



ISSN: 1608-9391  
e-ISSN: 2664-2786

Received:1/7/2020  
Accepted:16/8/2020

## التحري عن بكتريا العنقوديات السالبة لأنزيم التجلط في بعض العينات المرضية والاجهزة الطبية وتحديد نمط مقاومتها للمضادات الحيوية

\*احمد عبدالله حمادي \*محسن ايوب عيسى

قسم علوم الحياة/ كلية العلوم/ جامعة الموصل

\* E-mail: abdullaahmedabdulla43@gmail.com

\*\*E-mail: drmuhsin68@yahoo.com

### الملخص

اجريت هذه الدراسة بهدف التحري عن أنواع بكتريا العنقوديات السالبة لأنزيم التجلط Coagulase Negative Staphylococci (CoNS) من المصادر المرضية والأجهزة الطبية ودراسة نمط مقاومتها للمضادات الحيوية المختلفة، جمعت 120 عينة شملت عينات مرضية (دم، إدرار خراجات وجروح) وأجهزة وأدوات جراحية، من بعض مستشفيات مدينة الموصل للمدة من آب 2019 ولغاية كانون الثاني 2020، استخدمت طرق التشخيص المختلفة والتي شملت الطرق المظهرية (الزرعية والمجهرية والكيموحيوية) واستخدام نظام الـ Api Staph، كذلك تأكيد التشخيص بنظام الـ Vitek. اختبرت حساسية البكتريا المعزولة تجاه (12) مضادا حيويًا.

عزلت بكتريا العنقوديات السالبة لأنزيم التجلط CoNS من جميع مصادر العزل قيد الدراسة وتم الحصول على (37) عزلة وبنسبة (52.8%) من مجموع العنقوديات وأنها سادت على بكتريا *Staphylococcus aureus* في العديد من الحالات، وشملت الانواع المعزولة منها *Staphylococcus epidermidis* (عزلة 12% 32.4) تلتها *Staphylococcus saprophyticus* (عزلة 8% 21.6) ثم كل من *Staphylococcus haemolyticus* و *Staphylococcus hominis* (عزلة 6% 16.2) لكل منها، ثم *Staphylococcus sciuri* (عزلة 3% 8.1) واخيرا *Staphylococcus sciuri* (عزلة 2% 5.4).

بينت نتائج الحساسية للمضادات الحيوية ان عزلات CoNS اظهرت نسبة مقاومة عالية تجاه المضادات Tetracyclin (89.1%)، Penicillin (86.4%)، Erythromycin (81%)، Oxacillin (78.3%) على التوالي، وتدرجت في مقاومتها بنسب اقل لبقية المضادات المدروسة، وكانت جميع العزلات حساسة بشكل مطلق (100%) للمضاد الحيوي Vancomycin وبنسبة عالية للمضادات Ofloxacin (89.1%) و Novobiocin (72.9%). تؤكد هذه النتائج على مدى انتشار انواع البكتريا التابعة لمجموعة CoNS في المصادر المرضية المختلفة واهميتها الصحية وخطورتها المرتبطة بمقاومتها العالية للمضادات الحيوية.

**الكلمات الدالة:** العنقوديات، العنقوديات السالبة لأنزيم التجلط، مقاومة المضادات الحيوية.

### المقدمة

تستعمر مجموعة المكورات العنقودية السالبة لانزيم التجلط (CoNS)Coagulas Negative Staphylococci والتي من أشهرها *S.epidermidis* تقريبا كل مناطق جلد الإنسان (Grice and Segre, 2011) لكن بالإضافة لهذا الدور التوازني الذي تؤديه تعد هذه البكتيريا من الممرضات الاساسية والانتهازية خصوصا في المستشفيات مما جعل العديد من الباحثين يركزون على هذه البكتيريا، اذ تنتج انواع منها عوامل ضراوة مختلفة مثل السموم المعوية والنمو في تركيز يصل الى 15% من الملح وتقاوم المطهرات الشائعة الاستخدام، كما انها احد اهم انواع البكتيريا المرضية التي برزت في مجال تكوين الأغشية الحيوية على سطح الادوات والاجهزة الطبية منذ عقود ولقد اكتسبت اهميتها الامراضية مع زيادة استخدام الادوات والبدائل الطبية داخل اجسام المرضى خاصة كبار السن والمثبطين مناعيا(علي واخرون، 2009 ; Becker *et al.*, 2020) وتعد ذات اهمية خاصة في حالات استعمار المواد البوليمرية Polymers مثل القناطر البولية والمفاصل الاصطناعية وغيرها من الاجهزة الطبية التي تبقى داخل الجسم لفترات مختلفة (Kloos and Bannerman,1994). حيث تكمن ضراوة الـ CoNS بقدرتها على الالتصاق والاستعمار اكثر من قدرتها على انتاج بقية انواع عوامل الضراوة سواء على السطوح الحية وغير الحية (سلطان وخلف، 2005 ; Vanaparti and Sadawarte, 2019) تنتج ايضا بعض انواعها انزيم Lipases الذي يحطم الدهون و Haemolysin الذي يحلل كريات الدم الحمر كذلك انزيم Esterases الذي يعد من السموم الخارجية والذي يساعد في عملية غزو المضيف (Cameron *et al.*,2015). هناك انواع من الـ CoNS تستطيع احداث اصابة حتى في الاشخاص الأصحاء مثل *S.saprophyticus* اذ يمثل هذه النوع ثاني اكثر الانواع المسؤولة عن اصابات المجاري البولية UTI في النساء الشابات (Hovelius and Mardh, 1984) ومن الصفات المميزة لهذه المجموعة من البكتيريا انتاج سموم تدعى Phenol Soluble Modulins (PSM) حيث تعمل هذه السموم على تحليل كريات الدم الحمراء والبيضاء معظمها ينتج من الـ CoNS المقاومة للميثيسيلين (Qin *et al.*,2017) لقد اكتسبت هذه المجموعة من البكتيريا خاصة المعزولة من المستشفيات مقاومة عالية تجاه المضادات الحيوية المختلفة أشهرها الميثيسيلين وظهرت ذلك على مستوى عالمي مما زاد في خطورتها (Becker *et al.*, 2020) حيث تعد صفة مقاومة Novobiocin تشخيصية ومميزة للنوع *S.saprophyticus* (Hébert *et al.*, 1988) كذلك وصفت الـ CoNS بأنها اول الأنواع البكتيرية التي كونت مقاومة لمضادات Glycopeptide وان مراقبة مقاومة المضادات الحيوية خاصة في المستشفيات تعد مهمة لمنع تطور سلالات ذات مقاومة عالية للمضادات الحيوية Multi-Resistant Strains (Samreen *et al.*, 2017) ونظرا للأهمية الصحية لهذه الانواع من البكتيريا فقد استهدف هذا البحث عزل وتشخيص الأنواع المختلفة التابعة لها من المصادر المرضية والاجهزة الطبية ودراسة نمط مقاومتها للمضادات الحيوية المختلفة.

### المواد وطرائق العمل

#### المواد:

#### العينات

جمعت 120 عينة من مستشفيات مدينة الموصل (مستشفى ابن الاثير للأطفال، مستشفى السلام التعليمي، مستشفى ابن سينا التعليمي، مستشفى النساء). للمدة من آب 2019 ولغاية كانون الثاني 2020، وشملت عينات مرضية (دم 20، ادرار 20، جروح 10) وبدائل طبية (قناطر بولية 35، انبوب القصبية الهوائية 15، أنبوب تغذية المعدة 10) والأجهزة والأدوات الجراحية (10 عينات).

