D.; Mathur, M. and Gogate, a. (2001). Prevalence,and disterbution of varous species of Enterococci isolated from clinical specimens with special reference to urinary tract infection in catheterzed patients .Indian.J.Med.Microbiol., 19;132-137

Donlan, R.M. (2001) Biofilms : a clinically relevant microbiological process. Clin. Infect. Dis., 33:1387-1392.

Dupre, I.; Zanetti, S.; Schito, A.M.; Fadda, G. and Sechi, L.A. (2003). Incidence of virulence determinants in clinical *Enterococu*s *faecium* and *Enterococcus* faecalis isolated collected in Sardinia (Italy). J Med.Microbiol., 52:491-498.

Dutka-Malen, S.; Evers, S. and Couvalin, D. (1995).Detection of glycopeptides resistance genotype and identification to the species level of clinical relevant *Enterococci* by PCR. J. Clin. Microbiol., 33(1):24-27.

Eaton, T.J. and Gasson, M.J. (2001).Molecular screening of *Enterococus* virulence determinants and potential for genetic exchange between food and medical isolates. Appl. Environ. Microbiol 67 (4):1628-1638.

Eigner, U.; Fahr, A.;Weizenegger, M. and Witte, W (2005). Evalution of anew system for simultaneous identification of *Enterococus* species and their glycopeptides ersistance genotypes. J. Clin. Microbiol., 43(6)2920-2922.

Fabretti, F.; Theilacker, C.; Baldassarri, L.; Lacznynski, Z.; Kropec, A.; Holst, O. and Huebner, J. (2006). Alanin esters of enterococcal lipoteichoic acid play a role in biofilms formation and resistance to antimicrobial peptides. Infect. Immunol., 74(7):4164-4171.

Facklam, R.R. (1972). Recognition of group D streptococcal species of human origin by biochemical and physiological tests. Appl. Microbiol., 23(6):1131-1139.

Facklam, R.R. and Collins, M.D. (1989). Identification of *Enterococci* species isolated from human infection by a conventional test scheme. J. Clin. Microbiol., 27(4): 731-734.

Facklam, R.R.; Bosley, G.S.; Rhoden, D.; Franklin, A.R.; Weaver, N. and Schulman, R. (1985). Comparative evaluation of the API20 and Automicrobic gram-positive identification systems for non-beta-haemolytic *Streptococci* and *Aerococci*. J. Clin. Microbiol., 21(4):535-541.

Facklam, R.R.;Teixeira, L.M. (1997) *Enterococus* . Microbiology and microbioal infections . Topiey and Wilson. 9th ed ., Edward Arnold, London, pp:669-682.

Freitas, M.C.; Pacheo-Silva, A.; Barbosa, D.; Silbert, S.; Sader, H.; Sesso, R. and Camargo, L.F.A. (2006). Prevalence of vancomycin- resistant Enterococcus fecal colonization among kidney transplant patients. Bio. Med. Infect. Dis., 6(133).

Gambarotto, K.; Ploy, M.C.; Turlure, D.; Greland, C.; Bordessoule, D.; Denis, F. (2000). Prevalence of vancomycin-resistant *Enterococci* in fecal Sample from hospitalized patients and non hospitalized controls in a cattle-rearing area of France. J. Clin. Microbiol.,38(2):620-624.

Giessel, B.E.; Konening, G.J. and Blake, R.L. (2000). Management of bacterial endocarditis. Ameri. Fam. Physician., 61(6):1725-1732.

Glantz, S.A. (1987). Primer of Biostatistics. 2nd. Ed. New York. McGraw-Hill, PP 287-330.

Grayson, M.L.; Grabsch, E.A.; Johnson, P.; Olden, D.; Abreline, M.; Hagg, G.; Abbott, M. and Kerr, P. (1999). Outcome of Li,H.; screening program for vancomycin-resistant *Enterococci* in hospital in Victoria. Med. J. Austral., 171:133-136.

Gulhan, T.; Aksakal, A.; Ekin, I.H.; Savasan, S. and Boynukara, B (2006). Virulence factors of *Enterococus faecium* and *faecalis* strains isolated from human and pets. *Enterococcus* Turk. J. Vet. Anim.Scin., 30:477-482.

Hancock, L.E. and Gilmore, M.S. (2000). Pathogencity of *Enterococci* in Finschetti, V.; Novick. R.; Ferrtti, J.; Portn, D. Rood, J. (Eds). Gram-positive pathogens. ASM. Publications, USA. PP: 1-20.

Hancock, L.E. and Gilmore, M.S. (2002). The capsular polysaccharide of *Enterococcus faecalis* and it's relationship to Polysaccharides Polysaccharides in cell well. Proc Nati. Acad. Science. Microbiol. USA., 99(3):1574-1579.

Hancock, L.E. and Perego, M. (2002). Tow-compound signal transduction in *Enterococcus faecalis*. J. Bacteriol., 184(21):5819-5825.

Hancock, L.E. and Perego, M. (2004). The *Enterococcus faecalis Fsr* tow compound system controls biofilm development through of production gelatinase. J. Bacteriol., 186(17):5629-5639.

Hancock, L.E. and Shepard, B.D and Gilmore, M.S. (2003). Molecular analysis *Enterococcus faecalis* of the serotyp2 polysaccharide determinant . J. Bacteriol., 185(15):4393-4401.

Hanson, K.L. and Cartwright, C.P. (1999). Comparison of simple and rapid methods fore identification *Enterococci* intrinsically resistant to vancomycin., J. Clin. Microbiol., 37(3):815-817.

Harbarth, S.; Cosgrove, S. and Carmeli. (2002). Effect of nosocominal epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococci.* Antimicrob. Agents. Chemother., 46(6):1610-1626.

Harrington, S.M.; Ross, T.L. and Merz, W.G. (2004). Vancomycin-resistance, *esp* and strain relatedness: a 1-year study of enterococcal bacteremia. J. Clin. Microbiol., 42(12):5895-5898.

Hirt, H.; Schlievert, V. and Dunny, G.M. (2002). In vivo induction of virulence and antibiotic resistant transfer in *Enterococcus faecalis* mediated by the sex pheromone-sensing system of PCF10. Infect. Immunol., 70(2):716-723.

Holt, J.G.; Kreig, N.R.; Sneth, P.H.; Staly, J.T. and Williams, S.T. (1994). Bergey's Manual Determinative Bacteriology. 9th ed. William and Wilkins. Baltmore. USA. PP28, 538-539.

Hsu, C.T.; Ganorng, A.L.; Reinap, B.; Mourelatos, Z.; Huebner, J. and Wag, J.W. (2006).Immunochemical characterization of *Enterococci* polysaccharide antigens from six clinical strains of Medic. Central. Microbiol., 6(62)

Huebner, J.; Quaas, A.; Krueger, W.A.; Goldmann, D.A.and Pier, G.B. (2000). Prophylactic and therapeutic efficacy of antibodies to a capsular polysaccharide shared among vancomycin-sensitive and resistant *Enterococci.* Infec. Immun., 68(8):4631-4636.

