Iraqi Journal of Science

تأثير درجات الحرارة و pH في التصاق جرثومة *Staphylococcus aureus* على الأسطح المعدنية والبوليميرية والزجاجية

رشيد محجوب مصلح وخلود نوري سعيد
قسم علوم الحياة- كلية العلوم- جامعة بغداد، بغداد- العراق

الاستلام 2002/11/20 القبول 2004/6/16

الملخص

تم عزل وتنقية عزلات منتجة للمحفظة والمادة اللزجة وأخرى غير منتجة لها لجرثومة المكورات الذهبية (*S. aureus*) ملوثة لمرضى وبيئة المستشفيات المحلية. درس تأثير درجات الحرارة وقيم باء هاء المختلفة في التصاق سلالتين مختلفتين على أربع اسطح لمواد تصنع منها الأدوات والعدد والمستلزمات الطبية والجراحية. أظهرت النتائج ان كلتا السلالتين لم تتمكنا من الالتصاق على سطح الزجاج عند درجة 40 م كما ان السلالة المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة لم تتمكن من الالتصاق على سطح متعدد رباعي فلورو ايثيلين (Polytetrafluoroethylene) في حين لم تتمكن السلالة غير المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة من الالتصاق على سطح متعدد اليوريثان (Polyurethane). في درجة حرارة 4 مئوية لم تلتصق السلالة المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة على الزجاج في حين ان غير المنتجة لهما لم تتمكن من الالتصاق على اي من الاسطح الاربعة. عند درجة حرارة 25 مئوية التصقت السلالتان على كل الاسطح لكن بدرجات متفاوتة وعند قيم باء هاء5 و 6 و 7 و 8 تباينت بشدة عملية الالتصاق على الاسطح حيث اعاقت بعض هذه القيم التصاق الجرثومة بالاسطح.

Effect of Temperature and pH on *S. aureus* Adherence to Metallic, Polymeric and Glass Surfaces

Abstract

Capsulated, slimed strain and unencapsulated unslimed strain of S. aureus isolated from hospital were studied for their adherence to four nonbiological surfaces at different values of temperature and pH. At 40°C both strains were unable to adhere to glass surfaces, moreover capsulated and slimed strain not adhere to polytetrafluorethylene surface, while uncapsulated unslimed strain did not adhere to polyurethane surface. At 40°C temperature capsulated slimed strain did not adhere to glass surface, whereas uncapsulated unslimed did not adhere to any of the four surfaces, 25°C was optimum temperature for two strains to adhere all four surfaces but in different levels. Different values of pH (5, 6, 7) acted differently on bacterial adherence to surfaces and some of these values prevented completely adherence to surfaces.

المجلة العراقية للعلوم، المجلد46، العدد1، 2005 ، الصفحة 90-94

المقدمة

يعد تلوث المستشفيات بالجراثيم الممرضة ومنها مستشفياتنا من أهم المشاكل الصحية في كل انحاء العالم. ومن الصعوبات التي تواجه السيطرة على هذه الجراثيم داخل المستشفيات هي قابلية هذه الجراثيم خاصة *S. aureus* للالتصاق بالاسطح الحية وغير الحية، أذ تلتصق هذه الجرثومة بشدة بأجسام المرضى والكادر الطبي وبالأسرة والمفروشات والجدران والمغاسل وبالأدوات والعدد الطبية والجراحية والخدمية [1,2,3].

وعملية الالتصاق تتأثر بصفات سطح الجرثومة وسطح الالتصاق والعوامل البيئية المحيطة خاصة درجة الحرارة باء هاء باعتبار عملية الالتصاق عملية كيموفيزيائية بين السطحين خاصة وان الجرثومة تفرز مواد سكرية وبروتينية (Exopolymers) لتثبت نفسها بالسطح حيث تتأثر هذه المواد بتغيرات درجة الحرارة باء هاء [4,5,6]. بالاضافة الى ان المجاميع الكاربوكسيلية والامينية والفوسفاتية لسطح الجرثومة تتأثر بقيمة باء هاء ودرجة الحرارة وبذلك تتأثر شحنة السطح وعملية الالتصاق[7]. وعموماً فان درجة الحرارة العالية ضمن مدى نمو الجرثومة تأثر على الجانب الكيميائي من العملية ودرجات الحرارة المنخفضة على الجانب الفيزيائي خاصة لزوجة البوليميرات المساعدة على الالتصاق[8]. وفي مستشفياتنا تستخدم عدد وأدوات جراحية مصنوعة من الفولاذ والزجاج والبلاستيك (بوليميرات) كما تتلوث بيئة المستشفيات بشكل كبير بجرثومة *S. aureus* لذلك هدفت هذه الدراسة لمعرفة تأثير درجات الحرارة وباء هاء في التصاق هذه الجرثومة بأسطح هذه المواد حيث سببت هذه المواد الملوثة التهابات خطيرة جداً بعد العمليات الجراحية وغرز هذه العدد في جسم الانسان.