#### المضادات الحيوية المستخدمة

استخدمت مجموعة من المضادات الحيوية المتنوعة في الية عملها والمجهزة من شركة Bioanalyse التركيبية وكما يلي :  
 (TE) Tetracyclin، (CIP) Ciprofloxacin، (E) Erythromycin، (P) Penicillin، (OX) Oxacillin، (10µg) Vancomycin، (VA) Sulphamethoxazole، (30µg) Trimethoprim/

، (5µg)(RA) Rifampicin، (10µg)(CN) Gentamicin،(30µg)(NV) Novobiocin،( 1.25/23.75 µg)(SXT)  
 .( 5µg)(OFX) Ofloxacin،( 5µg)(LEV)Levofloxacin

#### طرائق العمل:

#### جمع العينات

جمعت عينات الأدرار من المرضى المصابين بالتهابات المجاري البولية باستخدام حاويات معقمة ضمن شروط النظافة والحصول على الأدرار الوسطي (Midstream)، اما عينات الدم فجمعت بوساطة انابيب خاصة حاوية على مواد مانعة للتخثر، وعينات خراجات الجروح والبدائل الطبية (قناطر بولية، انبوب القصبه الهوائية، أنبوب تغذية المعدة) وعينات الأجهزة والأدوات الجراحية جمعت باستخدام اوساط ناقلة (Stuart's medium (Transport media) والحاوية على مسحات قطنية ونقلت الى المختبر. اخذت العينات من البدائل الطبية (قناطر بولية، انبوب القصبه الهوائية وأنبوب تغذية المعدة) بالتعاون مع الطبيب المختص مع مراعاة تجنب حدوث التلوث وكذلك فأن جميع البدائل الطبية التي اخذت منها العينات كانت مدة بقائها داخل الجسم اكثر من ثلاثة ايام لضمان تكون الأغشية الحيوية عليها (علي واخرون، 2009، Pelling *et al.*, 2019)

#### العزل والتشخيص

زرعت جميع العينات على وسط أكار الدم Blood agar لدعم نموها ثم نقلت العزلات المشكوك بها الى وسط أكار المانيتول والملح Mannitol salt agare وهو وسط اختياري وتفرقي للبكتريا السالبة لأنزيم التجلط CoNS وحضنت في درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة في ظروف هوائية (Macfaddin , 2000) شخّصت انواع البكتريا السالبة لأنزيم التجلط CoNS على اساس الطرق المظهرية التي تضمنت الخصائص الزرعية (صفات النمو على وسطي Blood agar و Mannitol salt agare) والخصائص المجهرية (باستخدام صبغة كرام) والخصائص الكيموحيوية (التي شملت اختبارات انتاج انزيمات Catalase، Coagulase، Oxidase، Urase، DNase، Haemolysin، (Tille, 2017). وتم تأكيد التشخيص باستخدام نظام Api Staph (France/ BioMerieux)، كذلك التشخيص بنظام Vitek 2 compact (France/ BioMerieux).

#### اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

اختبرت حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية بطريقة الانتشار بالأقراص (Kirby-Bauer Disk method) المحورة (Kakil, 2019) استخدم فيها وسط Muller-Hinton agar (MHA) حيث علقنا المستعمرات البكتيرية الفتية بعمر 18 ساعة في محلول الملح الفسلجي داخل انبوبة اختبار معقمة وضبطت العكورة مع الأنبوبة 0.5 من انابيب ماكفرلاند القياسية والتي تكافئ  $1.5 \times 10^8$  خلية/سم<sup>3</sup> وباستخدام ملقط معقم وزعت اقراص المضادات الحيوية على سطح الطبق المزروع وبعدد 6 اقراص لكل طبق. وحضنت بدرجة حرارة 37 م لمدة 18-24 ساعة. تم قياس منطقة التثبيط حول اقراص المضادات حيوية بالمليمتر ثم قورنت مع جداول قياسية حسب (CLSI, 2016).

#### النتائج والمناقشة

#### العزل والتشخيص

اعتمدت مصادر متنوعة من العينات لغرض العزل وبهدف الحصول على اكثر عدد من انواع البكتريا التابعة لمجموعة البكتريا السالبة لأنزيم التجلط CoNS كذلك تحديد نسب تواجدها في مصادر العزل المختلفة، ويوضح (الجدول 1) اعداد عزلات العنقوديات المعزولة في هذه الدراسة ونسبها المئوية وتوزيعها اعتمادا على مصادر عزلها حيث يلاحظ ان العنقوديات بصورة عامة عزلت بنسبة 58.3% من جميع العينات المدروسة وبنسب متباينة لكل عينة، وفيما يتعلق بالأجهزة والادوات الطبية فان اكثر نسبة عزل كانت من الادوات الجراحية (100%) تلتها القناطر الطبية (51.4%)، اما العينات المرضية فاكثرت نسبة عزل كانت من عينات الأدرار (80%) تلتها عينات الجروح (70%)، ان عزل العنقوديات من مصادر العزل المتنوعة يعكس مدى انتشارها

والفرصة الكبيرة في ان تكون سببا للإصابات المختلفة والتلوث المصاحب للأجهزة والادوات الطبية من خلال امتلاكها لإمكانيات وعوامل الضراوة اللازمة ومنها قدرتها تكوين الغشاء الحيوي (جاسم، 2020; Becker et al., 2006).

يلاحظ من النتائج في (الجدول 1) ان 37 عزلة تابعة لمجموعة البكتيريا السالبة لانزيم التجلط CoNS عزلت من جميع المصادر وبنسبة (52.8%) من مجموع العنقوديات وانها سادت على بكتريا *S.aureus* في العديد من الحالات، اذ عزلت بنسبة (70%) للأدوات الجراحية و(68.75%) لعينات الادرار و(57.14%) لعينات الجروح و(50%) لعينات القشاطر البولية، وتؤكد دراسة اخرى على سيادة هذه المجموعة البكتيرية في العديد من الاصابات (Ahmed et al., 2019)، ولعل وجودها على اسطح الاجهزة والادوات الطبية وقدرتها على تكوين الغشاء الحيوي هو من اكثر الحالات خطورة لتمامها المباشر بصحة وحياة المرضى وهو يعكس الاهمية الامراضية لهذا النوع من البكتيريا بحيث أصبحت حاليا تمثل احدى الانواع الاساسية للجراثيم المسببة للأمراض وخصوصا داخل المستشفيات (خلف واخرون، 2006; Becker et al., 2020).

استنادا الى طرق التشخيص المختلفة المعتمدة في هذه الدراسة والتي شملت الطرق المظهرية (الزرعية والمجهريية والكيموحيوية)، الموضحة نتائجها في (الجدول 2) والصور (1،2،3،4) واستخدام نظام الـ Api Staph، الصورة (5) كذلك التشخيص بنظام الـ Vitek، الصورة (6)، تم التوصل الى تأكيد تشخيص (37) عزلة تابعة لأنواع المختلفة لمجموعة CoNS توزعت على ستة انواع موضحة تفاصيلها في (الجدول3).