Huebner, J.; Wang,Y.; Krueger, W.A.; Madaff, L.C.; Martirosian, G.; Boisot, K.; Goldmann, D.A.; Kasper, D.L; Tzianabes, A.O. and (1999).Isolation and chemical characterization of a Pier, G.B polysaccharide antigen shanked by clinical isolated capsular *Enterococcus faecalis* and vancomycin-resistant *Enterococus faecium*. Infec. Immun., 67(3):1213-1219.

Huycke, M.M.; Sahm, D.F. and Gilmore, M.S. (1998). Multiple-drug resistant *Enterococci;* the nature of the problem and agenda for the future. Emerg. Infect. Dis., 4(2):239-249

Huycke, M.M.; Spiegel, C. and Gilmore, M.S. (1991).Bacteremia caused by hemolytic, high-level gentamycin-resistant *Enterococcu*s *faecalis* Antimicrob. Agents. Chemother., 35(8):1626-1634.

Iaria, C.; Stassi, Costa, G.B.; Leo, R.D.; Toscano, A. and Cascio, A. (2005). Enterococcal menigitis caused *Enterococcus casseliflavus* .first case erport., Bio .Med. Central. Infect. Dis., 5 (3) .

Identification and distribution of various species of *Enterococci* isolated from clinical specimens with special tract infection in catheterized. patients. Indian. J. Med. Microbiol., 19:132-137.

Identification and distribution of various species of *Enterococci* isolated from clinical specimens with special tract infection in catheterized. patients. Indian. J. Med. Microbiol., 19:132-137.

Ike, Y.; Hashimoto, H. and Clewell, D.E. (1984).Hemolysin of *Streptococcus faecalis* subspecies zymogenes contributes to virulence in mice. Infect. Immun., 42(2):528-530.

Ike, Y.; Hashimoto, H. and Clewell, D.E. (1987).High incidence of hemolysin production by *Enterococci* (*Streptococcus*) *faecalis* stains associated with human parental infection. J. Clin. Miocrobiol., 25(8):1524-1528.

Inoue, T.; Tomita, H. and Ike, Y. (2006).Bac23, a noval bacteriocin widely disseminated among clinical isolated of *Enterococus faecium.* Antimicrob. Agents. Chemother., 50(40:1202-1212.

Inversen, A.; Kuhn, I.; Fraklin, A. and Mollby, A. (2001).High prevalence of vancomycin-resistant *Enterococci* in Swedish swage. Apple. Environ. Microbiol., 68(6):2838-2842.

Iwahi, T.; ABE, y.; Nakao, M.; Imada, A. and Tsuehiya, K. (1983).Role of type1 fimbriae in the pathogenesis of ascending urinary tract induced by Escherichia coli in mice. J. Infect. Immun., 39:1307- 1315.

Jawetz, Z.E.; Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. (2004). Medical Microbiology. 23th. ed. MacGeaw-Hitt. Company. International. (Int).

Jett, B.D.; Jensen, H.G.; Nardquist, R.E. and Gilmore, M.S. (1992). Contribution of the PAD1-encoded cytolysin to the severity of experimental *Enterococcus faecalis* endophthalmitis. Infect. Immun., 60(6):2445-2452.

Jett, B.D.; Huycke, M.M and Gilmore, M.S. (1994).Virulence of *Enterococci*. Clin. Microbiol., 7(4):462-478.

Jett, B.D.; Atkuri, R.V. and Gilmore, M.S. (1998). *Enterococcus faecalis* localization in experimental endophthalmitis: role of plasmid-encoded aggregation substance. Infect. Immun., 66(2):843-548.

Johnston, L.M. and Jaykus, L. (2004) . Antimicrobial resistance of *Enterococci* species isolated from produce. Appl. Environ. Microbiol., 70(50):3133-3137.

Kalocheretis, D; Baimakou, E.; Zerbala, S.; Papaparaskevas, J.; Makriniotou, I.; Tassion, P.T.; Iatrou, C.; Kouskouni, E. and Zerva, L. (2004). Dissemination of Vancomycin-resistant *Enterococci* among haemodialysis patients in Athens, Greece. J. Agents. Chemother., 54(6):1031-1034

Kau, A.L.; Martin, S.M.; Lyon, W.; Hayes, E.; Caparin, M.G. and Hultgren, S.J. (2005). *Enterococcu faecalis* tropism for the in the urinary tract of C57BL/6J mice. Infect. Immun., kidneys 73(4):2461-2468.

Kayaoglu, G. and Orstavik, D. (2004). Virulence factors of *Enterococcus faecalis*: relationship to endodonotic disease. Rev. Oral. Biol. Oral. Biol. Med., 15(5):308-320.

Konemon, E.W.; Allen, S.D.; Janda, W.M.;Scheckenber, P.C. and Winn, J.W. (1992).Color plate and text book of diagnostic microbiology. 4th ed. J.B. Lippincott company. Washingtion pp:429

Kreft, J.U.; Picioreanu, C.; Wimpenny, J. W. and Vanlooserech, M.C. (2001).Individual-based modeling of biofilms. Microbiol., 47(11)2897-2912.

Kristich, C.J.; Li, Y.H.; Cvitkovitch, D.C. and Dunny, G. (2004).ESP-independent biofilm formation by *Enterococcus.* J. Bacteriol., 18(1):154-163.

Kuhn, I.; Iversen, A.; Finn, M.; Greko, C.; Burman, L.; Blanch, A.R.; Vilanova, X.; Manero, A.; Taylor, H.; Caplin, J.; Domingnez, L.; Hreeere, I.; Moreno, M.A. and Mollby, R. (2005). Occurrence and relatedness of vancomycin-resistant *Enterococi* in animal, humans,and the environment in differet European regions .Appl. Environ. Microbiol., 71(9):5383-5390.

Kuriyama, T.; Williams, D.W; Patel, M.; Lewis, M.A.; Jenkins, L.E.; Hill, D. and Hosein, I.L. (2003).Molecular characterization of Clinical and environmental isolates of vancomycin-resistant *Enterococus faecium* and *Enterococcus faecalis* from teaching hospital in Wales. J. Clin. Miocrobiol., 52:821-827.

Leavis, H.; Top, J.; Shankar, N.; Borgen, K.; Bonten, M.J; Embden, J.V. and Willems, R.J.L. (2004).A novel putative enterococcal pathogenicity island linked to *esp* virulence gene of *Enterococus faecium* and associated with epidemicity. J. Bacteriol.,186(3):672-682).

Leavis, H.; Willems, R.J.L. and Bonten, M.J. (2006).High-level ciprofloxacin resistance from point mutation in *gyrA* and *parC* confined to global hospital clonal lineage CC17 of *Enterococcus.*, Miocrobiol., 44(3):1059-1064.