المواد وطرائق العمل

السلالات الجرثومية

باتباع الطرائق المثبتة في المراجع العلمية[9] تم جلب عينات من التهابات الجروح وأيدي الكادر الطبي والمرضى ومن بيئة المستشفى وزرعها على وسط الدم (Blood agar) بدرجة حرارة 37 مئوي لمدة 24 ساعة ثم نقيت المستعمرات وشخصت تبعاً لصفاتها الشكلية والبايوكيميائية[9,10].

كما تم التفريق بين السلالات المنتجة للمحفظة والمواد اللزجة وغير المنتجة لها باتباع طريقة SSA (Soft Serum Agar) وطريقة MTM (Micro Tube Method) وفق المرجع (11).

الالتصاق بالأسطح تحت درجات حرارة مختلفة

اعتماداً على الطريقة المثبتة في مرجع (5) ثم تنمية سلالة منتجة للمحفظة والمادة اللزجة واخرى غير منتجة لهما في وسط (Tryptic Soy Agar) لست ساعات عند درجة حرارة 37 مئوي.

بعدها رسبت الخلايا بالنابذ (Centrifuge) بسرعة 3000 (xg) لمدة عشر دقائق. غسل الراسب مرتين بدارئ الفوسفات الملحي عند باء هاء يساوي 7، ثم علق الراسب بنفس المحلول للوصول الى كثافة ضوئية مقدارها واحد على المطياف الضوئي عند طول موجي 540mm حيث يكون تركيز الخلايا مليار في المليلتر. حضرت قطع من مواد الفولاذ المقاوم للصدأ والزجاج ومادتي Polyure thane و Polytetra fluorothylene جلبت من الشركة العامة للمستلزمات الطبية. غمرت القطع على انفراد في العالق الجرثومي لكل عزلة. حضنت العوالق الجرثومية مع الاسطح لمدة ست ساعات على درجات حرارية 5 ,25 ,40 مئوي باعتبار هذه الدرجات هي التي تتعرض لها العدد والمستلزمات الطبية سيفاً وشتاءً او في الثلاجة في المستشفيات. احتسبت اعداد الخلايا الملتصقة على الاسطح بطريقة الباحث جاثير وجماعته[12] عمل الاختبار بثلاث مكررات واخذ معدل النتائج.

الالتصاق بالاسطح تحت قيم باء هاء مختلفة

اتبع نفس الاسلوب في تجربة درجات الحرارة بالتنمية والترسيب وتحضير العوالق البكتيرية تحت قيم باء هاء 5 و 6 و 7 و 8 وحضنها مع الاسطح عند درجة حرارة 37 مئوي لمدة ست ساعات وعد البكتريا الملتصقة على الاسطح بنفس الاسلوب.

النتائج والمناقشة

تم الحصول على سلالات من جرثومة *S. aureus* منتجة للمحفظة والمادة اللزجة واخرى غير منتجة لها. وانتقاء سلالة من كل مجموعة لدارسة تأثير درجة الحرارة و باء هاء على عملية التصاقها على الاسطح.