شملت 12 عزلة للنوع *S.epidermidis* بنسبة (32.4%) تلتها 8 عزلة للنوع *S.saprophyticus* بنسبة (21.6%) ثم 6 عزلة لكل من *S.haemolyticus* و *S.hominis* بنسبة (16.2%) لكل منها، تلتها *S.lentus* بثلاث عزلات بنسبة (8.1%) واخيرا عزلتين للنوع *S. sciuri* بنسبة (5.4%).

اتفقت النتائج مع نتائج Al-Kalidy and AL-Hasnawi (2015) و Kumari et al., (2018) من حيث سيادة انواع CoNS المعزولة لكل من *S.epidermidis*، *S.saprophyticus*، *S.haemolyticus* على التوالي، كما اكدت نتائج Vanaparti and Sadawarte (2019) الذين بينوا ان، *S. haemolyticus*، *S. hominis*، *S. epidermidis* هي اكثر انواع CoNS المعزولة من القشاطر البولية او ما يسمى قثطرة فولي Foley's Catheter. وذكر (Stepanović et al., 2005) و (Becker (2014) ان، *S. epidermidis*، *S.saprophyticus*، *S.hemolyticus* تكون مسؤولة عن اغلب اصابات CoNS واكثرها عزلا.

الجدول 1 : نسب العنقوديات وعزلات العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS اعتمادا على مصادر عزلها.

عزلات CoNS		العنقوديات		عددتها	مصدر العينات	
نسبتها من العنقوديات (%)	العدد	نسبة العزل (%)	العدد			
50	9	51.4	18	35	قشاطر بولية	الاجهزة والادوات الطبية
28.57	2	46.6	7	15	انيوب القصبية الهوائية	
25	1	40	4	10	أنيوب تغذية المعدة	
70	7	100	10	10	الأدوات الجراحية	
37.5	3	40	8	20	الدم	العينات المرضية
68.75	11	80	16	20	الادرار	
57.14	4	70	7	10	جروح	
52.8	37	58.3	70	120	المجموع	

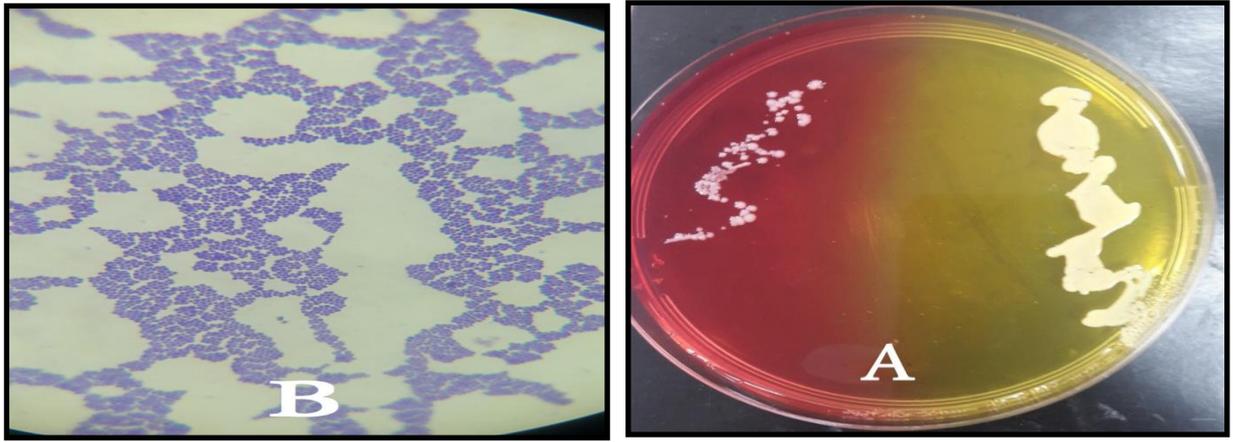
سجلت نتائجنا اعدادا منخفضة للنوعين *S. sciuri* و *S.lentus* مقارنة مع بقية الانواع وهذا يتفق مع نتائج دراسات علي واخرون (2009) وكذلك (Pedroso et al., (2016) كما اوضح Rupp and Fey (2016) ان النوعين *S. sciuri*

و *S.lentus* يعزلان غالبا من الحيوانات بينما بقية الانواع *S.epidermidis*، *S.saprophyticus*، *S.haemolyticus*، *S.hominis*، تعزل من الاصابات المرتبطة بالإنسان وهذا يتفق ويفسر سبب الاعداد التي تم الحصول عليها لكل نوع منها، وذكر (2002) Stepanović *et al.* ان *S. sciuri* لا تشكل اهمية كبيرة عندما تعزل من الإنسان باستثناء بعض الحالات المرضية مثل Endocarditis كما ان الإنسان لا يعد الموطن الطبيعي لها حيث تصل اليه اما من الحيوانات او من بيئات اخرى. أوضح (2019) Inikori، ان واحدة من اهم التحديات التي يتعرض لها الباحث عند عزل انواع بكتريا العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS هو قدرة تمييز انواعها المرضية عن تلك التي تعد مصدر تلوث للعينات خاصة مع عينات الدم، اذ في اغلب المختبرات تعد المكورات العنقودية كائنات ملوثة للبيئات والاساط المختبرية لذلك غالبا لا يتم التحري عن انواع هذه الجراثيم وكذلك قلما يتم تحديد حساسيتها للمضادات الحيوية وبالتالي تجاهلها يزيد من فرصة انتشارها وخطورتها. اشار جاسم (2006) ان بعض الدراسات التي اجريت على بكتريا العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS بينت ان نسبة عزلها من المستشفيات وصلت الى 95% اذ تعكس هذه النسبة مدى احتمالية احداث اصابة لدى المرضى الراقدين خاصة الذين يعانون من امراض مزمنة يتولد بسببها ضعف في الجهاز المناعي اذ تعد العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS احد انواع البكتريا الأنتهازية في احداث هذه الإصابات، حيث كان العالمان Kloos وBannerman ومنذ عام (1994) قد وصفا الأهمية السريرية لهذه المجموعة من البكتريا وأشارا الى ان هذه الأهمية تعزى الى ما تمتلكه هذه المجموعة من البكتريا من مقاومة للمضادات الحيوية والمطهرات.

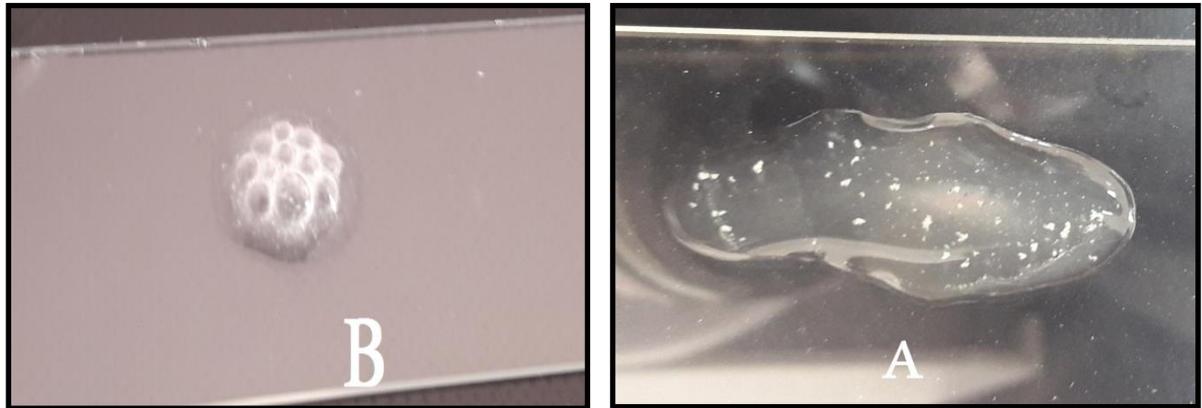
الجدول 2: نتائج الاختبارات الكيموحيوية لعزلات العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS المعزولة.