Lepage, E.; Brinster, S.; Caron, C.; Ducroix-Crepy, C.; Rigottier-Gois, L.;Dunny, G.; Henneqet-Antier, C. and Serror, P. (2006). Comparative genomic hybridizations analysis of *Enterococcus faecalis*: identification of gene absent from food stains.188(9):6858-6868.

Lester, C.H.;Frimodt-Moller' N.; Sorensen, T.L.; Monnet, D.L. and Hammerum, A.M. (2006).IN vivo transfer of *vanA* resistance gene from an *Enterococus faecium* isolated of animal origin to an *Enterococus faecium* isolated of human origin in intestines of human volunteers. Antimicrob. Agents. Chemother., 50(2):596-599.

Li, X; Yan, Z . and Xu, J. (2003). Quantitative variation of biofilm among strain in natural populations of Candida albicans. Microbiol., 149:353-362.

Liassine, N.; Frei, R.; Jan, I. and Auckenthaler, R. (1998). of glycopeptide-resistance *Enterococci* from a Swiss hospital. J. Clin. Miocrobiol., 36(7):1853-1858. .

Macovei, L. and Zurek, L. (2006).Ecology and antibiotic resistance genes: Characterization of *Enterococci* from houseflies collected in food settings. Appl. Environ. Microbiol., 72(6):4028-4035.

Mah, M.W. and O'Toole, G.A. (2001).Mechanisms of biofilms resistance to antimicrobial agents. Treds. Microbiol., (91):34-39.

Mainardi, J.; Fourgaud, M.; Hugonnet, J.; Dubost, L.; Brouard, J.; Ouazzani, J.; Rice, L.B.; Gutmann, L. and Arthur. M. (2005).Anovel peptidoglycan cross-linking enzyme for βeta-Lactam-resistant transpeptidation pathway. J. Biol. Chem., 280(48):38146-38152.

Manero, A. and Blanch, A. (1999).Identification of *Enterococci* spp with a biochemical key. Appl. Envrion. Microbiol., 65(10):4425-4430.

Merode, A.E.; Mei, H.C.; Busscher, H.J and KromB.P. (2006).Influence of culture heterogeneity in cell surface chare on adhesion and biofilms formation by *Enterococcus faecalis.* J. Bacteriol.,188:2421-2426.

Moellering, J. (1998). Enterococcal resistance. Infect. Dis., 3:1-5.

Mohamed, J.A.; and Murray, B.E. (2005).Lack correlation of gelatinase production and biofilm formation in large collection of *Enterococcus faecalis*.J. Clin. Miocrobiol., 43(10)5405-5407.

Mundy, L.M.; Sahm, D.F. and Gilmore, M.S. (2000).Relationship between enterococcal virulence and antimicrobial resistance. J. Clin. Miocrobiol., 13(4):513-522.

Murray, B.E. (1990).The life and time of *Enterococci*. Clin. Miocrobiol. Rev., 3(1):46-65.

Murray, B.E. (2000).Vancomycin-resistant *Enterococci*. New. Eng. J. Med., 341(10):710-720.

Nallapareddy, S.R..; Qin, X.; Weinstock, G.M.; Hook, M., Murray B.E. (2000). Enterococcus faecalis adhesin, ace, mediates attachment to extracellular matrix proteins collagen type IV and laminin as well as collagen type I. Infect. Immun. 68:5218–5224.

Nallapareddy, S.R.; Singh, K.V.; Sillanpaa, J; Garsin, D.A.; Hook, M.; Erlandsen, S.L. and Murray, B.E. (2006).Endocarditis and biofilms-associated pilli of *Enterococcus faecalis*. J. Clin. Invest., 166:2799-2807.

Naser, S.M.; Thompson, F.L.; Hoste, B.; Gevers, D.; Dawyndt, P.; Vancanneyt, M. and Swings, J. (2005).Application of sequence analysis (MlSA) for rapid identification of multilocus *Enterococcus* species based on *rpoA* and *pheS* genes. Microbiol., 151:2141-2150.

Nass, T.; Fortineau, N.; Snanoudj, R.; Spica, C.; Durrbach, A. and Service, P.N. (2005).First nosocominal outbreak of vancomycin-expressing a VanD-Like *Enterococus faecium* resistant phenotype associated with VanA genotype. J. Clin. Miocrobiol., 43(8):3642-3649.

National Committee For Clinical Laboratory Stander (NCCIS) (2002). Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests. 12th . Inf. Suppl. M100-s12. pp:50-76.

Nilsen, T.; Nes, I.F. and Holo, H. (1998).An exported inducer peptide regulates bacteriocin production in *Enterococus faecium*.CTC422. J Bacteriol., 180(7):1848-1854.

Novais, C.; Sousa, J.C.; Coque, T.M.; Peixe, L.V. and The Portuguese resistance study group. (2005).Molecular Characterization of glycopeptides-resistant *Enterococus faecium* isolated from Portuguese hospitals. Antimicrob. Agents. Chemother.,49(7):3073-3079.

Nowalan, S.S. and Deibel, R.H. (1967).Group Q Streptococci, ecology, serology, physiology, and relationship to establish *Enterococci*. J. Bacteriol., 94(4):L291-296).

O'Toole, G.; Kaplan, H.B. and Kolter, B. (2000).Biofilms formation as microbial deve. Annu. Rev. Microbiol., 54:49-79.

Oh, W.S.; Ko, K.S.; Song, J.; Lee, M.Y.; Park, S.; Peck, K.R.; Lee, N.Y.; Kim, C,; Lee, H.; Kim, S.; Chang, H.; Kim,Y.; Jung, S.; Son, J.S.; Yeom, J.; Ki, H.K. and Woo, G.G. (2005).High rate of resistance to quinupristin-dalfopristin in *Enterococus faecium* clinical isolated from Korea. Antimicrob. Agents. Chemother., 49(12):5176-5178.

Ostrowsky, B.E.; Trick, W.E.; Shon, A.H.; Quirk, S.B.; Holt, S.; Carson, L.A.; Hill, B.C.; Arduino, M.J.; Kuehnert, M.J and Jarvis, W.R. (2001).Control of vancomycin-resistant *Enterococcus* in health care of facilities in a region. New. Engl. Med., 344(19):1427- 1433.

Pompel, R.L.; Lampis, G.; Berlutti, F. and Thatter, M .(1991). Characterization of yellow-pigmented *Enterococci* from several human infections. J. Clin. Microbiol., 29(12):2884-2886.

Prakash, V.P.; Roa, S.R.; and Parija, S.C. (2005).Emergence of unusual species of *Enterococci* causing infection, south India. Biol. Med. Centerl. Infect. Dis., 5(4).

Raad, I.I; Hanna, H.A.; Boktour, M.; Chaiban, G; Hachem, R.Y.; Dovrak, T.; Lewis, R..and Murray, B.E. (2005). Vancomycin- resistant *Enterococu faecium*: Cather colonization, *esp* gene, and decreased susceptibility to antibiotics in biofilms. Antimicrob. Agents. Chemother., 44(12):5040-5050.