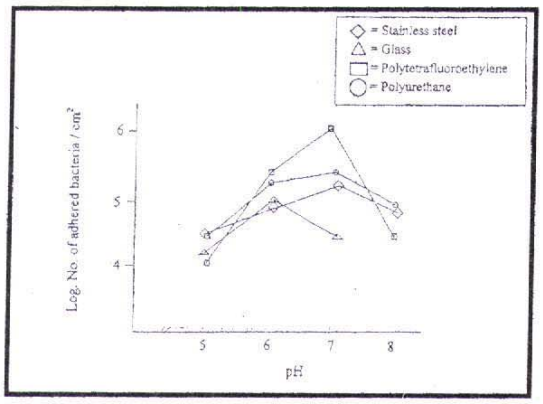
ويتضح من الشكلين 1 و 2 ان القيمة المثلى لـ باء هاء لالتصاق كلا السلالتين على كل الاسطح هي 7 ماعدا سطح

الزجاج في حالة السلالة المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة حيث كانت 6. كما ان هذه السلالة لم تلتصق على الزجاج عند قيمة باء هاء يساوي 8 في حين غير المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة لم تلتصق على الزجاج عند 5. كما ان التباين واضح في قوة جذب الاسطح للجرثومة من السلالتين. فالمادة البوليمرية Polytetrafluorethylene كانت الاكثر جذباً بين المواد الأربع للسلالة المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة عند باء هاء = 7 واصبحت الأقل جذباً بين المواد الأربع عند باء هاء يساوي 8. اما المادة البوليمرية الثانية Polyurethane على العكس كانت الاكثر جذباً بين المواد عند باء هاء يساوي 8 للسلالة المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة والاقل جذباً للسلالة غير المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة.

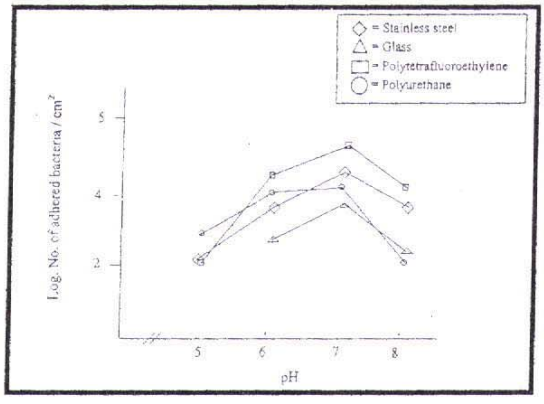
هذه النتائج تبين العلاقة الكبيرة بين قيمة باء هاء وعملية الالتصاق على الاسطح غير البايولوجية المختلفة لتأثير هذا العامل على صفات السطح خاصة الشحنات[7]، ذلك لحدوث تغيير في التفاعل الفيزيوكيميائي بين سطح الجرثومة والسطح الصلب[5,13]. ويشير بعض الباحثين الى ان القيمة المثالية لـ باء هاء لالتصاق الجراثيم الموجبة لصبغة جرام تنحصر مابين 5.5 و 7.5. كما ان الاسطح البوليمرية ذات الشحنات الموجبة تجذب اليها الشحنات السالبة (الاس الهيدروجيني المتعادل والقاعدي) فتزيد من عملية الامتصاص بينها وبين الجرثومة وعلى العكس منها السطح الزجاجي[8].

أما درجات الحرارة فدرجة الحرارة العالية 40 مئوي اعاقت التصاق السلالة المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة على سطح الزجاج وعلى سطح Polytetrafluoroethylene بينما السلالة غير منتجة للمحفظة والمادة اللزجة ايضاً لم تلتصق على الزجاج لكنها لم تلتصق على المادة البوليميرية الثانية Polyurethane (شكل 3 و 4). وعند التبريد أي درجة حرارة 4 مئوي (درجة حرارة الثلاجة) السلالة المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة لم تلتصق على كل الاسطح الاربعة (شكل 5). وعند درجة حرارية وسطية 25 مئوي التصقت السلالتين على كل الاسطح بدرجات متفاوتة حيث المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة الاشد التصاقاً كما تبقى فترة اطول ملتصقة بالاسطح مقارنة بالسلالة غير المنتجة للمحفظة والمادة اللزجة (شكل 6 و 7).

