مجلة جامعة النهرين العلوم المجلد ١٥ العدد(٤) كانون الأول، ٢٠١٢ ص ٢٥-٣٠

الحمل الأنفي للعنقوديات الذهبية المقاومة للمثيسلين Methicillin - Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) في الطلاب الجامعيين الاصحاء

*** أمنه نصيف جاسم ، * هدى سهيل عبد و * شيماء عواد عبد**
*** قسم علوم الحياة – كلية العلوم للبنات – جامعة بغداد**
E-mail: amnansyif@yahoo.com.

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة للتعرف على معدل الحمل الانفي لبكتريا *Staphylococcus aureus* المقاومة للمثيسلين في مجتمع من الاصحاء، جمعت عينات انفية (nasal swabs) من ٢٠٠ طالب و طالبة في جامعة بغداد، زرعت على اوساط اختيارية و شخصت بأتباع الاجراءات التقليدية. عزلت ٤٤ عزلة من بكتريا *S. aureus*، وكانت النسبة المئوية للحمل الانفي لهذه البكتريا هي 22%. ومن نتائج فحص الحساسية لمضادات الحيوية بأستخدام طريقة الانتشار بالأقراص، تبين ان عدد العزلات المقاومة للمثيسلين هي ٢٩ عزلة (14.5%)، وكان معدل الحمل الانفي لعزلات MRSA اكثر في الاناث (18%) منه في الذكور (11%). وان عزلات MRSA قاومت مضادات الحيوية الاخرى وبنسب مئوية مختلفة، وقد اظهرت اعلى مقاومة لها لمضاد الحيوية البنسلين (100%)، الجنتامايسين (93.1%)، في حين اظهرت كل عزلات MRSA حساسية للكلورامفينكول والريفامبين.

Keywords: - *Staphylococcus aureus*, Nasal carriage, Methicillin – Resistant.

المقدمة

بكتريا العنقوديات الذهبية *Staphylococcus aureus* هي واحدة من أهم انواع البكتريا الممرضة للانسان، وهي مسبب شائع للأخماج المكتسبة في المستشفيات وفي المجتمع في hospital & community – acquired infectious انحاء العالم [١].

وأن استعمارها للانسان يحدث بصورة رئيسية في المنخر الامامي (anterior nares) وبنسبة ٤٠%، حيث يكون المنخر الامامي هو المستلم الاولي لهذه البكتريا في الاطفال والبالغين، وتقريباً شخص الى ثلاثة اشخاص في اي مجتمع عام يستعمرون من قبل هذه البكتريا في اي وقت [٢].

ويعتبر الحمل الانفي (Nasal carriage) عامل خطورة مهم لاخماج العنقوديات(Staphylococcal infections) [3،4]، وأكثر من ٨٠% من العزلات المخمجة وجد ان اصلها من الانف، كما وجد ان عملية أجتثاث او أيقاف الحمل الأنفي يزيل هذه البكتريا من مواقع الجسم الاخرى [5].

وبصورة عامة فأن معدلات الحمل الانفي بين المرضى والعاملين في المستشفيات (٦٠- ٧٠%) تكون اكثر أرتفاعاً مقارنة مع تلك التي تحدث بين الحاملين في المجتمع (٣٠ – ٥٠ %) [3].

وقد اصبح علاج الاخماج الناتجة من العنقوديات اكثر تحدياً مع ظهور عزلات من العنقوديات الذهبية مقاومة للمثيسلين (Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus* - MRSA) [4]، حيث يعتبر المثيسلين Methicillin والاوكساسلين Oxacillin بنسلينات مقاومة لانزيم البنسيلناز Penicillinase الذي تنتجه *S. aureus* ويتحدد استعمالها في معالجة الاصابات الناجمة عن المكورات العنقودية المنتجة لهذا الانزيم [6]. وتشكل هذه المقاومة خطراً كبيراً يهدد حياه المرضى المصابين بهذه العزلات وذلك لقابليتها على مقاومة أغلب انواع مضادات الحيوية المعروفة لعلاج أخماجها الشديدة، حيث ان الزيادة في الانتاج الانزيمي للبيتالاكتام β – Lactamase قد ترافقت بظهور مقاومة متعددة لمختلف انواع مضادات البيتالاكتام [7].