الأختبارات الكيموحيوية									انواع CoNS المعزولة
تخمير المانتول	DNase	تحلل الدم	انتاج الصبغات	تحلل اليوريا	عامل التكتل	انزيم التجلط	الكتاليز	الأوكسديز	
-	-	-	بيضاء	+	-	-	+	-	<i>S.epidermidis</i>
v	-	-	صفراء شاحبة	+	-	-	+	-	<i>S.saprophyticus</i>
-	-	محللة	بيضاء	-	-	-	+	-	<i>S.haemolyticus</i>
-	-	-	بيضاء	+	-	-	+	-	<i>S.hominis</i>
+	-	-	بيضاء او اصفر رمادي	-	v	-	+	+	<i>S. sciuri</i>
+	-	-	بيضاء	-	-	-	+	-	<i>S.lentus</i>

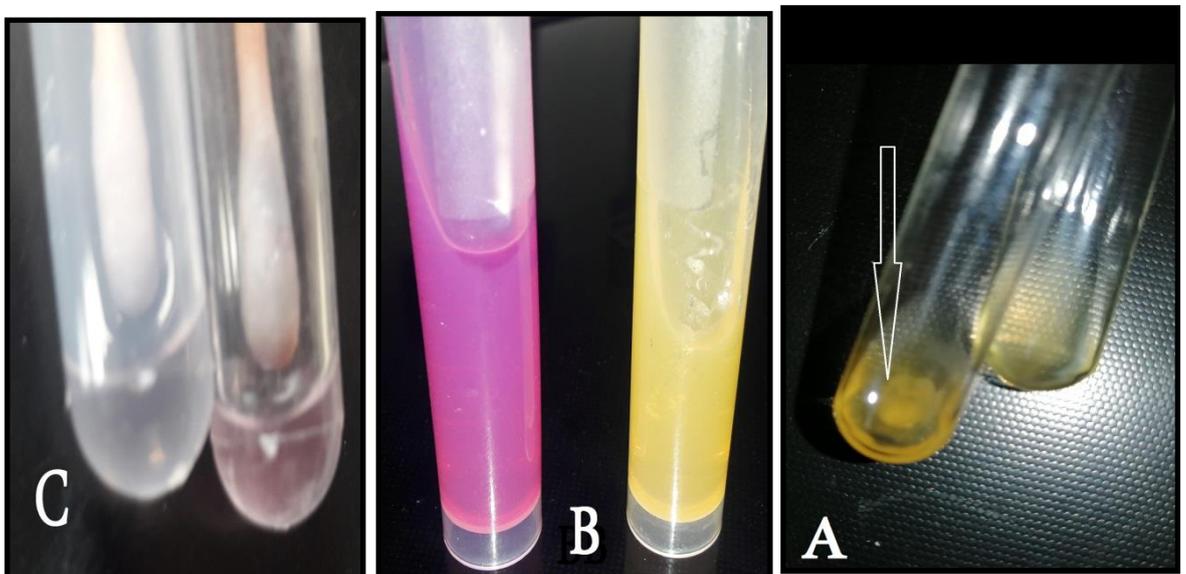
+ : نتيجة موجبة - :نتيجة سالبة v :نتيجة متغايرة



الصورة 1: (A) نمو البكتريا التابعة لمجموعة الـ CoNS على وسط اكار الملح والمانيتول (اليسار) مقارنة ببكتريا *S.aureus* (اليمن). (B) خلايا بكتريا الـ CoNS تحت المجهر الضوئي عند قوة التكبير 100 X مصبوغة بصبغة كرام.



الصورة 2: (A) النتيجة الموجبة لعامل التجلط (B) النتيجة الموجبة لأختبار الكتاليز.



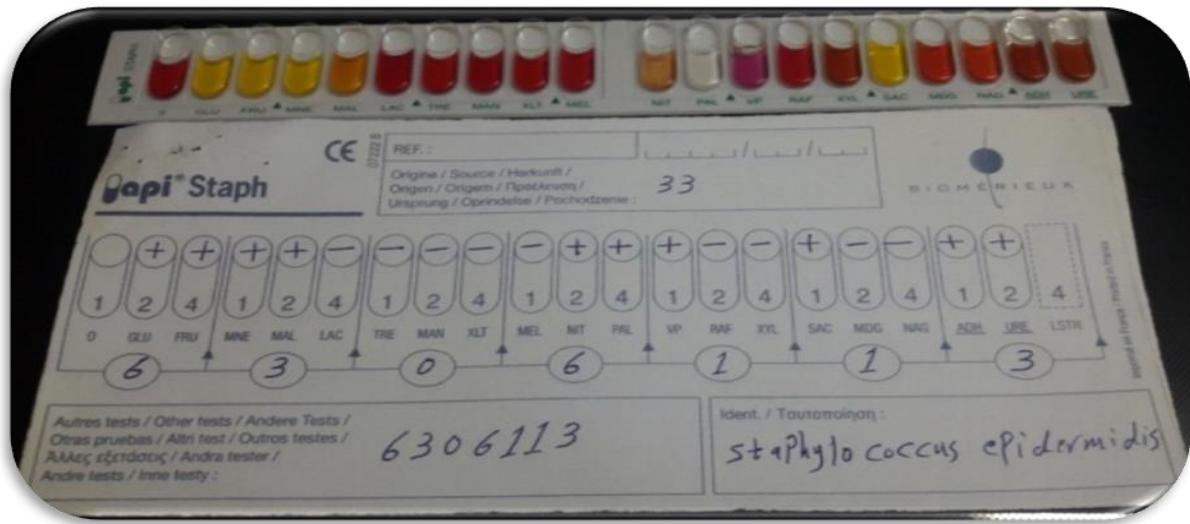
الصورة 3: النتيجة الموجبة والسالبة (A) لإنتاج انزيم التجلط (B) اختبار اليوريز (C) اختبار الأوكسيديز.