Ralovich, B. (1984). Listeriosis research: Present Situation and Presepective akademiai, Klado. Budopest.

Ramadhan, A.A. and Hegedus, H. (2005).Biofilm formation and *esp* carriage in *Enterococci*. J. Clin. Patho., 58:685-686.

Rice, L.B. (2001).Emergence of vancomycin-resistant *Enterococci*. Emerg. Infect. Dis., 7(2):183-187.

Rice, L.B; Hutton-Thomas, R.; Lakticcova, V.; Helfand, M.S. and Donskey, C. (2004).β-Lactam antibiotics and gastrointestinal colonization with vancomycin-resistant *Enterococci*. J. Infect. Dis., 189:1113-1118.

Ruoff, K.; Maza, L.; Murtach, M.J.; Spargo, J.D. and Ferraro, M. (1990).Species identities of *Enterococci* isolated from clinical pecimens. J. Clin. Miocrobiol., 28(3):435-437.

Sandoe, J. A.; Witherden, I.R. and Settle, C. (2001).Vertebral osteomyelitis caused by *Enterococu raffinosus.* J. Clin. Miocrobiol., 39(4):1678-1679.

Sandoe, J. A.; Witherden, I.R.; Cove, J.H.; Heritage, J. and Wilcox, M.H. (2003).Correlation between enterococcal biofilms formation in vitro and medical-device related- infection *in vivo*. J. Med. Miocrobiol., 2:547-550. potential

Scheifer, K.H. (1986).Gram positive cocci in Sneath, P.H.A.; Mair, N.S.; Sharpe, M.E. and Holt, J.G. Bergey's Manual Determinative Bacteriology, Vol 2. 19th ed. William and Wilkins. Baltimore. USA

Semedo, T.; Santos, M.A.; Martins, P.; Lopes, M.F.; Marques, J.J.F.; Tenerio, R. and Crespo, M.T.B. (2003).Comparative study using type stains and clinical and food to examine heamolysin activity and occurrence of the *cyl* operon in *Enterococci.* J. Clin. Microbiol., 41(6):2569-2576.

Shankar, V. Baghdayan, A.S.; Huycke, M.M.; Lindahl, G. and Gilmore, M. S. (1999).Infection-derived *Enterococcus faecalis* are enriched is *esp*, agene encoded anoval protein. Infect. Immun., 67(1):193-200.

Shankar, N.; Lockatell, C.V.; Baghdayan, A.S.; Drachenberg, C.; Gilmore, M.S. and Jaohnson, D.E. (2001).Role of *Enterococcus faecalis* protein ESP in the pathogenesis of ascending urinary surface tract infection. Infect. Immunol., 69(7):4366-4372.

Shepard, B.D. and Gilmore, S.M. (2002).Differential expression of virulence related genes in *Enterococcus faecalis* in response to biological cues in serum and urine. Infect. Immunol., 70(8):4344- 4352.

Singht-Nas, N.; Sleemi, P.; Pikis, A.; Patel, K.M. and Campos, J.M. (1999). Vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* coclnization in children. J. Clin. Microbiol., 37(2):413-426.

Sterberg, C.; Christensen, B.B and Jahansen, T. (1999).Distribution of bacterial growth activity in flow-chamber biofilm. Appl. Enviro. Microbiol., 65:4108-4117.

Svec, p.; Vancanney, M.; Koor, J .; Naser, S.M.; Hoste, B.; Vihavainen, E.; Vandamme, P.; Swings, J. and Bjorkroth, J. (2005a). *Enterococcus* deviesi sp.nov., associated with animal source. Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 56:

Svec, p.; Vancanney, M.; Devriese, L.A.; Naser, S.M.; Snauwaer, C.; Lefebvre, K.; Hoste, B. and Swings, J .(2005b). *Enterococcus aquimarinum*.sp.nov., isolated from sea water. Int. J. Syst. Evol. Microbiol, 55:2183-2187.

Svec, p.; Vancanney, M.; Sedlacek, I.; Naser, S.M.; Snauwaer, C.; Lefebvre, K.; Hoste, B. and Swings, J. (2006). *Enterococcus silesiacus* sp.nov. and *Enterococcus termitis* sp.nov. J. Syst. Evol Microbio., 56:577-581.

Theilacker, C.; Kaczynski, Z.; Kropec, A.; Fabretti, F.; Sange, T.; Holst, O. and Huebner, J.(2006).Opsonic antibodies to *Enterococcus faecalis* strain 12030 are direction against lipoteichoic acid. Infect. Immunol., 74(10):5703-5712.

Toeldo-Arana, A.; Valle, J.; Salano, G.; Arrizubieta, M.J.; Cucarella, C.; Lamato, M.; Amorena, B.; Leiva, J.; Penades, J.R. and Lasa, I. (2001).The enterococcal surface protein, ESP is involved in *Enterococcus faecalis* biofilms formation. Appl. Environ. Microbiol., 67(10):3538-4545.

Toye, B.; Shymank, J.Bobrowska, M.; Wood, W. and Ramotar, K. (1997).Clinical and epidemiologic significance of *Enterococci* intrinisically resistant to vancomycin possessing the *VanC* genotype. J. Clin. Miocrobiol., 35(12):3166-3170.

Treagan, L. and Pulliam, L. (1982). Medical Microbiology Procedures. W.B. Sanders company, London

Trttz, Z.D.M.; Iwen, P.C. and Woods, G. (1990).Evolution of microscan for identification of *Enterococci* species. J. Clin. Miocrobiol., 28(6):1477-1474.

Tyrrell, G.J.; Turnbull, L,; Teixira, L.M.; Lefebvre, J; Carvalho, M.G.S.; Facklam, R.R. and Lovgren, M.(2002). *Enterococcus gilvus sp .nov*.and *Enterococcus pallens sp.nov*. Isolated from human clinical. Clin Miocrobiol., 40(4):1140-1154.

Udo, E.E.; Al-Sweih, N.; Philips, O.A. and Chugh, T.D. (2003).Species revalence and antibacterial resistant of *Enterococci* isolated in Kuwait hospitals. J. Med. Miocrobiol., 52:163-168.

Vandepitte,J.; Engback, K.; Piot, P. and Hench, C.C. (1991). Basic laboratory Producedures in Clinical Bacteriology .WOH, Geneva, Switzerland.

Waar, K.; Mei, H.C.; Harmsen, H.J.M.; Degener, J.E. and Busscher, H. (2002). Adhesion to bile drain materials and physicochemical surface properties of *Enterococcus faecalis* stains grown in the present of bile. Appl. Environ. Microbiol., 68(8):3855-3858..

Waters, C.M.; Wells, C.L. and Duny, G.M. (2003).The aggregation domain of aggregation substance, not the RGD motifs, is critical for efficient internalization by HT-29 enterocyes. Infect. Immunol., 71(10):5682-5.

Watnic, P. and Kolter, R. (2000).Biofilms city of microbes. J. Bacteriol., 182:2675-2677.