وقد اشتهرت العنقوديات الذهبية المقاومة للمثيسلين المرتبطة بالمجتمع Community – Associated Methicillin – Resistant Staphylococcus *aureus*

(CA – MRSA) كممرض مهم مرتبط بأفات الجلد، وأخماج النسيج الرخو، والتهاب نقي العظم، و أمراض القناة التنفسية السفلى، وقد ازدادت الاخماج الناتجة من العنقوديات الذهبية المقاومة للمثيسلين المرتبطة بالمجتمع (CA – MRSA) بشكل ملحوظ في السنوات الاخيرة، وهي الان تسبب اكثر من ٥٠% من الاخماج الكلية للعنقوديات الذهبية المكتسبة من المجتمع في بعض المراكز [8].

كما وجد ان سلالات MRSA المنتشرة حديثاً في المجتمع تمتلك صفات مايكروبايولوجية وجينية فريدة تسمح لها بالأنتشار بسهولة وتسبب امراض جلدية اكثر من السلالات المعزولة بشكل تقليدي من المستشفى [9]. والمعلومات عن معدل الحمل الانفي لهذه العنقوديات المقاومة للمثيسلين المنتشرة في المجتمع غير متوفرة لدى العديد من الدول وخاصة الدول النامية، وكذلك الحال بالنسبة لانماط حساسية هذه العزلات لمضادات الحيوية الاخرى ولهذا كان الهدف من هذه الدراسة

١. التحري عن انتشار الاستعمار الانفي للعنقوديات الذهبية المقاومة للمثيسلين في مجتمع صغير من البالغين الاصحاء ظاهرياً (طلبة الجامعة).
٢. تحديد انماط الحساسية لمضادات الحيوية الاخرى لهذه العزلات المقاومة للمثيسلين.

المواد و طرائق العمل

١ – ٢ الاوساط الزرعية

استعملت الاوساط الزرعية الاتية في الدراسة الحالية:

١-وسط المرق المغذي (Nutrient Broth – NB) :- وقد استعمل لتنمية العزلات البكتيرية وتنشيطها.

٢-وسط الاكار المغذي (Nutrient Agar – NA) :- وقد استعمل في تنقية وحفظ العزلات البكتيرية.

٣-وسط أكار المانيتول الملحي (Mannitol Salt Agar – MSA):- وقد استعمل في العزل والتشخيص الاولي لتنمية بكتريا *S. aureus*.

٤-وسط أكار مولر – هنتون (Mueller – Hinton Agar – MHA):- وقد استعمل لاجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية بطريقة الانتشار بالاقراص.

٥-وسط مرق مولر – هنتون (Mueller – Hinton Broth – MHB):- وقد استعمل لاجراء فحص الحساسية لمضادات الحيوية.

وقد حضرت كل الاوساط حسب تعليمات الشركات المجهزة، وضبط الرقم الهيدروجيني المناسب لها، ثم عقمت جميع الاوساط بالمؤصدة (Autoclave) على درجة حرارة ١٢١م° وضغط ١٥ باوند / أنج^{٢} و لمدة ١٥ دقيقة [١٠].

٢ – ٢ جمع العينات

جمعت ٢٠٠ عينة من أنوف طلبة جامعة بغداد الأصحاء ظاهرياً ومن كلا الجنسين (١٠٠ عينة أناث و١٠٠ عينة ذكور)، تراوحت اعمارهم مابين ١٩– ٢٣ سنة خلال شهري أيار وحزيران من سنة ٢٠١٠، وذلك بأستعمال المسحات القطنية المعقمة (Swabs (Sterile Cotton، حيث غمرت المسحات بالمحلول الملحي الفسيولوجي (0.85%) ودورت في الثقب الامامي للانف (Anterior nares of the nose) لمدة ٥ ثواني تقريباً، ثم أعيدت الى انابيب المحلول الملحي الفسيولوجي المعقم و نقلت الى المختبر مباشرة.