الصورة 4: نمو الـ CoNS على وسط DNase حيث: (A) توضح النتيجة الموجبة (*S.aureus* للمقارنة) و (B) النتيجة السالبة (CoNS)

الجدول 3: انواع بكتريا CoNS المعزولة وتوزيعها حسب مصدر العزل

اعداد العزلات حسب مصدر العزل		عزلات CoNS العدد والنسبة المئوية
العدد	مصدر العزل	
4	قتاطر بولية	<i>S.epidermidis</i> (% 32.4)(12)
1	انبوب القصبة الهوائية	
2	الأدوات الجراحية	
2	جروح	
3	ادرار	
1	قتاطر بولية	<i>S.saprophyticus</i> (% 21.6)(8)
1	انبوب القصبة الهوائية	
1	الأدوات الجراحية	
1	جروح	
4	ادرار	
2	قتاطر بولية	<i>S.haemolyticus</i> (% 16.2)(6)
1	الأدوات الجراحية	
1	انبوب تغذية المعدة	
2	ادرار	
2	قتاطر بولية	<i>S.hominis</i> (% 16.2)(6)
1	الادوات الجراحية	
2	دم	
1	جروح	
2	الادوات الجراحية	<i>S.lentus</i> (% 8.1)(3)
1	ادرار	
1	ادرار	<i>S. sciuri</i> (% 5.4)(2)
1	دم	



الصورة 5: نموذج نتائج اختبار شريط Api للنوع *S.epidermidis*

bioMérieux Customer:		DR.RADHWAN ALJAMMAS- LAB		Printed Nov 6, 2019 13:49 CST													
Patient Name: Bahth 19, .		Microbiology Chart Report		Patient ID: Tadddd33													
Location:				Physician:													
Lab ID: 11				Isolate Number: 1													
Organism Quantity:																	
Selected Organism : Staphylococcus epidermidis																	
Source:																	
Collected:																	
Comments:																	
Identification Information		Analysis Time: 5.82 hours		Status: Final													
Selected Organism		99% Probability		Staphylococcus epidermidis													
ID Analysis Messages		Bionumber:		030000056620211													
Biochemical Details																	
2	AMY	-	4	PIPLC	-	5	dXYL	-	8	ADH1	+	9	BGAL	+	11	AGLU	-
13	APPA	-	14	CDEX	-	15	AspA	-	16	BGAR	-	17	AMAN	-	19	PHOS	(-)
20	LeuA	-	23	ProA	-	24	BGURr	-	25	AGAL	-	26	PyrA	-	27	BGUR	-
28	AlaA	-	29	TyrA	-	30	dSOR	-	31	URE	+	32	POLYB	-	37	dGAL	+
38	dRIB	-	39	ILATK	+	42	LAC	+	44	NAG	-	45	dMAL	+	46	BACI	+
47	NOVO	-	50	NC6.5	+	52	dMAN	-	53	dMNE	-	54	MBdG	-	56	PUL	-
57	dRAF	-	58	O129R	+	59	SAL	-	60	SAC	+	62	dTRE	-	63	ADH2s	-
64	OPTO	+															

الصورة 6: نموذج نتائج اختبار Vitek لبكتريا *S.epidermidis*

### حساسية بكتريا العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS المعزولة تجاه المضادات الحيوية

اظهرت نتائج الحساسية للمضادات الحيوية تباينا في نسبة مقاومة المضادات المختلفة وكما موضح في ( الجدول4) حيث يلاحظ بصورة عامة ان العزلات اظهرت نسبة مقاومة عالية تجاه المضادات (89.1% Tetracyclin)، (86.4% Penicillin) Erythromycin ، (81%) Oxacillin، (78.3%) على التوالي، وتدرجت في مقاومتها بنسب اقل لبقيّة المضادات المدروسة، بالمقابل يلاحظ من النتائج ان جميع العزلات اظهرت حساسية مطلقة (100%) للمضاد الحيوي Vancomycin وبنسبة عالية للمضادات Ofloxacin (89.1%) و Novobiocin (72.9%) وبنسب اقل لبقيّة المضادات، وتؤكد الدراسات ان مجموعة بكتريا الـ CoNS تظهر زيادة في نسبة مقاومتها للمضادات الحيوية على المستوى العالمي (Becker et al., 2020)، كما اشار Vanaparti و Sadawarte (2019) الى قابلية العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS على استعمار الجلد للمرضى وللأشخاص الذين يعتنون بهم في المستشفيات اذ تمتلك هذه الانواع من البكتريا مخزونا جينيا لمقاومة المضادات الحيوية تستطيع مثل هذه الانواع نقل الجينات بين انواع العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS كما تستطيع اكتساب جينات المقاومة من *S. aureus*، ولعل احد اسباب المقاومة يعود الى قدرة تقريبا 80-90% من هذه البكتريا المعزولة من حالات مرضية مختلفة على انتاج انزيم  $\beta$ -lactamase وانتاج Penicillin-Binding Brotein (PBP2a) وتعد العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS اول الأنواع البكتيرية التي كونت مقاومة لمضادات Glycopeptide (Samreen et al., 2017). ان احدى اهم صفات المكورات العنقودية هي مقاومتها العالية لمركبات البيتا لاكتام وهذا يفسر سبب المقاومة العالية لا Penicillin كما تمتلك

العنقوديات بصورة عامة قدرة كبيرة على اكتساب المقاومة للمضادات الحيوية وتحدث هذه المقاومة في الغالب داخل المستشفيات حيث يزداد تعقيد خطورتها وامراضيتها. اما بالنسبة للمقاومة العالية للمضاد Erythromycin في دراستنا فقد بينت العديد من الدراسات امتلاك الـ CoNS الترانسبوزونات خاصة التراكيب Tn554 و Tn551 التي تحمل الجينات المسؤولة عن مقاومة هذا المضاد الحيوي (علي وآخرون، 2009).

اظهرت نتائج الدراسة الحالية مقاومة عالية لمضاد Oxacillin الذي يعد دلالة على مقاومة Methicillin وان مثل هذه العزلات المقاومة للميثيسيلين تعد مهمة من الناحية الوبائية (علي وآخرون، 2009)، حيث ذكر Vanaparti and Sadawarte (2019) في دراسة استمرت لمدة 9 سنوات اجراها National Nosocomial Infection Survey (NNIS) ان 20-60% من العنقوديات السالبة لأنزيم التجلط CoNS اظهرت مقاومة لا Methicillin بدلالة مقاومة Oxacillin وأشار نفس الباحث الى ان العزلات المكونة للغشاء الحيوي تظهر بشكل ملحوظ مقاومة عالية لا Methicillin مقارنة مع العزلات غير مكونة للغشاء الحيوي مما اكد النتائج على المستوى الجيني التي ذكرها (Al-Kalidy and AL-Hasnawi, 2015) الذي بين ان من مجموع 40 عزلة سريرية لا CoNS 30 منها اظهرت وجود الجين *mecA* بنسبة 75% ووجد نفس الباحث ان نسبة وجود الجين *icaA* المكون للغشاء الحيوي مع الجين *mecA* المقاوم للميثيسيلين في العزلات المرضية كان 25% بينما في العزلات غير مرضية وجد الجينات بنسبة 5%. كما ذكر (Seng et al., 2017) الى ان نسبة عزل العنقوديات السالبة لأنزيم التجلط CoNS المقاومة للميثيسيلين في المستشفيات كانت 70.1% اذ يشكل هذه النوع من العنقوديات السالبة لأنزيم التجلط CoNS خطورة عالية في الإصابات لمقاومته المضادات الحيوية.

تمتلك انواع من العنقوديات السالبة لأنزيم التجلط CoNS تراكيب جينية تدعى Staphylococcal Cassette Chromosome (SCC) مثل Mec Elements التي تمكنها من مقاومة الميثيسيلين ومضادات أخرى. (et al., 2017). وقد ذكر (Archer and Climo, 1994) ان السلالات التي تمتاز بمقاومة الميثيسيلين تزداد فيها فرصة مقاومة انواع اخرى من المضادات الحيوية.

