# دراسة بكتريولوجية لبكتريا المكورات المعوية المعزولة من حالات مرضية مختلفة

بسّام كريم خضير أ.م.د مهدي حسين

**الخلاصة:**

شملت الدراسة البكتريولوجية عزل بكتريا المكورات المعوية *Enterococcus* وتشخيص انوعها من نماذج مرضية مختلفة بلغت (196) عينة من المرضى الذين يعانون من اخماج مرضية مختلفة الوافدين الى مدينة الصدر الطبية ومستشفى الزهراء التعليمي في محافظة النجف الاشرف خلال المدة من 2010/7/1 الى 2010/12/1 اذ تم عزل (34) عزلة من بكتريا المكورات المعوية وبنسبة (17.3%) توزعت الى 22(15.9%) من الادرار و9(56.2%) من البراز و3(17.6%) من مسحات مهبل النساء ولم تعزل من عينات سائل النخاع الشوكي ، كما اجريت الدراسة على (2) عزلة معزولة من عينات الدم ليصبح عدد العزلات الكلي (36) عزلة موجبة ، كما بينت الدراسة ان النوع *E.faecalis* هو اكثر الانواع شيوعاً اذ شخص بنسبة (75%) يليه النوع *E.faecium* بنسبة (19.4%) ومن ثم النوع *E.gallinarium* بنسبة (5.6%) . تناولت هذه الدراسة ايضاً الكشف عن عوامل الضراوة التي تمتلكها هذه الجرثومة والتي تؤدي دوراً مهماً في امراضيتها حيث اثبت ان للبكتريا القدرة على انتاج الهيمولايسين Haemolysin والبروتيز Protease واللايبيز Lipase والبيتا لاكتاميز β-Lactamase وتكوين المحافظ Capsules وانتاج الانتيروسين وقدرتها على التلازن الدموي Haemagglutination مع بيان تأثير المانوز في عملية التلازن . ودرست ايضاً قابلية هذه الجرثومة على الالتصاق بالخلايا الظهارية البولية للانسان . كما اولت هذه الدراسة اهتماماً بدراسة خاصية رهاب الماء Hydrophobicity لجراثيم المكورات المعوية ، واظهرت نتائج الفصل بملح كبريتات الامونيوم ان النوع *E.faecalis* هو الاكثر امتلاكاً لخاصية رهاب الماء ثم النوع *E.faecium* في حين اظهر النوع *E.gallinarium* نتيجة سالبة لهذا الاختبار .

**المقدمة :**

تعد بكتريا المكورات المعوية Enterococci من الكائنات المجهرية التي تستوطن القناة المعدية المعوية Gastrointestinal tract وتجويف الفم Mouth cavity بالإضافة إلى وجودها بأعداد قليلة في المهبل Vagina والاحليل الذكري Male urethral كمتعايشات طبيعية Normal commensalism في الإنسان ، إن هذه الجراثيم تستطيع أن تسبب نطاق واسع من الأمراض إذا ما أصابت القناة البولية Urinary tract او المجرى الدموي Blood stream او التجويف البطني Abdominal cavity او قناة الصفراء Bile duct او جروح الحروق Burns wounds او جروح الآلات الحادة Intense instruments wounds (Gilmore *et al.*, 2002) . في وقتنا الحاضر أصبحت بكتريا المكورات المعوية تحتل المرتبة الثانية من بين أنواع الجراثيم الأخرى كمسببات مهمة للاخماج المكتسبة من المستشفى Nosocomial acquired infections والمقاومة للمضادات الحيوية المتواجدة حديثاً مما سببت الكثير من الصعوبات العلاجية ، كما أدى الاستخدام الواسع للمضادات الحيوية الى حدوث مقاومة حقيقية من قبل المكورات المعوية ، بالإضافة إلى قابلية هذه الجراثيم الطبيعية للاكتساب السريع للعناصر الكروموسومية التي تنتج صفة الضراوة سرعان ماتؤدي إلى زيادة الإصابة بأخماج المكورات المعوية حيث إن العديد من الأبحاث العلمية أثبتت قدرة هذه الجرثومة في إصابة المضائف الطبيعية وإحداث حالات التهاب خطيرة كالتهابات شغاف القلب Endocarditis ، والتجرثم الدموي Bacteremia ، وإصابات التجويف البطني والحوضي Abdominal and pelvic cavity ، واخماج القناة البولية Urinary tract infctions ، وتمتلك البكتريا القدرة على الالتصاق والاستيطان وغزو بعض المناطق من الجسم مما اعطى الفرصة الجيدة لهذه الجراثيم ذات الضراوة المنخفضة لان تصبح ممرضات انتهازية Opportunistic pathogens (Kau *et al.*, 2005) . ان أكثر من 90% من الإصابات التي تسببها جرثومة المكورات المعوية Enterococcal infections في الإنسان سببها سلالات *Enterococcus faecalis* والبعض الاخر تسببه سلالات *Enterococcus faecium* وبقية الاصابات تسببها الأنواع الأخرى (Baldassarri *et al.*, 2005) . وقد أوضحت العديد من التجارب على الحيوانات المختبرية قدرة هذه المكورات على إحداث العديد من الاخماج نتيجة امتلاكها عوامل ضراوة متعددة ، والتي يمكن تقسيمها إلى عوامل ضراوة إفرازية كالهيمولايسين Haemolysin والبروتييز Protease والهايلورينديز Hyaluronidase والبكتريوسين Bacteriocin والفيرمونات *Pheromones* واللايبيزLipase ، فضلاً عن البروتينات السطحية والتي تعرف بمواد التجمع Aggregation substances (A.S) والسكريات المتعددة للجدران الخلوية Cell wall polysaccharides ، كما بينت بعض الدراسات ان لها القدرة على إنتاج المحفظة Capsule (Sava *et al.*, 2010). إن جرثومة المكورات المعوية ونتيجة لكونها مسبب للاخماج المكتسبة من المجتمع والمستشفيات Hospital and community acquired pathogen اصبحت تشارك في زيادة عدد

الوفيات بالإضافة إلى إطالة مدة الرقود في المستفيات (Chowdhury *et al.*, 2009) ، وازدادت أهمية هذه الجرثومة ليس لما قد تسببه من أمراض خطيرة فحسب وانما لمقاومتها العديد من المضادات الحيوية ( Leavis *et al.*, 2006) ، وعلى الرغم من التطور الطبي الحاصل في حقل الأحياء المجهرية ، إلا إن حالات الإصابة بالممرضات الانتهازية والمسببة للاخماج المكتسبة ومن ضمنها جرثومة المكورات المعوية ما تزال مسببة للعديد من المشاكل الطبية ، وعليه ارتأينا الى اجراء دراسة محلية على هذه الجرثومة في قطرنا العزيز، ولتحقيق اهداف البحث درست المحاور الاتية :-

1- عزل وتشخيص جراثيم المكورات المعوية من نماذج مرضية مختلفة وتشخيصها على مستوى النوع .
2- دراسة عوامل الضراوة التي تشمل :-
- ❖ دراسة الصفات الإنزيمية .
- ❖ التحري عن وجود المحافظ .
- ❖ دراسة إمكانية التصاق الجرثومة على الخلايا الظهارية البولية للإنسان وخاصية رهاب الماء.
- ❖ دراسة قدرة الجرثومة على إحداث التلازن الدموي وتأثير سكر المانوز في عملية التلازن .

