

تفاعلات صبغة بنفسج البلور مع عزلات سريرييه من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية

محمد لفته عطا الله ناصر

كلية العلوم / جامعة بغداد.

لخلاصة

نميت 100 عزله من بكتريا المكورات العنقودية الذهبية على وسط آغار بنفسج البلور منها 50 عزله عزلت من مناطق سطحية من الجسم وباقي العزلات هي عزلات من مناطق الجروح. اظهرت النتائج ان عزلة واحدة فقط من العزلات السطحية اعطت تفاعلا لونيا ارجوانياً اما باقي العزلات اعطت تفاعلا لونيا ابيضاً مع صبغة بنفسج البلور.

المقدمة

ذات التفاعل اللوني الابيض والاصفر (9،5). وبهذا التفاعل ربما يتم تحديد مصادر عزل هذه البكتريا.

المواد وطرائق العمل

١-المواد

العزلات البكتيرية: استخدم في هذه الدراسة 100 عزلة من عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية (الموجبه لفحص مجلط البلازما Coagulase). والتي جمعت من مراجعي أحد مختبرات التحليلات المرضية من مناطق سطحية ومناطق الجروح من جسم الأنسان .

الايوساط الزرعية: حضرت الاوساط الزرعية حسب تعليمات الشركة المجهزة وعدل الرقم الهيدروجيني لها ثم عقت بالموصده (autoclave) عند درجة حراره 121م وتحت ضغط باوند/ انجاً لمدة 15 دقيقة (ما عدا اوساط السكريات).

الايوساط الزرعية : هي

أغار فحص أنزيم محلل الدنا DNase agar

أغار المانيتول الملحي Mannitol salt agar

وسط آغار الدم Blood agar medium

الآغار المغذي Nutrient agar

مرق فحص أنزيم اليوريز Urase broth

٢- طرائق العمل

جمع وتشخيص العينات

جمعت العينات من مراجعي أحد مختبرات التحليلات المرضية. وزرعت جميعها على وسط آغار المانيتول الملحي وأنتخبت المستعمرات القادرة على تخمير هذا السكر ثم أخذت مسحة من هذه المستعمرات وصبغة بصبغة كرام ولوحظ الترتيب العنقودي للخلايا الموجبة لصبغة كرام. بعد ذلك

ان بكتريا المكورات العنقودية الذهبية من المسببات المهمة للاصابات الشائعة والمكتسبه من المستشفيات (2،1) والمسبب الثاني المهم لاصابات انتان الدم (Septicemia) بعد بكتريا *E.coli* (4،3) فضلا عن قدرتها على انتاج العديد من الذيفانات والبروتينات خارج خلويه (5) اذ تعد المسبب الثاني الاكثر شيوعا بين العوامل المسببة للتسمم الغذائي فيه تمتلك مجموعه من الذيفانات الثابته حراريا التي يرمز لها (SE) وتعني Stable Enzymes والتي يشفر لها من قبل جينات محمولة على الكروموسوم وان ذيفانات هذه البكتريا تختلف عن ذيفانات البكتريا الاخرى كبتريا القولون وضمان الكوليرا كونها لا تتطلب دخول البكتريا لحصول التسمم (6) هذا وتكمن اهميه المكورات العنقودية الذهبية في كونها مسؤوله عن عدد من الامراض كظهور الدامل وانتان الدم وذات الرئه واعراض متلازمة الصدمه الذيفانية والتهاب الاذن وظهور الحصف وغيرها (7) فضلا عن امتلاكها صفة المقاومه للعديد من المضادات الحيائية المستخدمه في العلاج فقد اصبحت مقاومه للعديد منها كمضادات البيتا لاكتام (8). ويعد التفاعل اللوني لبكتريا المكورات العنقودية الذهبية مع صبغة بنفسج البلور مؤشر على ان عزلات هذه البكتريا هي عزلات اختراقية او مكتسبة من المستشفيات اذ ان هناك ثلاثة تفاعلات لونية بين صبغة بنفسج البلور وعزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية، هي الارجواني، الابيض، والاصفر اذ ان التفاعل اللوني الارجواني يشير الى ان العزلات تكون ذات قدرة اكثر على اختراق المضيف واحتمالا اكثر في كونها مكتسبة من المستشفيات مقارنة مع العزلات