#### الجدول 4: انماط حساسية عزلات CoNS تجاه المضادات الحيوية المدروسة

نمط الحساسية			اسم المضاد
المقاومة (%) n	متوسطة الحساسية (%) n	الحساسية (%) n	
32(86.4)	0	5(13.5)	Penicillin
30(81.0)	4(10.8)	3(8.1)	Erythromycin
12(32.4)	8(21.6)	17(55.5)	Ciprofloxacin
33(89.1)	0	4(10.8)	Tetracyclin
29(78.3)	0	8(21.6)	Oxacillin
0	0	37(100)	Vancomycin
19(51.3)	8(21.6)	10(27)	Trimethoprim/ Sulphamethoxazole
7(18.9)	3(8.1)	27(72.9)	Novobiocin
17(45.9)	1(2.7)	19(51.3)	gentamicin
11(29.7)	4(10.8)	22(59.4)	Rifampicin
10(27)	4(10.8)	23(62.1)	Levofloxacin
2(5.4)	2(5.4)	33(89.1)	Ofloxacin

n : عدد العزلات

ان سبب حساسية جميع عزلات العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS المدروسة تجاه المضاد الحيوي Vancomycin قد يعزى الى التأثير الفعال الذي يملكه وقلة استخدام هذا المضاد اذ يشكل خطرا على الأعصاب والكلية والأذن والكبد ولا يستخدم الا في الحالات الحرجة خاصة في اصابات السبجيات والعنقوديات (علي وآخرون، 2009)، حيث ذكر and Verschraegen (2009) ان المضادات التي لا تستخدم بشكل شائع تكون الحساسية عالية لها ضمن انواع CoNS كما اتفقت النتائج مع ما وجدته الباحثون (Ingato *et al.*, 2014 ; Sarathbabu *et al.*, 2013) اذ ابدت جميع عزلات العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS حساسية للمضاد الحيوي Vancomycin بنسبة 100%. ان استخدام مضاد Quinolones الحديث من نوع (levofloxacin) اظهر فعالية اعلى من المضاد القديم (Ciprofloxacin) من نفس العائلة وهذا يتفق مع ما ذكره and Huebner Goldmann (1999).

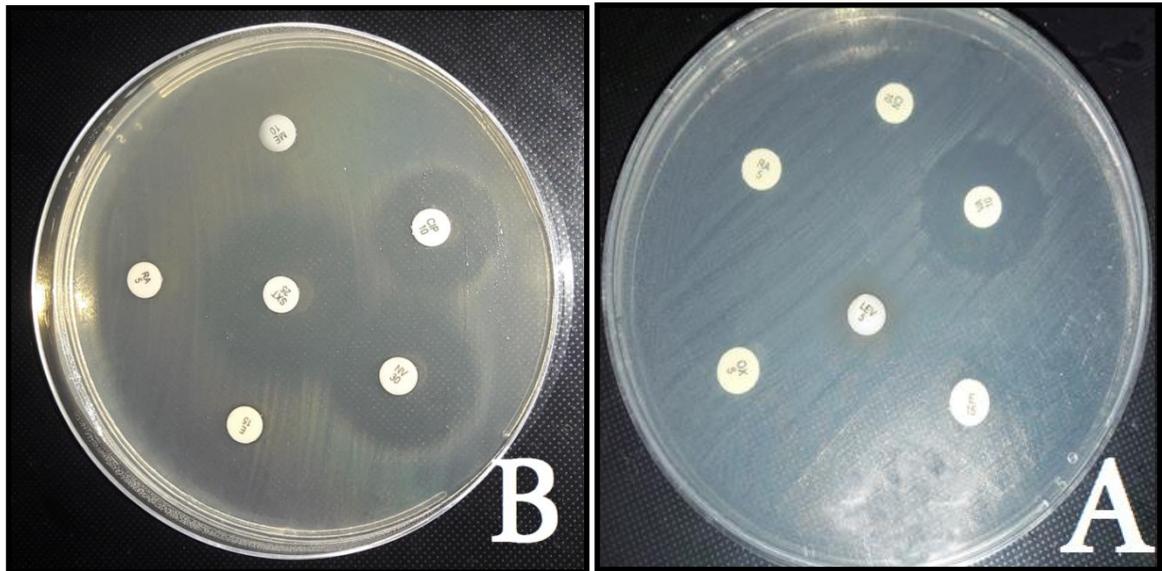
يوضح ( الجدول 5) النسب المئوية لمقاومة انواع عزلات العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS المختلفة تجاه المضادات المدروسة حيث يلاحظ ان هذه العزلات تباينت في نسبة مقاومتها سواء تجاه المضاد الواحد او المضادات المختلفة بغض النظر عن عدد عزلات النوع الواحد من هذه البكتيريا، لكن الملاحظ ان جميع هذه الانواع قد قاومت عدة مضادات حيوية مع تفاوت نسبة المقاومة مما يعني امتلاكها صفة المقاومة المتعددة Multi- Resistant مما ينعكس على خطورتها وصعوبة علاج الامراض المرتبطة بها، وتوضح الصورة (7) نموذجا لبعض انماط مقاومة وحساسية هذه البكتيريا تجاه المضادات المدروسة. يلاحظ من خلال النتائج في (الجدول 5) ان اعلى نسبة للمقاومة المتعددة كانت للأنواع، *S.saprophyticus* و *S.haemolyticus* بنسبة (83.3%) تلتها النوع *S.hominis* (75%) ثم النوعين *S.lentus* و *S.sciuri* بنسبة (66.7%). وجد Piette و Verschraegen (2009) ان مقاومة العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS تختلف حسب النوع و اشار الى ان *S.haemolyticus*، *S.epidermidis*، *S.hominis* اكثر الانواع مقاومه للمضادات الحيوية، علما ان للموقع الجغرافي ومصدر العزلات دور مهم في تحديد حساسية او مقاومة مضاد معين تجاهه (Qin *et al.*, 2009)، كما يلاحظ من النتائج نسبة عالية للمقاومة المفردة تجاه بعض المضادات الحيوية في النوعين *S.lentus* و *S.sciuri* برغم قلة عدد عزلاتهما وخاصة النوع الاخير الذي كانت مقاومته مطلقة (100%) في عدة حالات مما يؤكد ما ذكره (Stepanović *et al.*, 2002) من تطور المقاومة فيهما، كما اشارت العديد من الدراسات الى المقاومة العالية التي امتلكها هذان النوعان تجاه المضاد Methicillin (Nemeghaire *et al.*, 2014)، كما ذكر الباحث ان *S.sciuri* تمتلك عناصر SCCmec من النوع الثاني type II والتي لها دور في مقاومة Methicillin ، وبين ان بعض الدراسات وجدت حدوث مقاومة عالية لهذه البكتيريا تجاه مضادات  $\beta$ -lactam واوضح ان سبب مقاومة Trimethoprim يعود الى امتلاكها للبلازميدات والعناصر القافزة من نوع Transposon- borne dfr genes . وجد الباحثان (Vanaparti and Sadawarte (2019) ان العزلات المكونة للغشاء الحيوي تزداد فيها احتمالية مقاومة المضادات الحيوية حيث يتم ذلك وفق ميكانيكيات مختلفة مثل ربط المضاد مع مكونات الغشاء الحيوي ايضا منع او تقليل اختراق المضاد الحيوي للغشاء الحيوي كما تمثل الكثافة العالية من الخلايا ضمن الغشاء الحيوي و حدوث تكيفات في هذه الخلايا مثل النمو ببطء والتغيرات في التعبير الجيني.