**المواد وطرائق العمل :**

الأوساط الزرعية المستخدمة في اختبارات تشخيص جرثومة المكورات المعوية

- وسط اختبار تحمل القاعدية Alkaline tolerance test medium حضر وسط مرق نقيع المخ-القلب حسب تعليمات شركة (Himedia)، ثم ضبط رقم الهيدروجيني عند 9.5 بإضافة 0.6 عياري هيدروكسيد الصوديوم وصب الوسط في أنابيب اختبار وعقم بجهاز الموصدة (Autoclave) وبدرجه حرارة 121°م ولمدة 15 دقيقة (Collee *et al*., 1996).

وسط اختبار تحمل الملوحة Salt tolerance test medium حضرهذا الوسط بإضافة 6.5 % من ملح كلوريد الصوديوم إلى وسط مرق نقيع المخ-القلب وصب الوسط في أنابيب اختبار ثم عقم بجهاز الموصدة وبدرجه حرارة 121°م ولمدة 15 دقيقة (Collee *et al*., 1996) .

وسط اختبار الحركة Motility test medium حضر الوسط حسب تعليمات شركة (Himedia) ثم صب في انابيب اختبار وعقم بجهاز الموصدة وبدرجه حرارة 121°م ولمدة 15 دقيقة استخدم الوسط في الكشف عن قدرة المكورات المعوية على الحركة (Langston *et al.*, 1960 ) .
وسط اختبار تحلل الأسكولين وتحمل املاح الصفراء تم استخدام الوسط الزرعي Bile salt esculin agar والذي تم تحضيره تركيبياً من مواده الاساسية وحسب ماورد في (Baron and Finegold, 1990).

وسط تخمر سكر الزايلوز والارابينوز حضر هذا الوسط باضافة 1% من الارابينوز والزايلوز إلى وسط نقيع مرق المخ - القلب كل على انفراد كما أضيف 1 مل من 0.006% غم من كاشف الفينول الاحمر وضبط الرقم الهيدروجيني عند 7 ووزع على أنابيب الاختبار وعقم بجهاز الموصدة Autoclave بدرجة121°م ولمدة 5 دقائق (Hanson and Cartwright, 1999).

وسط اختبار تخمر الكربوهيدرات حضر اكار احمر الفينول حسب تعليمات شركة(Himedia) وعقم بجهاز الموصدة بدرجة 121°م ولمدة 15 دقيقة ثم ترك في درجة حرارة الغرفة ليبرد الى درجة حرارة تتراوح بين 45-50 م° وأضيف له محاليل السكريات كل على انفراد وبنسبه 10% لكل محلول سكري معقم بالترشيح وبتركيز10% (Collee *et al.*, 1996) .

وسط اختبار تحمل املاح تيلوريت البوتاسيوم (0.04%) حضر1 لتر من وسط اكار نقيع المخ-القلب ثم ضبط الاس الهيدروجيني الى 6.0 وذلك باضافة HCl (0.1N) ، وعقم الوسط بجهاز الموصدة ثم ترك ليبرد الى درجة حرارة تتراوح بين 45-50 م° ثم اضيف اليه كل من 50 مل من دم انسان سليم ومحلول تيلوريت البوتاسيوم المعقم بالترشيح {0.5 غم من الملح في 150 مل من الماء المقطر} وحفظ في الثلاجة بعد صبه في الاطباق المعقمة لحين الاستخدام (Facklam, 1972) .

وسط اختبار انتاج الصبغات Pigments test medium استخدم وسط Trypticase soya agar لغرض الكشف عن قدرة المكورات المعوية على انتاج الصبغات (Pompel *et al.*, 1991) .

الوسط المحور ثلاثي الاختبار Three test modification medium استخدم هذا الوسط لغرض التشخيص الأولي السريع لجراثيم المكورات المعوية ويتضمن ثلاثة اختبارات كيموحيوية في وسط واحد وهي اختبار قابلية العزلات الجرثومية على تحلل الاسكولين، واختبار تحمل الملوحة ،واختبار الحركة ، وحسب المكونات الاساسية وكما ورد في (حناحنو ، 2002).

**العزل والتشخيص** : شخصت العزلات الجرثومية ، بالاعتماد على كل من Collee *et al.,* (1996) و MacFaddin (2000) وتم تحديد الصفات الزرعية والمجهرية والكيموحيوية .

الكشف عن عوامل الفوعة التي تمتلكها العزلات الجرثومية

التحري عن انتاج اللاييز Lipase استخدم الوسط الزرعي المستخدم في التحري عن انتاج اللاييز لهذا الغرض اذ تم تحضيره من مواده الاساسية وكما ورد في (Starr, 1941) ، ان ظهور هالة شفافة حول المستعمرات دلالة على ايجابية الفحص .

التحري عن انتاج البروتيز Protease تم استخدام ثلاث طرق في تحضير وسط التحري عن انتاج البروتييز:

- تم تحضير وسط Trypticase soya agar حسب تعليمات شركة (Himedia) وأضيف له 1.5% حليب خالي من الدهن وعقم الوسط بالموصدة وبدرجة حرارة 121°م ولمدة 5 دقائق وصب في الاطباق وترك ليتصلب ثم حفظ بالثلاجة لحين الاستخدام (Coque *et al*, 1995)

- حضر هذا الوسط بنفس الطريقة السابقة باستثناء استخدام 3% غم جيلاتين بدلا من الحليب وفي هذه الحالة يعرف هذا الإنزيم بالجيلاتينيز ( Coque *et al*., 1995)

- تم استخدام وسط أكار الحليب المقشوط Skim milk agar medium حضرالوسط حسب تعليمات شركة (Himedia) ثم عقم بجهاز الموصدة بدرجة 121°م ولمدة 5 دقائق وحفظ بالثلاجة بعد صبه في الاطباق المعقمة لحين الاستخدام (Elsner *et al*., 2000 ) ، ان ظهور هالة شفافة حول المستعمرات النامية في الاوساط المحظرة يدل على ايجابية الفحص .