Wells, C,L,; Moore, E.A.; Hoag, J.A.Hirt, H.; Dunny, G.M.; and Erlandsen, S.L. (2000).Inducible expression of *Enterococcus faecalis* aggregation substrance protein facilitates bacterial internalization by enterocytes. Infect. Immunol., 68(12):7190-7194.

Xu, Y.; Singh, K.V.; Qin, X.; Murray, B.E. and Weinstock, G.M. (2000).Analysis of gene cluster of *Enterococcus faecalis* involved in polysaccharide biosynthesis. Infect. Immunol., 68(2):815-823.

Zeng, J.; Teng, F, and Murray, B.E. (2005).Gelatinase is important for translocation of *Enterococcus faecalis* polarized human enterocyte like-T84 cells. Infect. Immunol., 73(3):1606-1612.

Zervos, M.J. and Lewis, C.M. (1990).Clinical manifestation of *Enterococci* infection. Euro. J. Clin. Infect. Dis., 9(2):111-117.

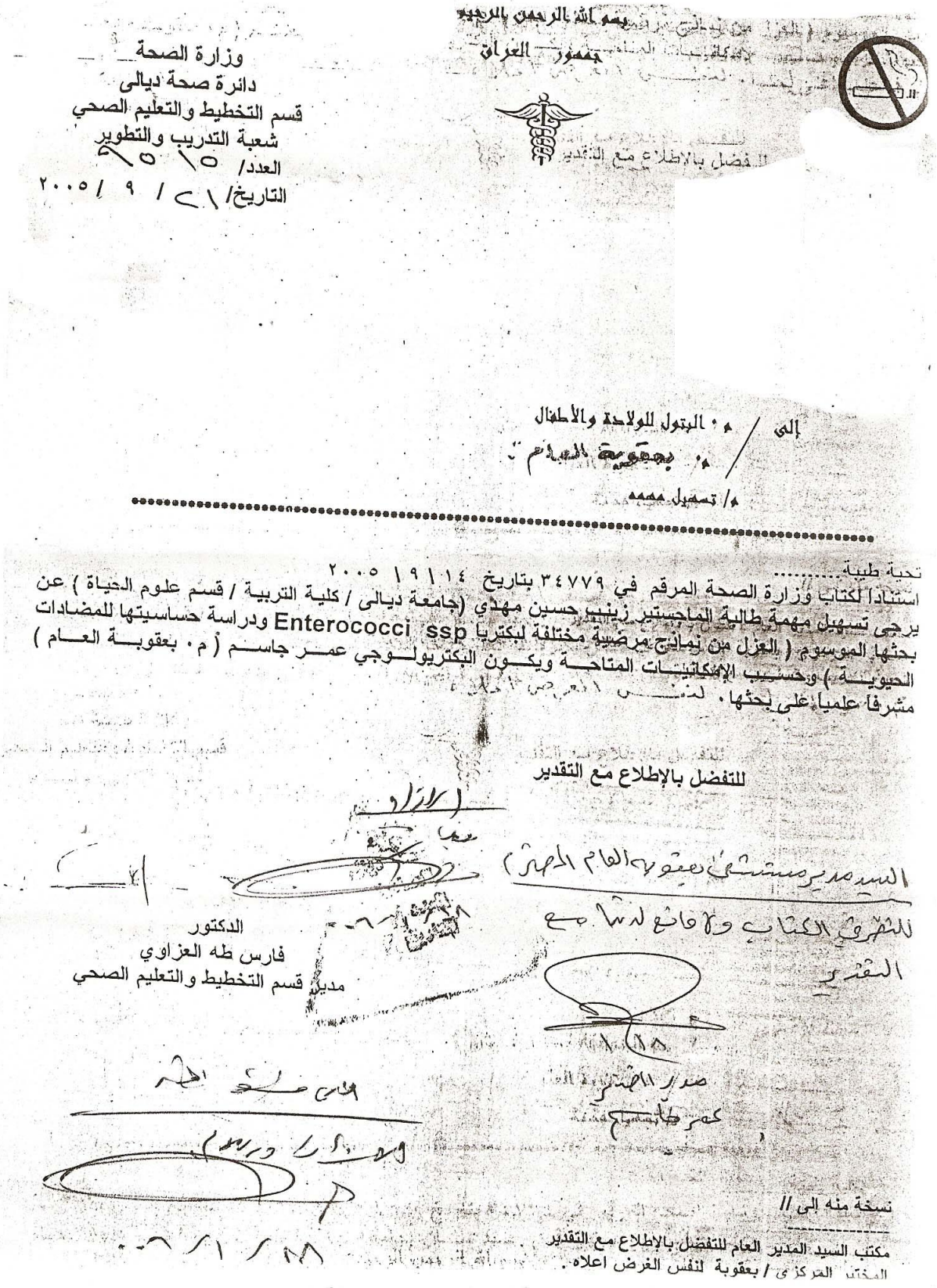
Zhanel, G.G.; Hoban, D.J. and Karlowsky, J.A. (2001).Nitrofurantion is active against vancomycin-resistant *Enterococci.* Antimicrob. Agents. Chemother., 45(1):324-426.

ملحق رقم (1)

استمارة البيانات للمرضى الداخلين في الدراسة

1- تسلسل الاستمارة
2- الجنس :
3- العمر
4- السكن
5- نوع الماء للاستخدام البشري
6- نوع المريض (راقد ، خارجي)
7- نوع العينة المأخوذة

ملحق رقم (2)



بسم الله الرحمن الرحيم

جمهورية العراق

وزارة الصحة
دائرة صحة ديالى
قسم التخطيط والتعليم الصحي
شعبة التدريب والتطوير
العدد/ ٢٥١٥
التاريخ/ ١٨ / ٩ / ٢٠٠٥

إلى / م. البتول للولادة والأطفال
م. بعقوبة العام

م/ تسهيل مهمة

....

تحية طيبة..........
استناداً لكتاب وزارة الصحة المرقم في ٣٤٧٧٩ بتاريخ ١٤/٩/٢٠٠٥ يرجى تسهيل مهمة طالبة الماجستير زينب حسين مهدي (جامعة ديالى / كلية التربية / قسم علوم الحياة) عن بحثها الموسوم (العزل من نماذج مرضية مختلفة لبكتريا Enterococci ssp ودراسة حساسيتها للمضادات الحيوية) وحسب الإمكانيات المتاحة ويكون البكتريولوجي عمر جاسم (م. بعقوبة العام) مشرفاً علمياً على بحثها.

للتفضل بالإطلاع مع التقدير

الدكتور
فارس طه العزاوي
مدير قسم التخطيط والتعليم الصحي

نسخة منه الى //
مكتب السيد المدير العام للتفضل بالإطلاع مع التقدير
المختبر المركزي / بعقوبة لنفس الغرض اعلاه.