الجدول 5: نسب مقاومة عزلات العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS تجاه المضادات المدروسة.

انواع	انواع عزلات CoNS واعدادها
-------	---------------------------

<i>S. sciuri</i> (2)	<i>S.lentus</i> (3)	<i>S.hominis</i> (6)	<i>S.haemolyticus</i> (6)	<i>S.saprophyticus</i> (8)	<i>S.epidermidis</i> (12)	المضادات
% 100	% 100	% 83	% 83	% 75	% 91.6	P
% 100	% 66	% 83	% 83	% 75	% 83.3	E
% 50	% 33.3	% 16.6	% 50	% 25	% 33.3	CIP
% 50	% 100	% 83.3	% 83.3	% 87.5	% 100	TE
% 100	% 66.6	% 66.6	% 83.3	% 75	% 83.3	OX
% 0	% 0	% 0	% 0	% 0	% 0	VA
% 100	% 33.3	% 50	% 33.3	% 50	% 58.3	SXT
% 100	% 0	% 0	% 0	% 62.5	% 0	NV
% 50	% 66.6	% 50	% 66.6	% 37.5	% 33.3	CN
% 0	% 33.3	% 16.6	% 50	% 25	% 33.3	RA
% 0	% 0	% 16.6	% 50	% 12.5	% 41.6	LEV
% 0	% 0	% 0	% 16.6	% 0	% 8.3	OFX
% 66.7	% 66.7	% 75	% 83.3	% 83.3	% 83.3	% للمقاومة الكلية المتعددة

\* = نسبة عدد حالات المقاومة للعزلة الواحدة الى عدد المضادات الحيوية



الصورة 7: الحساسية للمضادات الحيوية حيث: (A) تظهر المقاومة العالية لأحدى عزلات *S.haemolyticus* (B) حساسية احدى عزلات *S.epidermidis*.

من هذه النتائج نستنتج ان انواع عزلات CoNS ومن مصادر العزل المختلفة تمتلك مقاومة عالية ومتعددة للمضادات الحيوية تعكس اهميتها الصحية وخطورتها وتؤكد ما ذهب اليه Singh *et al.*, (2016) في انها تعتبر مخزنا للجينات المقاومة

لأنواع مختلفة من المضادات الحيوية وان هنالك تماثل بين المنطقة الجينية SCCmec العنقوديات السالبة لانزيم التجلط CoNS و *S.aureus* مما يدل على حدوث الانتقال الأفقي للجينات بين انواع *Staphylococci*.

#### المصادر العربية

- جاسم، نهاد كاظم (2006). دراسة بكتيريولوجية ووراثية للعنقوديات السالبة للأنزيم المخثر لبلازما الدم. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة بابل.
- خلف، صبحي حسين؛ الكناني، انتصار رحيم؛ علي، ذكرى سليم (2006). دراسة مرضية لجراثيم المكورات العنقودي السالبة لانزيم التجلط المعزولة من حالات التهاب المجاري البولية للنساء. مجلة علوم الرافدين، **17**(9)، 263-277.
- سلطان، نادية محمود؛ خلف، صبحي حسين (2005). التصاق المكورات العنقودية السالبة للأنزيم التجلط على الخلايا الظهارية البولية للإنسان. مجلة علوم الرافدين، **16**(8)، 184-190.
- علي، فاطمة عبودي؛ هادي، عباس علي؛ علي، مجاهد خلف (2009). حساسية أنواع جرثومة Coagulase Negative *Staphylococci* المعزولة من حالات مرضيه مختلفة للمضادات الحيوية. مجلة تكريت للعلوم الصرفة، **14**(1)، 31-23.

#### المصادر الاجنبية

- Ahmed, D.M.; Messih, M.A.; Ibrahim, N.H.; Meabed, M.H.; Abdel-Salam, S.M., (2019). Frequency of *icaA* and *icaD* determinants and biofilm formation among Coagulase-Negative Staphylococci associated with nasal carriage in neonatal intensive care units. *Germs*, **9**(2), 61-70.
- Al-Kalidy, B.A.; AL-Hasnawi, H.H. (2015). Molecular characterization of Coagulase Negative Staphylococci isolates from clinical and carries specimens. *Al-Kufa University, J. Biol.*, **7**(3), 85-92.
- Archer, G.L.; Climo, M.W. (1994). Antimicrobial susceptibility of Coagulase-Negative Staphylococci. *Antimicrob. Agents and Chemother.*, **38**(10), 2231-2237.
- Becker, K.; Both, A.; Weißelberg, S.; Heilmann, C.; Rohde, H. (2020). Emergence of Coagulase-Negative Staphylococci. *Exp. Rev. of Anti-infect. Therapy*, **18**(4), 349-366.
- Becker, K.; Heilmann, C.; Peters, G. (2014). Coagulase-Negative Staphylococci. *Clin. Microbiol. Rev.*, **27**(4), 870-926.
- Cameron, D.R.; Jiang, J.; Hassan, K.A.; Elbourne, L.D.H.; Tuck, K.L.; Paulsen, I.T.; Peleg, A. (2015). Insights on virulence from the complete genome of *Staphylococcus capitis*. *Frontiers in Microbiol.*, **6**, 980.
- Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). (2016). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing twenty-six informational supplement. *Clinical Laboratory Standards Institute*, **36**(1), 66-67.
- Grice, E.A.; Segre, J.A. (2011). The skin microbiome. *Natl. Rev. Microbiol.*, **9**(4), 244-253.
- Hébert, G.A.; Crowder, C.G.; Hancock, G.A.; Jarvis, W.R.; Thornsberry, C. (1988). Characteristics of Coagulase-Negative Staphylococci that help differentiate these species and other members of the family Micrococcaceae. *J. Clin. Microbiol.*, **26**(10), 1939-1949.
- Hoveliuss, B.; Mardh, P.A., (1984). *Staphylococcus saprophyticus* as a common cause of urinary tract infections. *Rev. Infect. Dis.*, **6**(3), 328-337.
- Huebner, J.; Goldmann, D.A. (1999). Coagulase-Negative Staphylococci: role as pathogens. *Annu. Rev. Medicine.*, **50**(1), 223-236.