الكشف عن انتاج الهيمولايسين Haemolysin

استخدم وسط اكار نقيع المخ-القلب المعقم والمحضر حسب تعليمات الشركة المجهزة (Himedia) والمضاف له 5% دم انسان ، لهذا الغرض حيث ان ظهور تحلل حول المستعمرات يدل على ايجابية الفحص . (Elsner *et al*., 2000) .

اختبار الكشف عن إنتاج البيتالاكتاميز استخدمت طريقة الأنابيب الشعرية المباشرة لهذا الغرض وحسب ماورد في (Koneman *et al*., 1992) ، حيث ان تلون الأنابيب الشعرية باللون الاصفر يدل على ايجابية الفحص.

اختبار الكشف عن تكوين المحفظة استخدمت طريقة التصبيغ بالحبر الهندي للكشف عن وجود المحفظة ، اخذ جزء من المستعمرة الجرثومية ووضعت على الشريحة الزجاجية وأضيفت اليها قطرة من الحبر الهندي ومزجت ثم نشر المزيج على سطح الشريحة وتركت لتجف وفحصت بالعدسة الزيتية (Bottone *et al*., 1998) . ان ظهور السلالات تحت المجهر على شكل مناطق مضيئة يدل على امتلاكها لهذا التركيب .

اختبار الكشف عن انتاج البكتريوسين اتبعت طريقة الانتشار في الاكار بواسطة الحفر في اختبار حساسية بكتريا الاختبار للرائق البكتيري، وحسب ماورد في (Libertin *et al*., 1992) .

اختبار التلازن الدموي بوجود وعدم وجود المانوز استعملت طريقة التلازن بالانابيب للكشف عن قدرة البكتريا في احداث التلازن الدموي وحسب ماورد في (Elsner *et al*., 2000) . كما أضيف 2.5% من المانوز الى محلول الفوسفات المنظم والمستخدم في تحضير العالق الجرثومي لسلالات العزلات المدروسة في هذا الاختبار لمعرفة تأثير المانوز في عملية التلازن .

الالتصاق على الخلايا الظهارية البولية استعملت الطريقة الواردة في (Lomberg *et al.*, 1986) للتحري عن قدرة البكتريا على الالتصاق على الخلايا الظهارية البولية المعزولة من الانسان .

اختبار الفصل بالملح Salting out test استخدم هذا الاختبار للتحري ودراسة خاصية رهاب الماء من قبل العزلات الجرثومية المدروسة بحسب ماورد في (Rozdzinski *et al.*, 2001) .

**النتائج والمناقشة :** العزل والتشخيص بلغ عدد العزلات التي تم الحصول عليها من مجموع 196 عينة مرضية مختلفة 34 عزلة ، توزعت مابين 22(15.9%) عزلة من 138 عينة ادرار و 9(56.2%) عزلة من 16 عينة براز و3(17.6%) عزلة من 17 مسحة مهبل ولم تعزل جرثومة المكورات المعوية من 25 عينة من عينات سائل النخاع الشوكي ، كما تم الحصول على عزلتين من حالات التجرثم الدموي من المختبر البكتريولوجي في مستشفى الزهراء التعليمي ليصبح عدد العزلات الكلي 36 عزلة ، كما اظهرت هذه الدراسة ان نسبة الاصابة الكلية بجراثيم المكورات المعوية بلغت 17.3% .

- الصفات الشكلية والمزرعية ونتائج الفحص المجهري

زرعت جميع العينات المرضية فضلاً عن عزلتي التجرثم الدموي على الاوساط الزرعية الانتخابية ، وشخصت أنواع عزلات المكورات المعوية في بادئ الأمر بدراسة الصفات المظهرية للمستعمرات النامية ، حيث ظهرت بشكل مستعمرات دائرية صغيرة ذات لون ابيض مائل الى الرمادي على وسط اكار الدم ووسط اكار الدم والازايد ، كما أظهرت البعض منها تحللاً كاملاً او جزئياً والبعض كانت غير محللة ، في حين بدت وردية اللون على وسط اكار الماكونكي الخالي من الكرستل فايوليت وذلك لتخميرها سكر اللاكتوز في الوسط ، ويعد وسط اكار الدم والازايد انتخابي لعزل جرثومة المكورات المعوية من العينات المرضية لاحتوائه على مادة أزايد الصوديوم المثبطة لنمو البكتريا السالبة لصبغة كرام ، كما ظهرت المستعمرات سوداء اللون على اكار الاسكولين واملاح الصفراء بسبب قدرتها على تحليل الاسكولين الى اسكولتين فضلا عن تحول لون الوسط تدريجياً من الاخضرالمصفر الى الاسود .اما نتائج الفحص المجهري فقد اظهرت مستعمرات البكتريا على شكل مكورات منفردة ومزدوجة وبعضها كان بشكل سلاسل قصيرة موجبة لصبغة كرام ( Facklam and Teixeira, 1997) .

- الاختبارات الاولية والكيموحيوية

اظهرت النتائج ان جميع السلالات كانت سالبة لفحوص الكتاليز وانتاج الصبغات والحركة وموجبة لفحوص تحمل الملوحة والقاعدية و تحلل الاسكولين وتحمل املاح الصفراء ، بالاضافة الى قدرتها على تحمل 0.04% من تيليوريت البوتاسيوم ، كما كانت جميع السلالات قادرة على النمو في درجات حرارة 10°م و45°م فضلاً عن قابليتها على تحمل 60°م ولمدة 30 دقيقة . اظهرت النتائج ايضاً ان سلالات النوع *E.faecalis* كانت مخمرة للكليسيرول وسكر الكلوكوز والمانوز والرايبوز واللاكتوز بنسبة 100% في حين تخمر باقي السكريات بنسب مختلفة ، و سلالات النوع *E.faecium* قد خمرت الكليسيرول وسكر الكلوكوز والمانيتول والارابينوز والسكروز والمانوز والرايبوز واللاكتوز بنسبة 100% ولم تخمر سكر الزايلوز والرافينوز والسوربيتول ، في حين كانت سلالتي النوع *E.gallinarium* مخمرة للكليسيرول والسكريات جميعها بأستثناء سكر السوربيتول وكما في الجدول (1) .