ونوع التفاعل اللوني الحاصل كما ان هناك علاقة بين عزلات المستشفيات والتفاعل اللوني الارجواني لذا فأن العزلات جميعها المستخدمة في دراستنا هي عزلات سطحية ولم تسبب اصابة مسبقة ما عدا عزلة واحدة من العزلات السطحية التي اعطت تفاعلا لونيا ارجوانيا والتي يعود سبب وجودها في هذه المناطق لحدوث تلوث مباشر او غير مباشر بهذه العزلة التي سببت اصابة مسبقة لهذا الشخص او لشخص اخر. كما وأن عزلات أصابات الجروح لاتعد عزلات أختراقية بل هي عزلات سطحية المصدر وجاءت ملوثة لأصابات الجروح.

علما يعود سبب حصول التفاعلات اللونية بين عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وصبغة بنفسج البلور لحصول تفاعل ترسيب بين الصبغة وأماكن ارتباط على سطح خلايا البكتريا مما يؤدي الى تكوين مواد مترسبة (deposits) بنفسجية أو صفراء أو بيضاء اللون بعد حضن الأطباق الملقحة ببكتريا المكورات العنقودية الذهبية لمدة ٢٤ ساعة وعند درجة ٣٧م (١١، ١٢).

جدول (١)

الاختبارات التشخيصية الكيمو حيائية *S.aureus*.

نسبة الاختبار (%)	الصفة
١٠٠%	انتاج صبغة الكاروتين
١٠٠%	انتاج انزيم مجلط البلازما
١٠٠%	انتاج انزيم محلل الدنا
١٠٠%	انتاج انزيم الكاتاليز
zero%	انتاج انزيم الاوكسيديز
١٠٠%	النمو بتركيز ملحي ١٠%
١٠٠%	النمو بتركيز ملحي ١٥%
انتاج الحامض هوائيا من السكريات :	
zero%	*دي زايلوز
١٠٠%	*دي مانيتول
١٠٠%	*دي تريهالوز
١٠٠%	*دي كالكنتوز
١٠٠%	*دي مانوز

جدول (٢)

فحصت قابليتها على أنتاج أنزيم مجلط البلازما وقابليتها على أنتاج صبغة الكاروتين على وسط أغار الحليب. ثم أكملت باقي الأختبارات التشخيصية الكيموحيائية جدول (١). وحسب ماجاء في (٧).

تحضير الصبغات والكواشف واوساط السكريات

حسب ما جاء في (٧) .

تفاعل بنفسج البلور

زرعت العزلات جميعا على وسط الأغار المغذي لمدة ٢٤ ساعة وعند درجة ٣٧م ثم نقلت الى وسط الأغار المغذي الحاوي على نسبة ١:١٠٠٠٠٠ من صبغة بنفسج البلور باستخدام عروة الناقل المدوره وبقطر زرعي ٥ ملم. حضنت الاطباق عند درجة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة. تم فحص التفاعلات اللونية الناتجة بين المستعمرات وصبغة بنفسج البلور.

النتائج والمناقشة

التشخيص: تم اعتماد الصفات الزرعية والشكلية والانزيمية والكيموحيائية لتشخيص العزلات اذ تم اعتماد العزلات ذات النتائج الأتية وحسب ما جاء في(7). وكما مبين في جدول(١).