بما ان عملية الالتصاق عملية فيزوكيميائية لذلك تتأثر بالصفات الفيزيائية لسطح الالتصاق والبنية الكيميائية لكل سطح[12, 11,5] وبتغير درجة الحرارة فارتفاع درجة الحرارة يؤثر على العمليات الفيزيولوجية للجرثومة وبالتالي على عملية الالتصاق وانخفاض درجة الحرارة بالاضافة للتأثيرات على الجرثومة تأثر على لزوجة (Viscosity) المواد المساعدة على الالتصاق والتي تفرزها الجرثومة خاصة وان هذه المواد هي سكريات متعددة او بلورات بروتينية[8]. كما ان الصفات الكيميائية والفيزيائية لكل سطح تتأثر بتغير العوامل المحيطة بكل سطح وبالتالي تتغير قابليتها للصق البكتريا[13].

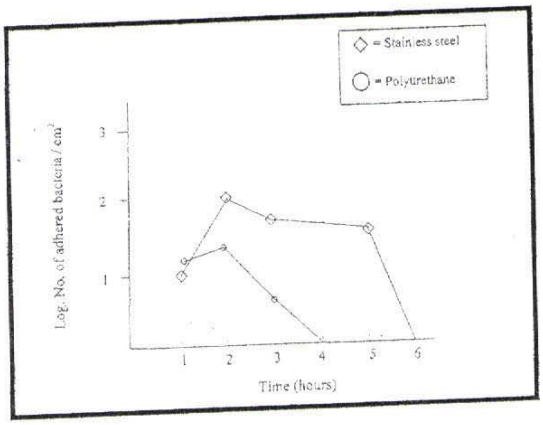


شكل (1): تأثير قيم مختلفة من باء هاء في التصاق السلالة المكونة للمحفظة والمادة اللزجة من جرثومة *S. aureus* على الاسطح الاربعة عند 37°C (العدد الابتدائي للبكتريا $10^9/cm^2$)

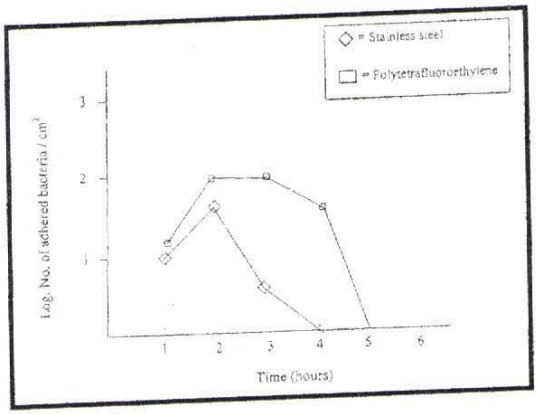


شكل (2): تأثير قيم مختلفة من باء هاء في التصاق سلالة غير منتجة للمحفظة والمادة اللزجة على الاسطح الاربعة عند درجة حرارة عند 37°C (العدد الابتدائي للجرثومة مليار على سم^2)

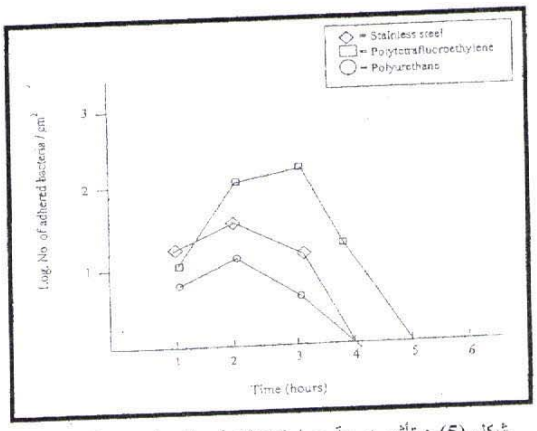
المجلة العراقية للعلوم، المجلد46، العدد1، 2005 ، الصفحة 90-94



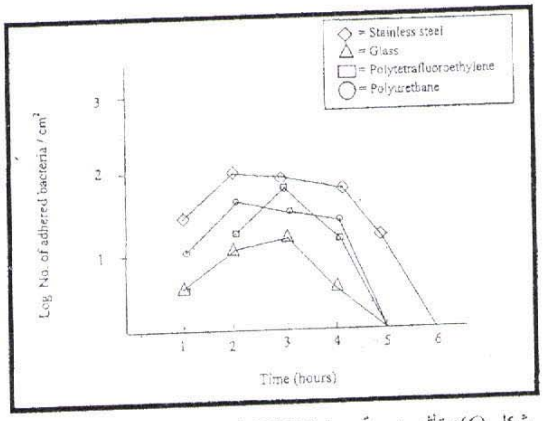
شكل (3): تأثير درجة حرارة 40°C في التصاق سلالة منتجة للمحفظة والمادة اللزجة على الاسطح الاربعة (العدد الابتدائي للجرثومة مليار على سم²)