جدول (1) الاختبارات الاولية التشخيصية لجراثيم المكورات المعوية .

| ت | الاختبارات الاولية | *E.faecalis* | | *E.faecium* | | *E.gallinarium* | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | فحص الكتاليز | - | | - | | - | |
| 2 | تحمل الملوحة | + | | + | | + | |
| 3 | تحمل القاعدية | + | | + | | + | |
| 4 | تحمل 0.04% من تيليوريت البوتاسيوم | + | | + | | + | |
| 5 | تحلل الاسكولين وتحمل أملاح الصفراء | + | | + | | + | |
| 6 | تحمل 60°م لمدة 30 دقيقة | + | | + | | + | |
| 7 | النمو في 10°م و45°م | + | | + | | + | |
| 8 | تخمر الكربوهيدرات | العدد | % | العدد | % | العدد | % |
| 1.8 | كلوكوز | 27 | 100 | 7 | 100 | 2 | 100 |
| 2.8 | مانيتول | 20 | 74.1 | 7 | 100 | 2 | 100 |
| 3.8 | ارابينوز | - | - | 7 | 100 | 2 | 100 |
| 4.8 | سوربيتول | 22 | 81.5 | - | - | - | - |
| 5.8 | رافينوز | - | - | - | - | 2 | 100 |
| 6.8 | سكروز | 19 | 70.4 | 7 | 100 | 2 | 100 |

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 7.8 | كليسرول | 27 | 100 | 7 | 100 | 2 | 100 |
| 8.8 | زايلوز | - | - | - | - | 2 | 100 |
| 9.8 | مانوز | 27 | 100 | 7 | 100 | 2 | 100 |
| 10.8 | رايبوز | 27 | 100 | 7 | 100 | 2 | 100 |
| 11.8 | لاكتوز | 27 | 100 | 7 | 100 | 2 | 100 |
| 9 | انتاج الصبغات | - | - | - | - | - | - |
| 10 | اختبار الحركة | - | - | - | - | - | - |

* (+) تدل على ايجابية الفحص ، (- ) تدل على سلبية الفحص .

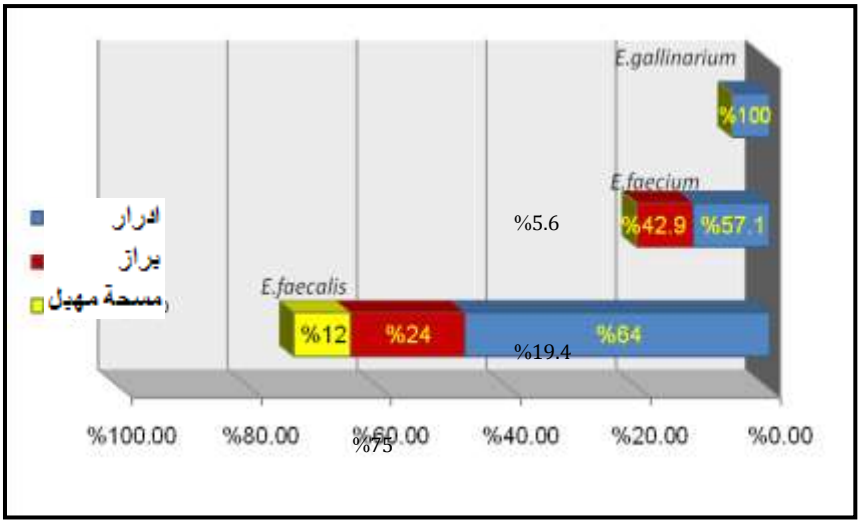


التشخيص بنظام .API 20 Strep تم تشخيص انواع سلالات المكورات المعوية المعزولة بأستخدام العدة الشخيصية الجاهزة API .20Strep كما في الصورة (1) ، حيث كانت 27(75%) عزلة تعود للنوع *E.facalis* موزعة كالتالي:{ 16(64%) عزلة من الادرار و6(24%) عزلة من البراز و3(12%) عزلة من المسحات المهبلية فضلاً عن عزلتي التجرثم الدموي} ، اما عزلات النوع *E.faecium* فقد كانت 7(19.4%) عزلة موزعة مابين :{ 4(57.1%) عزلة من الادرار و3(42.9%) عزلة من البراز}، كما شخصت 2(5.6%) عزلة من عينات الادرار وكانت جميعاً تعود للنوع *E.gallinarium* كما في الشكل (1) . اظهرت نسب عزل انواع جرثومة المكورات المعوية في هذه الدراسة ان النوع *E.faecalis* هو الاكثر تواجداً في العزلات

المرضية مقارنة مع الانواع الاخرى، وجاءت هذه النتيجة متفقة مع دراسة Zhanel *et al*., (2001) التي اشارت ان سلالات النوع *E.faecalis* تسبب 80-90% من الحالات المرضية الناتجة من جراثيم المكورات المعوية تليها سلالات النوع *E.faecium* والتي تسبب 5-10%من الاصابات المرضية اما بقية الانواع فهي قليلة التواجد.

الصورة (1) عدة التشخيص .API 20 Strep لتشخيص جرثومة المكورات المعوية .

كما اتفقت ايضاً مع الدراسات التي اكدت ان سلالات النوعين *E.faecalis* و*E.faecium* تشكل نسبة تصل الى 90% من الاصابات التي تسببها جرثومة المكورات المعوية بينما 10% فقط تسببه بقية الانواع ( Desai *et al*., 2001) .




الشكل (1) نسب عزل انواع المكورات المعوية من العينات المرضية .