ملحق رقم (3)

بسم الله الرحمن الرحيم

جمهورية العراق **وزارة الصحة**

دائرة صحة ديالى

مختبر الصحة العامة - بعقوبة

العدد // ٦٩٥

التاريخ : ٢٢ / ١١ / ٢٠٠٧

دائرة صحة ديالى
العدد
التاريخ / /

إلى /جامعة ديالى – كلية التربية

الموضوع / تأييد

أستناد'' الى كتاب وزارة الصحة المرقم ٣٤٧٧٩ في ٢٠٠٥/٩/١٤.
وأستنادا'' الى موافقة دائرة صحة ديالى /قسم التخطيط / شعبة التدريب والتطوير المرقمة ٩٥١٥ في ٢٠٠٥/٩/٢١.

نؤيد لكم بأن طالبة الماجستير ((زينب حسين مهدي)) قد عملت في مختبرنا لغرض جمع النماذج المرضية لبحثها الموسوم((دراسة عوامل الفوعة والحساسية الدوائية في المكورات المعوية المعزولة من المرضى)) وللفترة من ٢٠٠٥/٩/١ ولغـــــــاية ٢٠٠٦/١٠/٣٠ وبناءا'' على طلبها زودت بهذا التـأييد . مع التقدير ...

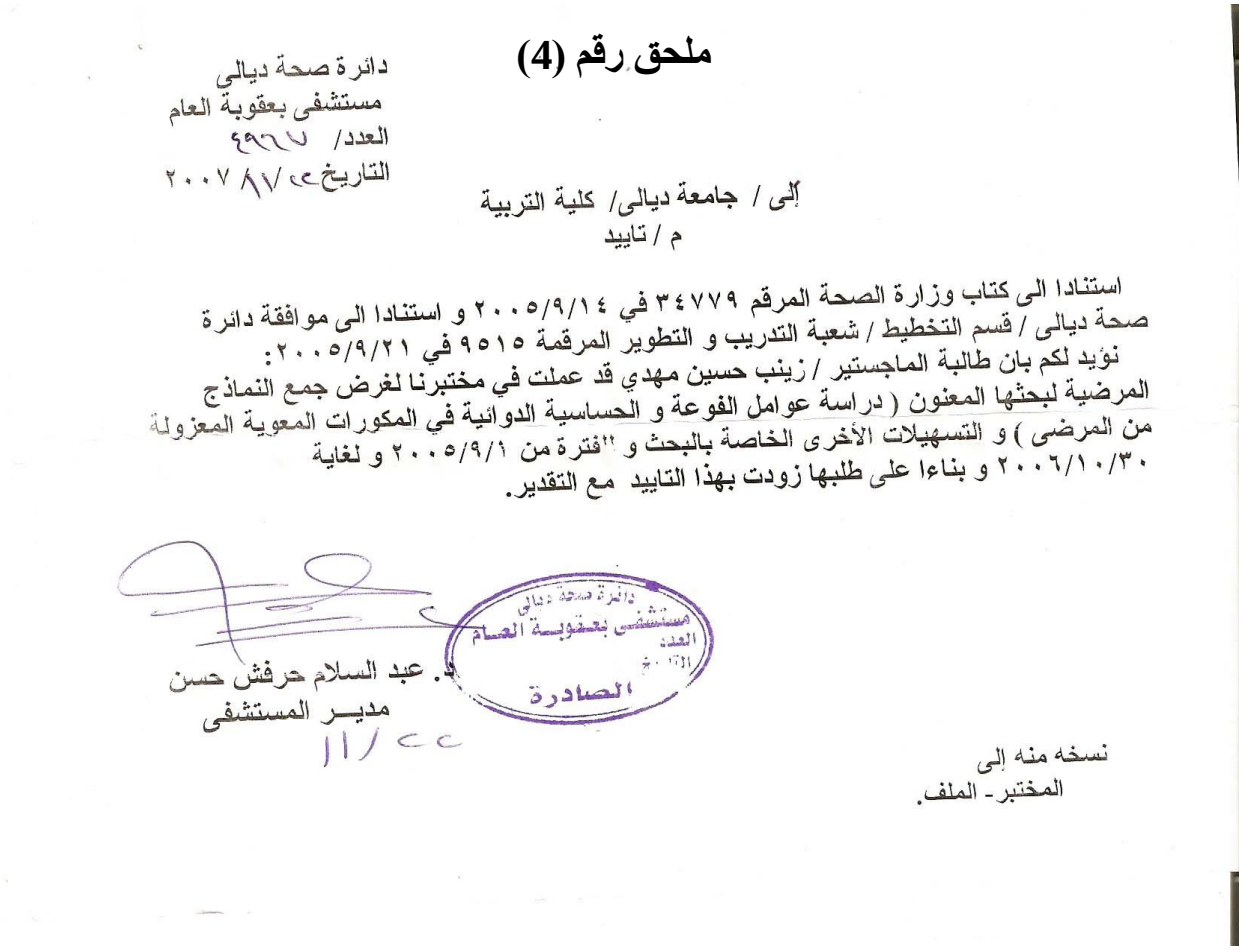
فراس عطا جبار

مدير مختبر الصحة العامة - بعقوبة

٢٢ / ١١ / ٢٠٠٧

نسخة منه //
دائرة صحة ديالى / قسم التخطيط موافقتكم اعلاه مع التقدير ...

ملحق رقم (4)



دائرة صحة ديالى
مستشفى بعقوبة العام
العدد/ ٤٩٦٧
التاريخ ١٧/ ١١/ ٢٠٠٧

إلى / جامعة ديالى/ كلية التربية
م / تاييد

استنادا الى كتاب وزارة الصحة المرقم ٣٤٧٧٩ في ٢٠٠٥/٩/١٤ و استنادا الى موافقة دائرة صحة ديالى / قسم التخطيط / شعبة التدريب و التطوير المرقمة ٩٥١٥ في ٢٠٠٥/٩/٢١:
نؤيد لكم بان طالبة الماجستير / زينب حسين مهدي قد عملت في مختبرنا لغرض جمع النماذج المرضية لبحثها المعنون (دراسة عوامل الفوعة و الحساسية الدوائية في المكورات المعوية المعزولة من المرضى) و التسهيلات الأخرى الخاصة بالبحث و "افترة من ٢٠٠٥/٩/١ و لغاية ٢٠٠٦/١٠/٣٠ و بناءا على طلبها زودت بهذا التاييد مع التقدير.

دائرة صحة ديالى
مستشفى بعقوبة العام
العدد
الصادرة

د. عبد السلام حرفش حسن
مديـــر المستشفى
١١/ ١١

نسخه منه إلى
المختبر - الملف.