٣ – ٢ عزل البكتريا و تشخيصها

عزلت بكتريا *S. aureus* من عينات المسحات المأخوذة من أنوف الطلبة بزرعها على وسط اكار المانيتول الملحي (MSA)، وحضنت الاطباق على درجة ٣٧م° ولمدة ٢٤ ساعة، وقد اهملت كل المستعمرات التي ظهرت محاطة بمناطق وردية او حمراء (pink or red zones) وأختيرت فقط المستعمرات التي ظهرت بمناطق صفراء (yellow zones) (دلالة على تخمير سكر المانيتول الموجود في الوسط)، وأعيد زرعها بالتخطيط بعروة الناقل (Loop) على وسط الاكار المغذي (NA) للتأكد من نقاوتها.

العزلات المشكوك بأنها *S. aureus* تم تشخيصها بالأعتماد على الصفات التشخيصية لسنيث وجماعته [11]، والتي شملت: الصفات المظهرية للمستعمرات النامية على وسط (MSA)، صبغة غرام، فحص انتاج مختر البلازما الموجب Coagulase test، فحص انتاج الكاتالاز الموجب Catalase test، فحص انتاج اليورياز الموجب Urease test.

٤ – ٢ أختبار حساسية البكتريا لمضادات الحيوية

أستخدمت طريقة الانتشار بالاقراص(Kirby – Bauer disk diffusion method) لاختبار حساسية البكتريا *S. aureus* بأستعمال اقراص مضادات الحيوية الاتيه :
Oxacillin (1µg), Rifampin (5µg), Ciprofloxacin (5µg), Penicillin (10U), Gentamicin (10µg), Erythromycin (15µg), Chloramphenicol (30µg), Tetracyclin (30µg).
وحسب National Committe For Clinical Laboratory Standards (NCCLS) [١٢]، وقد استعمل مضاد الاوكساسيلين بدل المثيسلين لعدم توفره [١٣].
وأجري الأختبار كالأتي

١-حضر العالق البكتيري بأختيار ٤ – ٥ مستعمرات معزولة على وسط الأكار المغذي (NA) ونقلت الى انابيب تحتوي على ٥ ملليتر من مرق مولر – هنتون (MHB)، حضنت الانابيب على درجة ٣٧م° لمدة ٤ – ٦ ساعات لحين ظهور العكورة، وتمت مقارنة هذه العكورة مع عالق قياسي (انبوبة ماكفرلاند 0.5).

٢-غمرت ماسحة قطنية معقمة في العالق البكتيري وزرعت على وسط أكار مولر – هنتون (MHB) بالتخطيط بثلاثة اتجاهات للحصول على نمو متجانس، وتركت الاطباق لتجف مدة ١٥ دقيقة، ثم أضيفت اقراص مضادات الحيوية بأستعمال ملقط معقم، حضنت الاطباق بدرجة ٣٧م° لمدة ١٨ – ٢٤ ساعة.

٣-سجلت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط بالمليمترات حول كل قرص وقورنت بالمعدلات القياسية لقطر منطقة التثبيط للمضادات الحيوية حسب [١٢].

النتائج و المناقشة

من أصل ٢٠٠ عزلة جمعت من أنوف طلبة جامعة بغداد (ذكور واناث)، ثبت ان ٤٤ عزلة فقط تعود لبكتريا *S. aureus* وفقاً لنتائج الاختبارات التشخيصية، وبذلك كانت النسبة المئوية الكلية للحمل الانفي لهذا المجتمع الصغير من البالغين الاصحاء ظاهرياً هي 22% (٤٤/٢٠٠) كما في الجدول (١).

الجدول (١)

عدد الحاملين بالأنف لبكتريا *S. aureus* والنسبة المئوية للحمل الانفي في الاناث والذكور.