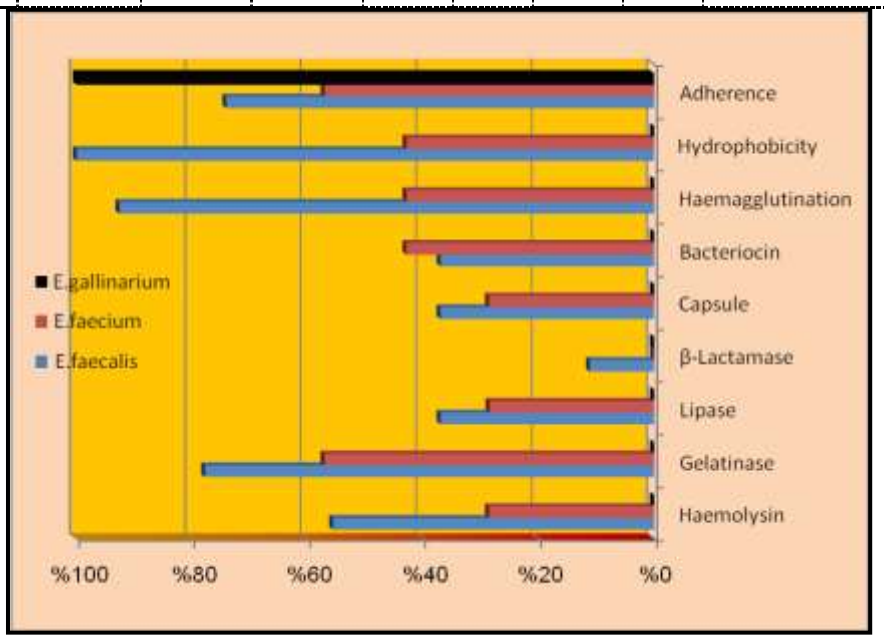
اختلفت نسب العزل في هذه الدراسة مع دراسة الباحث Dupre *et al.*, (2003) والذي اشار ان نسبة عزل سلالات النوع *E.faecium* كانت اعلى من سلالات النوع *E.faecalis* وربما يعزى هذا الارتفاع الى الاختلاف في نوع العينات حيث شملت دراسته ايضاً عينات سائل غسيل القصبات السنخية اذ عزلت منها بنسبة اكثر من 50% ، اما على المستوى المحلي فقد كانت نسب العزل موافقة لدراسة الباحثة حنا حنو (2002) و العزاوي (2008) حيث بينت هذه الدراسات ان سلالات النوع *E.faecalis* هي الاكثر عزلاً تليها سلالات النوع *E.faecium* ثم سلالات النوع *E.gallinarium* .

الكشف عن عوامل الفوعة الكشف عن انتاج الانزيم الحال للدم Haemolysin
اظهرت النتائج اختلافاً في نسب العزلات الجرثومية المنتجة للهيمولايسين ، حيث كانت 9 (25%) عزلة محللة للدم بشكل تام β-haemolysis و8 (22.2%) عزلة محللة بشكل جزئي α-haemolysis و19 (52.8%) عزلة لم تكن محللة γ-haemolysis وكما في الجدول (2) . وجاءت هذه الدراسة متفقة مع العديد من الدراسات التي بينت معظمها ان اغلب جراثيم المكورات المعوية غير محللة للدم والقليل منها تحلل الدم جزئياً والبعض الاخر كلياً (Manero and Blanch, 1999) . كما توافقت مع دراسة Hancock and Gilmore (2002) والتي بينت ان نسبة المكورات المعوية المحللة للدم بنوعية التام والجزئي تتراوح بين (45-60%) ، واتفقت ايضا مع دراسة العزاوي (2008) ودراسة حنا حنو (2002) والتي اوضحت ان نسبة هذه البكتريا المنتجة للهيمولايسين من نوع كاما تشكل الغالبية تليها تلك التي تنتجه من نوع بيتا ثم النوع الفا . اظهرت النتائج ايضاً ان سلالات النوع *E.faecalis* و*E.faecium* المحلله للدم بشكل كامل او جزئي قد شكلت النسب 55.5% و 28.6% على التوالي ، في حين كانت عزلات النوع *E.gallinarium* غير قادرة على تحليل الدم وكما في الشكل (2) ، وهذا يتفق مع العديد من الدراسات التي اكدت سيادة النوع *E.faecalis* على باقي الانواع في انتاجها لهذا الانزيم كدراسة Ike *et al.*, (1987) ودراسة Coque *et al.*, (2005) ، اما على المستوى المحلي فقد اتفقت ايضاً مع دراسة حنا حنو (2002) ودراسة مجيد (2006) ودراسة العزاوي (2008) . لم تتفق مع دراسة Desai *et al.*, (2001) والتي اشارت الى ان غالبية جراثيم المكورات المعوية كانت منتجة للهيمولايسين من نوع بيتا ، وقد اعزى الباحث ارتفاع نسبة انتاج الهيمولايسين الى التواجد المستمر لتلك العزلات مع الجراثيم المرضية الاخرى المنتجة لهذا الانزيم مما ادى الى اكتسابها صفة انتاج الهيمولايسين .

الجدول (2) عوامل الضراوة في جراثيم المكورات المعوية

| ت | عامل الضراوة | | *E.faecalis* | | *E.faecium* | | *E.gallinarium* | | المجموع | النسبة % |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | العدد | % | العدد | % | العدد | % | | |
| 1 | تحلل الدم | تام | 9 | 33.3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 9 | 25 |
| | | جزئي | 6 | 22.2 | 2 | 28.6 | 0 | 0 | 8 | 22.2 |

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 52.8 | 19 | 100 | 2 | 71.4 | 5 | 44.4 | 12 | غير محلل | | |
| 69.5 | 25 | 0 | 0 | 57.1 | 4 | 77.8 | 21 | انتاج الجيلاتينيز | | 2 |
| 33.3 | 12 | 0 | 0 | 28.5 | 2 | 37 | 10 | انتاج اللاييز | | 3 |
| 8 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11.1 | 3 | انتاج البيتالاكتاميز | | 4 |
| 33 | 12 | 0 | 0 | 28.6 | 2 | 37 | 10 | تكوين المحفظة | | 5 |
| 36.1 | 13 | 0 | 0 | 42.9 | 3 | 37 | 10 | انتاج البكتريوسين | | 6 |
| 77.8 | 28 | 0 | 0 | 42.9 | 3 | 92.6 | 25 | بوجود المانوز | التلازن الدموي | 7 |
| 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | بعدم وجود المانوز | | |
| 16.7 | 6 | 100 | 2 | 57.1 | 4 | 0 | 0 | محب للماء | الفصل بالملح | 8 |
| 83.3 | 30 | 0 | 0 | 42.9 | 3 | 100 | 27 | كاره للماء | | |
| 72.2 | 26 | 100 | 2 | 57.1 | 4 | 74.1 | 20 | الالتصاق على الخلايا الظهارية | | 9 |




الشكل (2) عوامل الضراوة في انواع جراثيم المكورات المعوية .