ملحق رقم (6)

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W
1	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
2	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	2
3	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
4	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
5	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
6	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
7	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
8	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
9	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
10	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
11	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
12	1	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	1	2
13	1	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	1

14	1	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	2	2
15	1	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	2
16	1	3	+	+	+	+	d	-	+	+	+	d	-	+	-	+	+	+	+	-	3	2
17	1	3	+	+	+	+	d	-	+	+	+	d	-	+	-	+	+	+	+	-	3	1
18	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	2
19	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	2
20	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
21	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
22	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
23	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	2
24	2	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	1
25	2	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	2
26	2	3	+	+	+	+	d	-	+	+	+	d	-	+	-	+	+	+	+	-	3	2
27	2	4	+	+	d	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	1	1
28	3	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	2
29	3	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
30	4	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
31	4	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
32	4	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	2	2
33	5	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
34	5	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
35	5	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
36	5	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	1
37	6	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
38	6	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
39	6	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	1
40	7	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	2
41	7	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	1	1
42	8	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
43	9	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
44	10	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1

ملحق رقم (6)

A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W
1	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
2	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	2
3	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
4	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
5	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
6	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
7	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
8	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
9	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
10	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
11	1	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
12	1	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	1	2
13	1	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	1
14	1	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	2	2
15	1	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	2
16	1	3	+	+	+	+	d	-	+	+	+	d	-	+	-	+	+	+	+	-	3	2
17	1	3	+	+	+	+	d	-	+	+	+	d	-	+	-	+	+	+	+	-	3	1
18	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	2
19	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	2
20	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
21	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
22	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
23	2	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	2
24	2	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	1
25	2	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	2
26	2	3	+	+	+	+	d	-	+	+	+	d	-	+	-	+	+	+	+	-	3	2
27	2	4	+	+	d	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	1	1
28	3	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	2
29	3	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
30	4	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
31	4	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
32	4	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	2	2
33	5	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
34	5	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
35	5	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
36	5	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	1
37	6	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
38	6	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1
39	6	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	3	1
40	7	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	2
41	7	2	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	1	1
42	8	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	1	1
43	9	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	2	1
44	10	1	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	3	1

مفتاح ملحق رقم (6)

A = عدد عزلات المكورات المعوية

B = العينات المرضية وشملت (1=الادرار ،2= الخروج، 3=زرع الدم ، 4=مسحات اللوزتين ،5= المسحات المهبلية ، 6= مسحات الحروق، 7= مسحات من تقيحات الاذن الوسطى ، 8= مسحات الجروح، 9=مسحات من القشع ،10= عينات من سائل النخاع الشوكي .

C =انواع المكورات المعوية المعزولة وشملت (1=*E. faecalis*، 2=*E. faecium* ، 3=*E. gallinarium* ، 4= *E.* avium.

D = النمو في (6.5%) من NaCl. (+) موجبة ، (-) سالبة.

E = النمو في وسط ذو (9.6) Ph . (+) موجبة ، (-) سالبة.

F= النمو في درجة حرارة 10 مئوية. (+) موجبة ، (-) سالبة.

G = النمو في درجة حرارة 45 مئوية. (+) موجبة ، (-) سالبة.

H =النمو في (0.004%) تليوريت البوتاسيوم. (+) موجبة ، (-) سالبة.

I = انتاج الصبغات الصفراء. (+) موجبة ، (-) سالبة.

J = الحركة . (+) موجبة ، (-) سالبة.

K =التفاعل مع المصل المضاد D . (+) موجبة ، (-) سالبة.

L = تخمرسكريات (سكروز، لاكتوز، منيتول، كلكوز) (+) موجبة ، (-) سالبة..

M =تخمر سكر السوربتول. (+) موجبة ، (-) سالبة.

N = تخمر سكرسوربوز (+) موجبة ، (-) سالبة.

O = تخمر سكررافينوز (+) موجبة ، (-) سالبة.

P = تخمر سكرادونيتول (+) موجبة ، (-) سالبة.

Q = تخمر سكرارابينوز (+) موجبة ، (-) سالبة.

R = تخمر سكر زايلوز (+) موجبة ، (-) سالبة.

S= تخمر الكليسرول (+) موجبة ، (-) سالبة.

T= تحلل الاسكولين. (+) موجبة ، (-) سالبة.

U = انتاج الكتاليز. (+) موجبة ، (-) سالبة

V = تحلل الجلاتين (+) موجبة ، (-) سالبة

W = تحلل الدم. وشمل (1= محللة للدم من نوع بيتا، = 2محللة للدم من نوع الفا، 3= محللة للدم من نوع كاما)

ملحق (7) توزيع العزلات الجرثومية حسب النماذج المرضية وجنس المرضى

Specimen	Gender of patients					
	Female		Male		Total of isolates	
	No.	%	No.	%	No.	%
Urine	10	58.8	7	41.2	17	38.6
Stool	5	50	5	50	10	22.7
Vaginal swabs	4	100	0	0	4	9
Tonsilar swabs	1	33.3	2	66.6	3	6.8
Burn swabs	1	33.3	2	66.6	3	6.8
Blood	1	50	1	50	2	4.5
Pus from middle ear	1	50	1	50	2	4.5
Wound swabs	1	100	0	0	1	2.2
Sputum	0	0	1	100	1	2.2
CSF	0	0	1	0	1	2.2
Total(44)	24	50.5	20	45.4	44	100

ملحق (8) توزيع العزلات الجرثومية حسب النماذج المرضية وعمر المرضى

Specimen	Age of patients								Total	
	<16		16-29		30-44		45+			
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Urine	4	23.5	2	11.7	5	29.4	6	35.3	17	38.6
Stool	3	30	3	30	2	20	2	20	10	22.7
Vaginal swabs	0	0	0	0	3	75	1	25	4	9
Tonsilar swabs	0	0	0	0	0	0	3	100	3	6.8
Burn swabs	1	33.3	1	33.3	1	33.3	0	0	3	6.8
Blood	2	100	0	0	0	0	0	0	2	4.5
Pus from middle ear	0	0	0	0	0	0	2	100	2	4.5
Wound swabs	0	0	0	0	1	100	0	0	1	2.2
Sputum	0	0	0	0	0	0	1	100	1	2.2
CSF	1	100	0	0	0	0	0	0	1	2.2
Total(44)	11	25	6	13.6	12	27.2	15	34.1	44	100

ملحق (9) توزيع العزلات الجرثومية حسب النماذج المرضية ونوعية المرضى

Specimen	Type of patients				Total of isolates	
	Out patient		In patient			
	No.	%	No.	%	No.	%
Urine	4	23.5	13	76.5	17	38.6
Stool	4	40	6	60	10	22.7
Vaginal swabs	1	25	3	75	4	9
Tonsilar swabs	1	33.3	2	66.6	3	6.8
Burn swabs	0	0	3	100	3	6.8
Blood	0	0	2	100	2	4.5
Pus from middle ear	2	100	0	0	2	4.5
Wound swabs	0	0	1	100	1	2.2
Sputum	1	100	0	0	1	2.2
CSF	0	0	1	100	1	2.2
Total	13	29.5	31	70.4	44	100