- Ingato, S.P.; Kimang'a, A.N.; Omuse, G.; Kariuki, S.; Gunturu, R.; Dinda, V., (2014). Characteristics of archived Coagulase -Negative Staphylococci isolates at a university hospital, Nairobi, Kenya. *Open J. Med. Microbiol.*, **4**(04), 236.
- Inikori, G.V. (2019). Antimicrobial resistance and distribution of meca gene among clinical and carriage coagulase negative staphylococci isolates. Msc. thesis, College of Science. University of Ghana. Ghana.
- Kakil, A.J. (2019). Determination of virulence factors and two resistance genes of *staphylococcus aureus* isolates from residents and displaced people in Kirkuk Province. MSc, Thesis, College of Science, University of Kirkuk. Iraq.
- Kloos, W.E.; Bannerman, T.L. (1994). Update on clinical significance of Coagulase-Negative Staphylococci. *Clin. Microbiol. Rev.*, **7**(1), 117-140.
- Kumari, S.; Jitendra; Das, A.; Mane, P.; Sangwan, J.; Kumari, S. (2018). Isolation, identification and antibiogram of Coagulase-Negative Staphylococcus (CoNS) isolated from various clinical samples at a tertiary care teaching hospital, Jaipur, India. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, **7**(1), 3048-3059.
- Macfaddin, J.F.M. (2000). "Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria". 3<sup>th</sup> ed, Baltimor: Lippincott Williams and Wilkins. USA.
- Nemeghaire, S.; Argudín, M.A.; Fessler, A.T.; Hauschild, T.; Schwarz, S.; Butaye, P. (2014). The ecological importance of the *Staphylococcus sciuri* species group as a reservoir for resistance and virulence genes. *Veterinary microbial.*, **171**(3-4), 342-356.
- Pedroso, S.H.S.P.; Sandes, S.H.C.; Luiz, K.C.M.; Dias, R.S.; Serufo, J.C.; Farias, L.M.; Carvalho, M.A.R.; Bomfim, M.R.Q.; Santos, S.G. (2016). Biofilm and toxin profile: A phenotypic and genotypic characterization of Coagulase-Negative Staphylococci isolated from human bloodstream infections. *Microbial. Pathogenesis*, **100**(2016), 312-318.
- Pelling, H.; Nzakizwanayo, J.; Milo, S.; Denham, E.L.; MacFarlane, W.M.; Bock, L.J.; Sutton, J.M.; Jones, B.V. (2019). Bacterial biofilm formation on indwelling urethral catheters. *Letters in Appl. Microbiol.*, **68**(4), 277-293.
- Piette, A.; Verschraegen, G. (2009). Role of Coagulase-Negative Staphylococci in human disease. *Veterinary microbiology*, **134**(1-2), 45-54.
- Qin, L.; Da, F.; Fisher, E.L.; Tan, D.C.S.; Nguyen, T.H.; Fu, C.; Tan, V.Y.; McCausland, J.W.; Sturdevant, D.E.; Joo, H.; Queck, S.Y.; Cheung, G.Y.C.; Otto, M. (2017). Toxin mediates sepsis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis*. *PLoS pathogens*, **13**(2), 1006153-1006169.
- Qin, Z.; Zhang, J.; Hu, Y.; Chi, Q.; Mortensen, N.P.; Qu, D.; Molin, S.; Ulstrup, J. (2009). Organic compounds inhibiting *S. epidermidis* adhesion and biofilm formation. *Ultramicroscopy*, **109**(8), 881-888.
- Rupp, M.E.; Fey, P.D. (2016). "*Staphylococcus epidermidis* and other Coagulase-Negative Staphylococci". In: "Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases". 8<sup>th</sup> ed. Elsevier. Saunders. USA
- Samreen, F.; Gopi, A.; Kenge, P.B.; Jain, S. (2017). Comparison of Phenotypic and molecular profile of Coagulase Negative Staphylococci from clinical isolates and commensals along with Biofilm detection. *India J. Microbiol. Res.*, **4**(2), 194-198.
- Sarathbabu, R.; Rajkumari, N.; Ramani, T.V. (2013). Characterization of Coagulase Negative Staphylococci isolated from urine, pus, sputum and blood samples. *Int. J. Pharm. Sci. Inven.*, **2**(1), 37-46.
- Seng, R.; Kittti, T.; Thummeepak, R.; Kongthai, P.; Leungtongkam, U.; Wannalerdsakun, S.; Sitthisak, S. (2017). Biofilm formation of methicillin-resistant Coagulase Negative Staphylococci (MR-CoNS) isolated from community and hospital environments. *PloS one*, **12**(8), 0184172-0184183.

- Singh, S.; Sebastian, S.; Dhawan, B. (2016). The changing Face of Coagulase-Negative Staphylococci: diagnostic and therapeutic challenges. *Manipal J. Med. Sci.*, **1**(1), 29-37.
- Soumya, K.R.; Philip, S.; Sugathan, S.; Mathew, J.; Radhakrishnan, E.K. (2017). Virulence factors associated with Coagulase Negative Staphylococci isolated from human infections. *3 Biotech*, **7**(2), 140.
- Stepanović, S.; Dakić, I.; Djukić, S.; Lozuk, B.; Svabić-Vlahović, M. (2002). Surgical wound infection associated with *Staphylococcus sciuri*. *Scandinavian. J. Infect. Dis.*, **34**(9), 685-686.
- Stepanović, S.; Dakić, I.; Martel, A.; Vaneechoutte, M.; Morrison, D.; Shittu, A.; Ježek, P., Decostere, A.; Devriese, L.A.; Haesebrouck, F. (2005). A comparative evaluation of phenotypic and molecular methods in the identification of members of the *Staphylococcus sciuri* group. *System. and Appl. Microbiol.*, **28**(4), 353-357.
- Tille, P. (2017). "Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology". 14<sup>th</sup> ed. Elsevier. St. Louis, Missou. USA.
- Vanaparti, N.; Sadawarte, K. (2019). Medically important Coagulase- Negative Staphylococci. *Int. J. Clin. Biomed.*, **5**(2), 1-8.

---

## Detection of Coagulase-Negative Staphylococci (CoNS) in some Pathogenic Samples and Medical Devices and Determining Their Antibiotic Resistance Pattern

**Ahmed A. Hammadi**

**Mohsin A. Essa**

*Department of Biology / College of Science/ University of Mosul*

### ABSTRACT

This study was conducted to detection of bacterial types belonged to (CoNS) group from pathogenic sources and medical devices and studying the pattern of their resistance to different antibiotics. 120 samples (pathogenic samples, surgical instruments and tools) were collected from some hospitals in Mosul city for the period from August 2019 until January 2020, Various diagnostic methods were used, which included phenotypic methods (Cultural, microscopic and biochemical) and the use of the Api Staph system, and Vitek system. The sensitivity of the isolated bacteria to (12) antibiotics was tested.

The CoNS bacterium group was isolated from all studied sources and (37) isolates were obtained, at a rate of (52.8%) of the total staphylococci, and it prevailed on *Staphylococcus aureus* in many cases, and the isolated species included *Staphylococcus epidermidis* (12 isolates 32.4%) followed by *Staphylococcus saprophyticus* (8 isolates 21.6%), then *Staphylococcus hemolyticus* and *Staphylococcus hominis* (6 isolates 16.2%) for each of them, then *Staphylococcus lentus* (3 isolates 8.1%) Finally, *Staphylococcus sciuri* (2 isolates 5.4%).

Antibiotic sensitivity results of CoNS isolates showed high resistance to Tetracyclin 89.1% (%), Penicillin (86.4%), Erythromycin 81%), and Oxacillin 78.3%), respectively, and in lower percentage to the rest of the studied antibiotics. Isolates are absolutely sensitive (100%) to the Vancomycin and high sensitivity for Ofloxacin (89.1%) and Novobiocin (72.9%). These results confirm the prevalence of different bacteria belonging to the CoNS group in the various pathogenic sources, and their health importance and severity associated with their high resistance to antibiotics.

**Keywords:** Staphylococci, CoNS group, Antibiotic resistance.