الكشف عن انتاج انزيم الجيلاتينيز Gelatinase

أوضحت نتائج هذا الاختبار ان هناك اختلاف في نسب انتاج هذا الانزيم ، اذ اظهرت النتائج ان 25 (69.5%) عزلة من جراثيم المكورات المعوية كانت منتجة لهذا الانزيم ، وتم قراءة النتيجة بتكون مناطق رائقة حول المستعمرات على وسط Trypticase soya agar الحاوي على الحليب وكذلك الوسط Skim milk

agar والذي اظهر ايضاً تخثر ابيض اللون على سطح اطباق الوسط بتأخر فترة الحضن ، وكانت النتائج موزعة وحسب الجدول (2) ، اذ كانت 21(77.8%) عزلة و4(57.1%) عزلة من عزلات النوعيين *E.faecalis* و *E.faecium*وعلى التوالي منتجة لهذا الانزيم في حين لم تتمكن عزلات النوع *E.gallinarium* على انتاجه وكما في الشكل (2) ، وجاءت هذه النتائج متفقة مع دراسة Hancock and Gilmore (2002) ودراسة Gulhan *et al.,* (2006) والتي اكدت على قابلية جراثيم المكورات المعوية على انتاج هذا الانزيم . كما اتفقت هذه الدراسة محليا مع دراسة حنا حنو (2002) ودراسة مجيد (2006) والعزاوي (2008) اذ اكدت هذه الدراسات ان عزلات النوع *E.faecalis* هي الاكثرة قدرة على انتاج هذا الانزيم تليه عزلات النوع *E.faecium* كما اشارت البعض منها الى افتقار عزلات النوع *E.gallinarium* القدرة على انتاج هذا الانزيم ، كما ان العديد من الدراسات لم تشر الى انتاج الجيلاتينيز في النوع *E.gallinarium* وربما يعزى ذالك الى ان اغلب الدراسات تركز على النوعيين *E.faecalis* و *E.faecium* بوصفهما المسببين المرضيين الاكثر شيوعاً في اصابات الانسان .

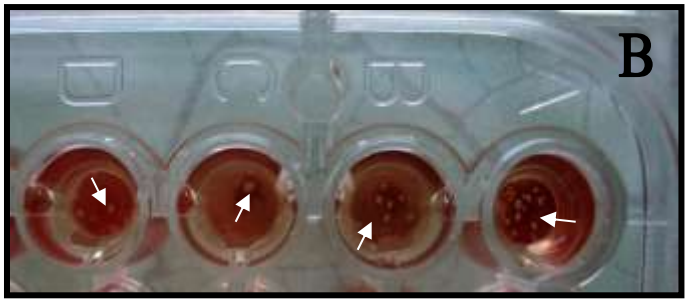
الكشف عن انتاج انزيم اللايبيز Lipase

اظهرت النتائج ان 12(33.3%) عزلة من جراثيم المكورات المعوية كانت منتجة لهذا الانزيم وكما في الجدول (2) ، توزعت بصورة مختلفة على انواع سلالات هذه الجرثومة ، حيث كانت 10(37%) عزلة من سلالات النوع *E.faecalis* و2 (28.5%) عزلة من سلالات النوع *E.faecium* منتجة لهذا الانزيم والتي تلونت باللون الازرق على وسط تحلل الدهون وكما في الشكل (2) . اتفقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة Elsner *et al.,* (2000) ودراسة حنا حنو (2002) ودراسة مجيد (2006) والتي اكدت سيادة النوع *E.faecalis* على الانواع الاخرى في قدرته على انتاج هذا الانزيم يلية النوع *E.faecium* ، اما عزلات النوع *E.gallinarium* فقد كانت سالبة لهذا الاختبار. لم تتفق هذه الدراسة مع مااشار اليه مجيد (2006) في ان1(14.28%) عزلة من عزلات النوع *E.gallinarium* كانت قادرة على انتاج هذا الانزيم وربما يعزى ذالك الى الاختلاف في طبيعة سلالات النوع الواحد .لكشف عن انتاج انزيم البيتالاكتاميز β-Lactamase اظهرت النتائج ان 3(11.1%) عزلة من عزلات النوع *E.faecalis* كانت موجبة لهذا الاختبار وكما في الجدول ( 2) اذ تغير لون المحلول في الانابيب الشعرية الى اللون الاصفر في حين كانت سلالات النوعيين *E.facium* و *E.gallinrium* غير منتجة لانزيم للبيتا لاكتاميز وكما في الشكل (2). جاءت هذه النتائج متفقة مع دراسة Patterson *et al.,* (1988) ودراسة Wells *et al.,* (1992) والتي اكدت قدرة بعض سلالات النوع *E.faecalis* على انتاج هذا الانزيم ولم تسجل اي عزلة من عزلات النوعيين *E.faecium* و *E.gallinarium* ايجابيتها لهذا الفحص، واشارت العديد من الدراسات على اقتصار وجود هذا الانزيم فقط في سلالات النوع *E.faecalis* والتي اشير اليها بالتسمية HH22 ، حيث تميزت بمقاومتها العالية لمضاد الجينتامايسين ، كما اشارت دراسات اخرى على اكتساب هذه الصفة لهذه الجراثيم من جنس جراثيم المكورات العنقودية (Lopardo and Blanco, 2007) . كشف عن تكوين المحفظة Capsule بينت النتائج ان السلالات اذا ظهرت تحت المجهر على شكل مناطق مضيئة فهذا يدل على امتلاكها لهذا التركيب ، كما تتميز المستعمرات الحاوية على المحافظ بقوامها اللزج على وسط اكار الدم في حين لاتظهر هذه الصفة على باقي الاوساط (Bottone *et al.,* 1998) . أوضحت نتائج هذا الاختبار في هذه الدراسة على قابلية جراثيم المكورات المعوية في تكوين هذا التركيب وبنسب مختلفة بين انواعها ، حيث كانت 10(37%) عزلة من سلالات النوع *E.faecalis* و2(28.6%) عزلة من سلالات النوع *E.faecium* تحتوي على المحفظة بينما افتقدت سلالات النوع *E.gallinarium* الى هذا التركيب وكما في الجدول (2) ، واتفقت هذه النتائج مع دراسة Huebner *et al.,* (1999) والتي اشارت الى قدرة سلالات النوع *E.faecalis* و سلالات النوع *E.faecium* على تكوين مستضدات المحفظة وسيادة النوع الاول على الثاني في امتلاك هذا التركيب ، كما اقتربت نتائج هذه الدراسة مع الدراسات المحلية كدراسة العزاوي (2008) ودراسة حنا حنو (2002) حيث اشارت الى امتلاك النوعين *E.faecalis* و *E.faecium* على هذا التركيب وافتقار النوع *E.gallinarium* له .لكشف عن انتاج البكتريوسين والنشاط ألتضادي بينت النتائج ان 13(36.1%) سلالة من سلالات المكورات المعوية قادرة على انتاج البكتريوسين وكما في الجدول (2) ، حيث ان 10(37%) سلالة من النوع *E.faecalis* كانت موجبة لهذا الاختبار ، اذ اظهرت هالة تثبيط واضحة على وسط اكار مولار هينتون وكما في الصورة (2) في حين اظهرت ثلاث سلالات (42.9%) للنوع *E.faecium* نتيجة موجبة ايضاً اما سلالات النوع *E.gallinarium* فكانت سالبة لهذا الاختبار وكما في الشكل (2) . كما اوضحت النتائج ان البكتريوسين المنتج يمتلك خاصية تثبيط عالية جداً ضد جرثومة النوع *Listeria monocytogenes* واقل اتجاه *Escherichia coli* . وجاءت هذه النتائج متفقة مع العديد من الدراسات التي اشارت الى قدرة جراثيم المكورات المعوية على انتاج البكتريوسين كما اوضحت ان سلالات النوع *E.faecium* هي الاكثر انتاجاً له مقارنة ببقية الانواع وانه يمتلك نشاط تثبيطي عالي اتجاه كل من الجراثيم *Listeria* و*Staphylococcus* و *Bacillus* و *Clostridium* و *Salmonella*