جنس الحاملين	عدد العينات	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية
أناث	١٠٠	٢٣	٢٣
ذكور	١٠٠	٢١	٢١
المجموع	٢٠٠	٤٤	٢٢

وعند أجراء فحص الحساسية لمضادات الحيوية لـ ٤٤ عزلة من بكتريا *S. aureus* معزولة من الحاملين بالانف وجد ان نمط الحساسية لمضادات الحيوية والموضح في الجدول (٢) يظهر معدل مقاومة عالية للبنسلين (100%)، لهذه العزلات يليه معدل المقاومة للجنتامايسين (86.3%)، والاوكساسيلين (65.9%)، في حين ظهر معدل واطيء من المقاومة للكلورامفينكول (4.5%)، وانعدمت المقاومة كلياً للريفامبين (0%) حيث كانت جميع العزلات حساسة له وكان عدد العزلات المقاومة لمضاد واحد فقط هي ٤ عزلات (9%)، ولم تكن هناك عزلات مقاومة لجميع مضادات الحيوية المستعملة ولكن لوحظ ظهور المقاومة لثلاث مضادات او اكثر في ٣٣ عزله (75%).

الجدول (٢)

نمط الحساسية لمضادات الحيوية لـ (٤٤) عزلة من بكتريا *S. aureus* معزولة من الحاملين بالأنف الذكور والاناث.

المضاد الحيوي	S عدد (%)	I عدد (%)	R عدد (%)	العدد الكلي

Oxacillin (1µg)	(11.3) 5	(22.7) 10	(65.9) 29	٤٤
Rifampin (5µg)	(100) 44	(٠) ٠	(٠) ٠	٤٤
Ciprofloxacin (5µg)	(٠) ٠	(81.8) 36	(18.1) 8	٤٤
Penicillin (10 U.)	(٠) ٠	(٠) ٠	(100) 44	٤٤
Gentamicin (10µg)	(4.5) 2	(9) 4	(86.3) 38	٤٤
Erythromycin (15µg)	(9) 4	(52.2) 23	(38.6) 17	٤٤
Chloramphenicol (30µg)	(15.9) 7	(79.5) 35	(4.5) 2	٤٤
Tetracyclin (30µg)	(43.1) 19	(13.6) 6	(43.1) 19	٤٤

Susceptible = S
Intermediate = I
Resistant = R

ومن ملاحظة نمط حساسية العزلات البكتيرية لمضادات الحيوية تبين ان النسبة المئوية الكلية للحمل الانفي للعزلات المقاومة للمثيسلين MRSA لهذا المجتمع الصغير من البالغين الاصحاء ظاهرياً هي 14.5% (200/29) موزعة بين الحاملين من الذكور والاناث (الجدول ٣).

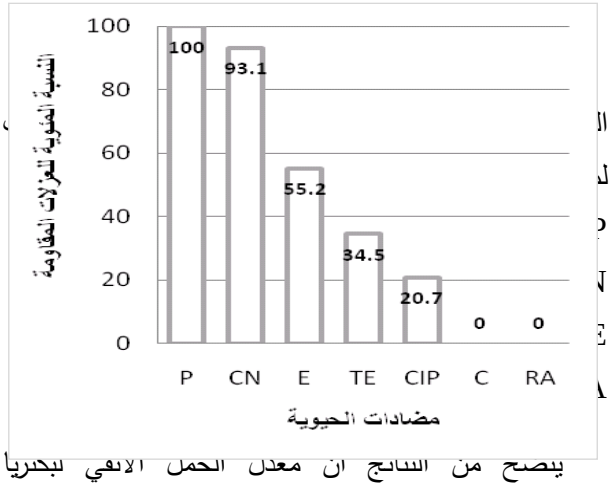
الجدول (٣)

عدد الحاملين بالأنف لبكتريا *S. aureus* المقاومة للمثيسلين والنسبة المئوية للحمل الانفي.

جنس الحاملين	عدد العينات	MRSA	
		العدد	النسبة المئوية
أناث	١٠٠	١٨	١٨
ذكور	١٠٠	١١	١١
المجموع	٢٠٠	٢٩	١٤.٥

كانت عزلات العنقوديات الذهبية المقاومة للمثيسلين (MRSA) مقاومة لمضادات الحيوية الاخرى بدرجات مختلفة و كالأتي :-

جميع العزلات (٢٩ عزلة) قاومت البنسلين (100%)، وكان عدد العزلات المقاومة للجنتامايسين ٢٧ عزلة (93.1%)، والمقاومة للارثرومايسين ١٦ عزلة (55.2%)، وللتتراسايكلين ١٠ عزلات (34.5%)، وللسبروفلوكساسين ٦ عزلات (20.7%)، في حين كانت جميعها حساسة للكلورامفينكول والريفامبين (الشكل ١). ولم تكن هناك اي عزلة من عزلات MRSA مقاومة لجميع مضادات الحيوية او عزلة حساسة لجميع مضادات الحيوية، وكان هناك عزلتان من الحاملين الذكور أحداهما قاومت خمسة مضادات والاخرى قاومت أربعة مضادات.