التفاعل اللوني مع صبغة بنفسج البلور

اظهرت النتائج ان عزله واحدة فقط من العزلات السطحية اعطت تفاعلا لونيا ارجوانيا مع صبغة بنفسج البلور اما باقي العزلات السطحية فأعطت تفاعلا لونيا ابيضا. في حين عزلات الجروح جميعها اعطت تفاعلا لونيا ابيضا. جدول (٢). يلحظ من خلال النتائج قلة ظهور التفاعل اللوني الارجواني وكثرة التفاعل اللوني الابيض وغياب التفاعل اللوني الاصفر بين عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية وصبغة بنفسج البلور، فقد جاءت النتائج بصورة لا تتفق مع ما اشار اليه(٩، ١٠) على ان التفاعل اللوني الارجواني هو اكثر شيوعا والتفاعلات اللونية الاخرى (الابيض، والاصفر) تأتي بدرجة اقل وانه لا توجد اختلافات في نمط التفاعلات اللونية بين العزلات التي اخذت بدراسته والمعزولة من عدة مناطق اذ اظهرت النتائج الحالية العكس اذ ان العزلات السطحية جميعا اعطت تفاعلا لونيا ابيضا ما عدا عزلة واحدة من العزلات السطحية اعطت تفاعلا لونيا ارجوانيا وبالتالي فان هذه النتائج جائت مطابقه مع ما جاء به (٦) على ان هناك علاقة بين المناطق التي عزلت منها العزلات

CAPD peritonitis bone/ Joint infections and healthy nasal carriers J. Med. Microbial. 47, 1999. 265-274.

- [10] Hudson SJ, Freeman R, Burdett D, Cookson B D. Crystal violet reactions of *Staphylococcus aureus* stains colonizing infants in the first six weeks. *Epidemiol. infect.* 110, 1993. 79-86.
- [11] Marsalek E. Hajek V. The classification of pathogenic *Staphylococci*. In Jeljaszewicz. J. ed. *Staphylococci and Staphylococcal infections* Basel: S. Karger 1974. 30 – 7.
- [12] Naidu AS, Jimenez J, Roloff J, et al Crystal Violet binding , cell surface properties and extracellular enzyme profiles of *Staphylococcus aureus* producing Toxic shock syndrome toxin 1–zbi Bakt 271, 1989. 11–24.

Abstract

One hundred isolates of *Staphylococcus aureus* were cultivated on crystal violet agar. fifty isolates were isolated from superficial sites and the other fifty isolates were isolated from wounds sites. one isolate from superficial isolates gave purple reaction with crystal violet stain. While the all remain isolates gave white reaction.

العلاقة بين العزلات السطحية وعزلات الجروح والتفاعلات مع صبغة بنفسج البلور لـ ١٠٠ عزله من عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية.

التفاعل مع صبغة بنفسج البلور (عدد العزلات)			مناطق العزل
الارجواني	الابيض	الاصفر	
1(2%)	49(98%)	Zero (zero %)	عزلات سطحية
Zero(zero%)	50(100%)	Zero (zero %)	الجروح

References

- [1] Sheagren, J. N. *Staphylococcus aureus* the persistent pathogen. *N. Engl. J. Med.* 310, 1984,1368 - 1373, 1437 – 1442>
- [2]Eykyu, S. J. Grandsden, W. R; Phillips, I. The causative organisms of septicemia and their epidemiology. *J. Antimicrobe. Chemother.* 25, 1990, 41-58.
- [3] Gemmeli, G. C. The *Staphylococcus*– new features 100 years after it is discovery. *J. Infect.* 4, 1982, 5-15.
- [4] Vesikari T. Isolauri E. Tuppurainen N. etal. Neonatal septicaemia in Finland 1981- 85. *Acta paediatr scan*; 78, 1980: 44-50.
- [5] Tranter, H. S; Brehm, R. D. The detection and etiological significance of staphylococcal enterotoxins. *Rev .Med. Microbial.* 5, 1994, 56-64.
- [6] Freeman R; Hudson, S .J. and Burdett. Crystal violet reactions of fresh clinical isolates of *Staphylococcus aureus* from two British hospital .*Epidemiol .Infect.*105 , 1990 , 493-500.
- [7]Cruickshank, R.; Duguid, J. P.; Narmion, B. P. and Swair, R. H. A. (1975). *Medical microbiology.* 12th. Ed .Vol. 11. Churchill living stone.
- [8] Andrew E. Simor, etal. Department of Microbiology, Sunny brook Health Sciences Center, B 103–2075 Bayview Avenue, Toronto, Ontario, Canada. 19 August. 2007. Internet.
- [9] AL Wali, W. I; Elvin, S. J.; MASON, C. M, CLARK, A. and TRANTER, H. S. Comparative phenotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from Line and non-Line associated–septicemia,