و*Pseudomonas* كما يتميز البكتريوسين المنتج بأنه ذو تأثير قاتل وعالي الادمصاص على سطوح الخلايا الجرثومية وخاصة النوع *L.monocytogenes* وبنسبة 87.5% ، فضلاً عن افتقار عزلات النوع *E.gallinarium* القدرة على اظهار هذه الصفة (Liu *et al.*, 2011) .

الصورة (2) توضح انتاج البكتريوسين في جرثومة *E.faecalis* بطريقة الانتشار في الاكار بواسطة الحفر على بكتريا *L.monocytogenes* .

اكدت العديد من الدراسات الحديثة ان البكتريوسين المنتج من هذه الجراثيم يتميز بكونه ثابت حرارياً حيث يستطيع ان يقاوم 100°م ولمدة 10 دقائق كما يمكن حفظه لمدة 12 شهر بدرجة -20°م ولوحظ ايضاً انه لايتأثر بجهود الاكسدة Oxidative stress ويقاوم مستوى حموضة بمدى 2-10، الا انه حساس اتجاه انزيمات الـ Protease مثل α-Chymotrypsin وProteinase K وTrypsin وPepsin كما ان انتاجه يقل عند تواجد الجراثيم المنتجة له في محيطات عالية الملوحة (Valenzuela *et al.*, 2010) .اختبار التلازن الدموي بوجود وعدم وجود المانوز تم استخدام فصائل الدم المختلفة للانسان للكشف عن قابلية الجرثومة على احداث التلازن الدموي ، حيث يعتبر هذا الاختبار احد الاختبارات الفعالة في الكشف عن امتلاك الجرثومة لِلّواصق المنتشرة على سطحها وطبيعة هذه اللواصق ، حيث تلعب الدور التمهيدي لأحداث الاصابة ( Elsner *et al.*, 2000). بينت النتائج وكما في الجدول (2) انه هناك اختلاف في نسب التلازن الدموي بين سلالات الانواع الثلاثة ، حيث كانت 25 (92.6%) عزلة من سلالات النوع *E.faecalis* لها القدرة على الالتصاق وتلزن كريات الدم الحمر خارج جسم الكائن الحي ، اما سلالات النوع *E.faecium* فكانت 3(42.9%) كانت ملزنة لفصائل الدم المختلفة ، في حين لم تبدي سلالات النوع *E.gallinarium* ايجابية لهذا الفحص وكما في الشكل (2) . جاءت هذه النتائج موافقة لدراسة Gulhan *et al.*, (2006) ودراسة Elsner *et al.*, (2000) والتي اوضحت ان سلالات لنوع *E.faecalis* كانت ملزنة لكريات الدم الحمر للانسان وبنسبة 97% ، اما على المستوى المحلي فقد اتفقت ايضاً مع دراسة حنا حنو (2002) ودراسة العزاوي (2008) والتي بينت ان سلالات النوع *E.faecalis* و *E.faecium* كانت موجبة لهذ الاختبار، واختلفت مع حنا حنو (2002) في ان سلالات النوع *E.gallinarium* كانت ايضاً موجبة لهذا الاختبار وربما يعزى ذالك الى الاختلاف في طبيعة سلالات النوع الواحد ، كما لم تتفق مع نتائج دراسة Carvalho and Teixeira (1995) التي اشارت الى عدم قدرة جراثيم المكورات المعوية على تلازن كريات الدم الحمر للانسان ، ويعود ذالك الى ازدياد وضوح هذه الصفة لتلك الجراثيم في السنوات القليلة الماضية ، كما اشار الباحثان ان السبب يرجع الى لاختلافات في نسب المستقبلات المتوفرة على سطح الجرثومة .




الصورة (3) توضح التلازن الدموي في جراثيم المكورات المعوية A- تُظهر سلبية الفحص عند المعاملة بـ2.5% من المانوز. B- تُظهر ايجابية الفحص حيث يُلاحظ ان الكريات المتلازنة تظهر حلقة ترسيب تملأ قاعدة الحفر.

كما اوضحت النتائج ايضاً ان جميع السلالات القادرة على تلازن كريات الدم الحمر للانسان تفقد قدرتها على التلازن عند معاملة هذه الجرثومة بالمانوز بتركيز 2.5% وكما في الصورة (3)، وهذا يدل على ان هذه المواد تتنافس على اللواصق السطحية المنتشرة على كامل سطح هذه الجرثومة وبالتالي تمنع من التصاق وتلزن كريات الدم الحمر عند معاملتها بالجرثومة المعاملة بالمانوز، ولذالك يشار اليها باللواصق الحساسة للمانوز ، وجاءت هذه النتائج متفقة مع العديد من الدراسات التي اوضحت ان تركيز 2.5% من المانوز يثبط عملية التلازن لكريات الدم الحمر بفعل انواع جرثومية عديدة وبالتالي يؤثر على عملية التصاقها بأنسجة المضيف (Chick *et al.*, 1981) . كما يمكن تثبيط عملية التلازن عند معاملة هذه الجرثومة بالتربسين حيث اشارت حنا حنو (2002) الى تثبيط عملية التلازن عند معاملة جراثيم المكورات المعوية به ، واعزت السبب الى ان بعض الملزنات السطحية لهذه الجرثومة ذات طبيعة بروتينية .