يتضح من النتائج ان معدل الحمل الانفي لبكتريا *S. aureus* لهذا المجتمع الصغير كان ضمن مدى مقبول مقارنة بأبحاث مشابهة في دول اخرى ومنها دول متقدمة [14، 15، 16]، والتي كان معدل الحمل الانفي فيها أعلى(32.4, 23.4 ,29%. علماً ان الاختلاف في معدلات الحمل الانفي لبكتريا العنقوديات الذهبية قد يكون بسبب أختلاف عينة المجتمع المدروسة او بسبب الاختلاف في تقنيات الزرع وكتب الدليل (guidelines) المستخدمة في البحث، ومع ذلك فأن معدل الحمل الانفي في هذه الدراسة لايمكن ان يعمم على المجتمع العراقي ككل لانه مجتمع مختار اقرب الى المجتمع المثالي مقارنة ببقية فئات المجتمع العراقي.

ومن خلال نتائج حساسية البكتريا المعزولة من الحاملين بالأنف لوحظ ان اكثر مضادات الحيوية التي قاومتها بكتريا *S. aureus* هي البنسلين الشائع الاستخدام في القطر والمستخدم على نطاق واسع في المستشفيات لعلاج الامراض المتسببة عن هذه البكتريا، حتى وان كانت امراضاً سهلة العلاج ولاتحتاج الى استخدام مضادات الحيوية، على الرغم

من ان حقيقة استعمال مضادات الحيوية بشكل واسع وبدون وصفة طبية أحياناً يؤدي الى ظهور عزلات مقاومة لها اصبحت معروفة ومؤكدة من قبل الاوساط العلمية [١٧]. وان انتاج بكتريا *S. aureus* لانزيمات البيتا – لاكتاماز – β Lactamase المثبطة لفعل البنسلين وراء مقاومتها العالية لهذا المضاد، وبصورة عامة فأن عزلات *S. aureus* المعزولة من المجتمع تكون اكثر حساسية لمضادات الحيوية التي لا تنتمي الى مجموعة البيتا – لاكتام – non – β Lactam antibiotics مقارنة بتلك المعزولة من بيئة المستشفى [12،١٨،15].

كان معدل الحمل الانفي لعزلات MRSA في هذا المجتمع الصغير عالياً مقارنة مع معدلات الحمل الانفي لمجتمعات مشابهة في دول أخرى [14، 15، 16] حيث بلغت (0.84, 62.5, 0.28)%، وعلى الرغم من ان عزلات MRSA يكون التصاقها ضعيف بالغشاء المخاطي للانف مما يجعل عزلها من الانوف اكثر صعوبة [19]، ظهر هذا المعدل العالي في هذا المجتمع الصغير وهذا ربما يعزى الى الاستعمال المتكرر وعلى مدى طويل لهذا المضاد الحيوي في العراق وخاصة لدى هذه الفئات العمرية بالذات.

ويلاحظ أيضاً ان معدل الحمل لدى الاناث كان اكبر مما في الذكور، وقد وجدت نتائج مماثلة في دراسة اخرى [16]، في حين ان بعضهم لم يجدوا لجنس الحامل علاقه بمعدل الحمل [14].

References

[1] Heyman D. L., "Control of communicable diseases in man", 18th ed, Washington, DC: American public health association, 2004.

[2] Kaplan S. L., "Implications of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* as acommunity acquired pathogen in pediatric patients", Infect. Dis. Clin. North Am., 19:747 – 757, 2005.

[3] Davis K. A., Stewartt J. J., Crouch H. K., Florez C. E., Hospenthal D. R., "Methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) nares colonization at hospital admission and its effect on subsequent MRSA infections", Clin. Infect. Dis., 39: 776 – 782, 2004.