ملحق (10) توزيع عوامل الفوعة بحسب العينات المرضية

Specimen	Virulence factors						
	H*	G*	B-L*	Bio*	Adh*	ARBCs*	Cap*
	No.(%)	No.(%)	No.(%)	No.(%)	No.(%)	No.(%)	No.(%)
Urine(17)	10(58.8)	12(70.5)	14(82.3)	15(88.2)			5(29.4)
Stool(10)	3(30)	3(75)	5(50)	7(70)	6(60)	5(50)	1(10)
Vaginal swabs (4)	1(25)	3(75)	2(50)	2(50)	3(75)	3(75)	0
Tonsilar swabs(3)	2(66.6)	3(100)	3(100)	1(33.3)	2(66.6)	2(66.6)	0
Burn swabs(3)	1(33.3)	3(100)	2(66.6)	2(66.6)	3(100)	1(33.3)	1(33.3)
Blood(2)	2(100)	1 (50)	2(100)	2(100)	2(100)	2(100)	1(50)
Pus from middle ear(2)	0	1 (50)	1 (50)	1 (50)	1 (50)	1(50)	1(50)
Wound swabs(1)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	0
Sputum(1	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)		0
CSF(1)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	1(100)	0
Total(44)	22(50)	31(70.5)	32(70.5)	34(77.3)	31(70.5)	28(63.6)	9(20.4)

* H= Production of haemolysin , G= Gelatinase , B-L= B-Lactamase , Bio= Biofilm form , Adh= Adhesion of epitheial cells, ARBCs= Agglutination of RBCs , Cap= Capsulles

ملحق رقم (11) حساسية للمضادات الجرثومية حسب العينات المرضية

	Antimicrobials* sensitivity											
Type of sambel	VA	CIP	RA	NA	P	AMC	TM	CTX	AM	CX	TE	E
	No.(%)	No.(%)	No.(%)	No.(%)	No.(%)	No.(%)	No.(%					
Urine(17)	3(17.6)	13(71.4)	8(47.1)	15(88.2)	2(11.2)	13(29.2)	5(29.4)	0	0	0	0	0
Stool(10)	1(10)	7(70)	1(10)	8(57.1)	5(50)	5(50)	2(20)	0	0	0	0	0
Vaginal swabs (4)	1(75)	1(75)	2(50)	2(50)	2(50)	5(50)	1(25)	0	0	0	0	0
Tonsilar swabs(3)	0	2(66.6)	1(33.3)	2(66.6)	1(33.3)	2(66.6)	1(33.3)	0	0	0	0	0
Burn swabs(3)	0	1(33.3)	2(66.6)	3(100)	1(33.3)	1(33.3)	0	0	0	0	0	0
Blood(2)	0	1(50)	0	1(50)	0	1(50)	0	0	0	0	0	0
Pus from middle ear(2)	0	1(50)	2(100)	2(100)	1(50)	2(100)	1(50)	0	0	0	0	0
Wound swabs(1)	0	0	0	1(100)	0	0	0	0	0	0	0	0
Sputum(1	0	1(100)	0	0	0	1(100)	0	0	0	0	0	0
CSF(1)	0	0	0	1(100)	0	0	0	0	0	0	0	0
Total	5(11.4)	27(61.3)	16(36.3)	35(79.5)	12(27.7)	27(61.4)	10(22.7)	0	0	0	0	0

* VA: Vancomycin, CIP: Ciprofloxin, RA: Rafampsin, NA: Nalidixic acid ,
P: Pencillin , AMC: Amoxicillin+Clavulanic acid , TM: Trimethoprim, CTX: Cefotaxime
AX: Amoxicillin, CX: Cloxacillin, TE: Tetracycline, E: Erythromycin,

Summary

The present study was conducted throughout the period from 1/9/2006 to 30/9/2007 in Al-Batol Hospital for Maternity and children and Baquba General Hospital. The aims are isolation and identification of enterococci from various pathological specimens and to explore certain virulence factors expressed by these bacteria and to determine their relevance with the antimicrobial sensitivity.

During the study period, a total of 343 specimens were collected from inpatients (213) and outpatients (120) complaining various infections. 143(41.7%) were males and 200 (58.3%) were females. Throughout the study, 44 (12.8%) isolates of enterococci were recovered from various specimens. The isolation rates were as follows, 17(17%) from urine, 10(55%) stool , 4(16%) vaginal swabs , 3(5%) throat swabs 3(8.3%) burn swabs , 2(10%)blood culture , 2(7.7%) middle ear swabs, 1(9.1%) wound swabs,1(5.3%) sputum and 1(5.3%) cerebrospinal fluid.

The study showed that *Enterococcus faecalis* was the most predominant species recovered 30(68.2%), followed by *Enterococcus faecium* 10(22.7%), *Enterococcus gallinarium* 3(6.8%) and *Enterococcus avium* 1(2.3%). Furthermore, the results revealed that there was insignificant relationship between enterococcal species and patient's gender (P=0.25), age (P=0.13) and type of patients (P=0.4).The mean age of patients was (32.8±17.2).

Investigations to explore certain virulence factors that may have a role in enterococcal pathogenesis revealed that 22(50%) of the isolates were produce hemolysin type Gamma , while10(22.7%) isolates produce type alpha, and 12(27.3%)%) isolates produce type beta.

Having other virulence factors, the result found that 31(70.5%) of isolates were gelatinase producer,32(72.7%) were β- lactamase producer, 34(77%) were Biofilms former, 33(75%) were abale to adhere to epithelial cells,28(63.6%) were abale to agglutinate human RBCs , and 9(20%) having capsule .

The antimicrobial sensitivity by disc diffusion method showed that all enterococcal isolates were resistant (100%) to cloxacillin, cefatoxime, amoxicillin, tetracycline and erythromycin. However, (79.5%) were sensitive to nalidixic acid and (61.4%) were sensitive to aech of ciprofloxacillin and amoxicillin-clavulonic acid.enterococcal isolates showed varied sensitivity rate to other antimicrobials; rifampicin, (36.4%), pencillin (27.3%), trimethoprime(22.7%), and vancomycin (11.4%).

However, The production of hemolysin and agglutination of RBCs had insignificant effect on the resistance of isolates to antimicrobials. While had significant relationship between production of gelatinase and resistance to trimethoprime (P=0.043), Production of β-lactamase and resistance to penicillin (P= 0.001), ability of Biofilms formation and resistance to penicillin (P= 0.002). isolates that able to adhere to epithelial cells and having capsule weresignificant resistance to penicillin (P= 0.045) .

The results were also revealed that all isolated of *E. faecalis*, were significant resistant to vancomycin comparing with other enterococcal species (P=0.002). However, there was insignificant differences between *E. faecalis* and other species regarding sensitivity to other antimicrobials included in the study.

Study of Virulence Factors and Antimicrobial Susceptibility of Enterococci Isolated From Patients

A Thesis

Submitted to the Council of the College of Education-Diyala University In Partial Fulfillment for the Requirements of the Degree of Master of Science in Biology / Microbiology

BY

Zainab Hussien Mehdy AL-Azawi

B.Sc. / Biology/ 2004

Supervised by

Prof. Dr *Lac. Dr.*

Abbas. A. AL-Duliumi *Abdal-Razak.SH.Hasan*

2008