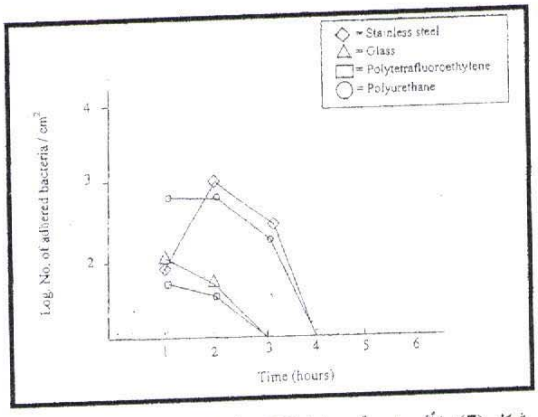
شكل (4) : تأثير درجة حرارة 40°C في التصاق سلالة غير منتجة للمحفظة والمادة اللزجة على الاسطح الاربعة (العدد الابتدائي للجرثومة مليار على سم²)



شكل (5) : تأثير درجة حرارة 4°C في التصاق سلالة منتجة للمحفظة والمادة اللزجة على الاسطح الاربعة (العدد الابتدائي للجرثومة مليار على سم²)



شكل (6): تأثير درجة حرارة 25°C في التصاق سلالة غير منتجة للمحفظة والمادة اللزجة على الاسطح الاربعة (العدد الابتدائي للجرثومة مليار على سم²)



شكل (7): تأثير درجة حرارة 25°C في التصاق سلالة غير منتجة للمحفظة والمادة اللزجة على الاسطح الاربعة (العدد الابتدائي للجرثومة مليار على سم²)

References

1. Pasdeloup, T. **1999**. *Infections due to foreign bodies*: primary prevention. Press Med. 28: 7-8.
2. Guillo, J. 2000. Nosocomial infections. Press Med. 30: 17-18.
3. Musleh, R. M. & Toma. S. H. **2001**. *Comparative studies on bacterial contamination of three major*. Iraq. J. Microb. 13: 46-59.
4. Marshall, K. C. **1984**. *Microbial adhesion and aggregation spring-verlag*. Berlin, Heidelberg, New York. Tokyo.
5. Fletcher, M. **1987**. *How do bacteria attach to solid surfaces*. Microb. Scien 4:133-136.
6. Black, J. **2000**. *Microbiology. Principles and applications*. Prentice Hall. New Jersey.
7. Vanhaecke, E., Patt, J. M. and Fernau, R. C. **1990**. *Influence of the pH on the number of adhering cells*. Appl. Env. Microbiol. 56: 788-795.
8. Fletcher, M. **1977**. *The effect of culture concentration and age, time and temperature on bacterial attachment to polystyrene*. Can. J. Microb. 23: 1-6.
9. Cruckshank, R., Collee, T. G., Fraser, A. G., Marmion, B. P. and Simmons, A. **1996**. *Practical medical microbiology*. 4th Ed. Churchill Liringstone.
10. Sneath, P. A., Mair, N. S., Sharp, M. E. and Holt, J. C. **1994**. *Bergy's manual of systematic bacteriology*. 9th Ed. PP: 544-551. Williams & Wilkins, Baltimore.
11. Christensen, G. D.; Simpson, W. A.: Bisno, A. L. and Beach, E. H. **1982**. *Adherence of slime-producing strains of S. epidermilis to smooth surfaces*. Infec. Immun. 37: 318-326.
12. Gatter, N.; Kohen, W. and Jansen, B. **1988**. *In vitro efficacy of a hydrophilic central venous catheter loaded with silver to prevent microbial colonization*. Zent. Bl. Bakteriol. 287: 157-169.
13. Berekley, R. C.; Lynch, J. M.; Melling, J.; Rutter, P. R.; Vinvent, B. **1980**. *Microbial adhesion to surfaces*. Fllis Horword Limited. U.S.A.