[4] Huang S. S., Platt R.,"Risk of methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* infection after previos infection or colonization", Clin. Infect. Dis., 36: 281 – 285, 2003.

[5] Wertheim H. F., Vos M. C., Ott A. et al., "Risk and outcome of nosocomial *Staphylococcus aureus* bacteremia in nasal carriers versus non carriers", Lancet., 367:703 – 705, 2004.

[6] Tortora G. J., Funke B. R. and Case C. L., "Microbiology an introduction", 8th Ed., New York.U.S.A., 2004.

[7] Thomas K. S., "Beta – Lactamase: New challenges for the clinical laboratory infection disease in clinical practice", 3(6): 436 – 471, 1995.

[8] Sattler C. A., Mason E. O. Jr., Kaplan S. L., "Prospective comparison of risk factors and demographic and clinical characteristics of community – acquired, methicillin – resistant versus methicillin – susceptible *Staphylococcus aureus* infection in children", pediatr.Infect. Dis.J., 21: 910 – 917, 2002.

[9] "CA–MRSA information for clinicians", Web site, Available at: http: //WWW.cdc.gov/ncidod/dhqp/ar mrsa – ca – clinician. Html. Accessed: 7 march 2006.

[10] Murray P.R., Baron E. J., Jorgensen J. H., Pfaller M. A., Yolken, R. H., "Manual of clinical microbiology", 8thed., Washington, DC: ASM Press, 2003.

[11] Holt H. G., Krieg N. R., Sneath P. A., Staley J. T. and William S. T., "Berge´s manual of determinative bacteriology", 9th ed., Williams and Wilkins Co. Baltimor, 1994.

[12] NCCLS, "Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: Fourteenth informational supplement", M 100 – S 14, Wayne, PA: NCCLS, 2004.

[13] Collee G., Fraser A. G., Marmion B. P. and Simmons A., "Makie and McCarthey practical microbiology", 14th ed, Churchill Livingston, New Yourk, U. S. A., 1996.

[14] Choi C. S., Yin C. S., Abu Bakar A., Sakewi Z., Naing N. N., Jamal F., Othman N., "Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* among healthy adults", J. Microbiol. Immunol. Infect., 39: 458 – 464, 2006.

students from Baghdad University (males and females). The isolates obtained from nasal swab cultured on selective media were identified by conventional microbiological procedures. Only 44 *S. aureus* strains were isolated, and the *S. aureus* nasal carriage percentage was 22%. The results of antibiotics susceptibility testing was performed using the disk diffusion method showed that 29 isolates of bacterium were resistance to methicillin (14.5%). Nasal carriage percentage of MRSA was in female (18%) more than it was in male (11%). MRSA isolates varied in their resistance to other antibiotics and showed high resistance to penicillin (100%), Gentamicin (93.1%). All MRSA isolates were sensitive to chloramphenicol and Rifampin.

[15] Norazah A., Lim V. K., Munirah S. N., Kamel A. G., "*Staphylococcus aureus* carriage in selected communities and their antibiotic susceptibility patterns", Med. J. Malaysia, 58: 255 – 261, 2003.

[16] Mainous A. G., Hueston W. J., Everett C. J., Diaz V. A., "Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus* in the united states", 2001 – 2002, Ann. Fam. Med., 4: 132- 137, 2006 .

[17] Millar M. R., Walsh T. R., Linton C. J., Zhang S., Leeming J. P., Bennett P. M., "Carriage of antibiotic – resistant bacteria by healthy children", J. Antimicrob, Chemother, 47: 605 – 610, 2001.

[18] Cheong Y. M., Fairuz A., Jegathesan M., "Antimicrobial resistance pattern of bacteria isolated from patients seen by private praetitioners in the klang valley", Singapore Med. J., 36: 43 – 46, 1995.

[19] Aly R., Shinefield H. R., Maibach H. I., "*Staphylococcus aureus* adherence to nasal epithelial cells: Studies of some parameters", In: Maibach H. I., Aly R., eds., Skin microbiology: relerances to clinical infections, New York: Springer – Verlag, 171 – 179, 1981.

Abstract

The present study was conducted to determine the prevalence of Methicillin – Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) of nasal colonization in healthy community. Two hundred nasal swabs were collected from