اختبار الفصل بالملح Salting out test تم اجراء هذا الاختبار للتحري عن قدرة سطوح الخلايا الجرثومية قيد الدراسة على احداث تفاعلات كارهة للماء تزيد من قابلية الالتصاق بخلايا انسجة المضيف ، من خلال الكشف عن خاصية رهاب الماء لسطوح خلايا سلالات المكورات المعوية ، وتمت قراءة النتائج بظهور تجمع للخلايا خلال دقيقة واحدة من اجراء الاختبار وعند اقل تركيز ملحي لمحلول كبريتات الامونيوم ( Styriak *et al.*, 1999) . ان الخطوة المهمة في حدوث الاصابة بهذه الجراثيم هي عملية الالتصاق التي تحدث بين مستقبلات خاصة على سطوح سلالات هذه الجراثيم مثل مواد التجمع Aggregation substances (AS) وحامض الليبوتيكوك Lipoteichoic acid (LTA) والبروتينات السطحية Enterococcal surface proteins (ESP) مع انسجة المضيف ، وقد تتوسط هذه العملية تفاعلات كارهة للماء وتفاعلات اخرى مشحونة ( George and Kishen, 2007) . أوضحت نتائج هذا الاختبار ان هنالك تبايناً بين سلالات الانواع المختلفة لجراثيم المكورات المعوية في قدرة سطوحها على احداث تفاعلات كارهة للماء وكما في الشكل (2) ، اذ ان 30(83.3%) سلالة من السلالات المدروسة كانت موجبة لهذا الاختبار عند تراكيز مختلفة من ملح كبريتات الامونيوم ، حيث اظهرت 25(92.6%) سلالة من النوع *E.faecalis* خاصية رهاب عالية للماء hydrophobicity Highly عند تركيز (0.2-0.01%) ، بينما أظهرت 2(7.4%) سلالة للنوع *E.faecalis* و3(42.9%) سلالة للنوع *E.faecium* خاصية رهاب للماء عند تركيز (1.5-0.2%) ، واشارت النتائج ان 4(57.1%) سلالة للنوع *E.faecium* و 2(100%) سلالة للنوع *E.gallinarium* اظهرت خاصية الألفة للماء حيث تجمعت الخلايا عند تركيز(1.5-4.0%) وكما في الجدول(2) والجدول (3)

الجدول (3) خاصية رهاب وألفة الماء لجراثيم المكورات المعوية .

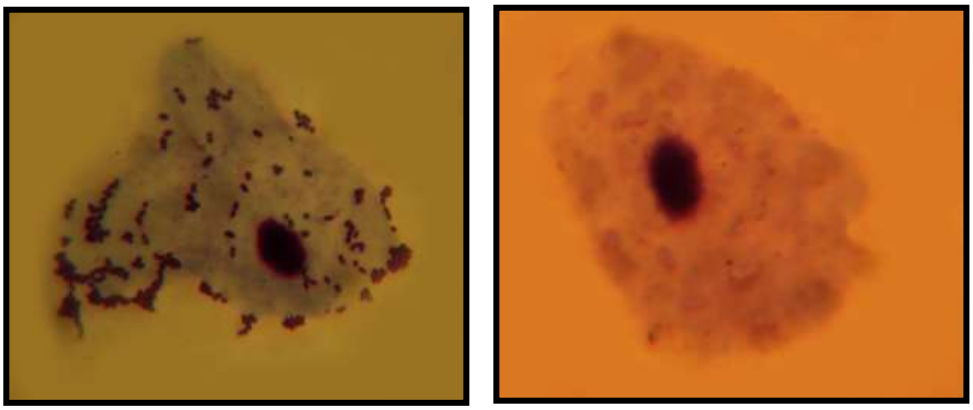
| ت | النـوع | تركيز ملح كبريتات الامونيوم | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | Highly hydrophobic %0.2-0.01 | Hydrophobic %1.5-0.2 | المجموع والنسبة | Hydrophilic %4.0-1.5 |
| 1 | *E.faecalis* | (%92.6)25 | (%7.4) 2 | (100) 27 | 0 |
| 2 | *E.faecium* | 0 | (%42.9) 3 | (%42.9)3 | (%57.1) 4 |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| 3 | *E.gallinarium* | 0 | 0 | 0 | (%100) 2 |
| 4 | المجموع | (%69.4) 25 | (%13.9) 5 | (%83.3)30 | (%16.7) 6 |

وجاءت هذه النتائج متوافقة تقريباً مع دراسة Zareba *et al.,* (1997) حيث اشار ان 34(77.3%) سلالة من سلالات جراثيم المكورات المعوية من مجموع 44 عزلة كانت تمتلك خاصية رهاب للماء، وكانت موزعة بين سلالات الانواع *E.faecalis* و*E.faecium* والتي اظهرت ايجابية لهذا الاختبار وبنسبة 100% و28.6% على التوالي ، كما اشار الباحث ان مواد التجمع AS والبروتينات السطحية ESP تعمل على زيادة خاصية رهاب الماء وتشجع من التصاق الجرثومة ببروتينات الحشوة الخارج خلوية(ECM) Extra cellular matrix ، كما أكد إن التصاق الجرثومة يكون عالي جداً بكل من البروتينات Vibronectin وThrombospondin و Lactoferrin بينما تظهر التصاق أوطئ بكل من الـ Fibronectin و Collagen ، واتفقت ايضاً محلياً مع دراسة حنا حنو (2002) ومجيد (2006) والتي اكدت امتلاك جراثيم المكورات المعوية لهذه الصفة ، كما اكدت العديد من الدراسات ان معاملة هذه الجراثيم التي تمتلك خواص رهاب الماء بالانزيمات الحالة للبروتين او تعريضها لدرجات حرارة مرتفعة يثبط من تلك الخاصية ولهذا يعتقد ان التراكيب البروتينية على سطوح تلك الجراثيم تلعب الدور الاكبر في اظهار هذه الصفة ( George 2007, Kishen and ) .

اختبار الالتصاق على الخلايا الظهارية البولية بوجود وعدم وجود المصل

اجري هذا الاختبار للكشف عن قابلية جراثيم المكورات المعوية للالتصاق بسطوح الخلايا الظهارية ، ولان اكثر الامراض شيوعا والتي تسببها هذه الجرثومة هي اخماج القناة البولية لذالك اهتمت هذه الدراسة على دراسة امكانية الالتصاق الى الخلايا الظهارية للقناة البولية في الانسان ، حيث عدت قابلية هذه الجراثيم على الالتصاق من عوامل الضراوة المهمة فضلاً عن كونها الخطوة الاولى في العملية الامراضية وكما في الصورة (4) ( George 2007, Kishen and ) . اوضحت النتائج ان جميع سلالات المكورات المعوية كانت قادرة على الالتصاق حيث ان 26(72.2%) سلالة اظهرت ايجابية للاختبار وكما في الجدول (2) ، وتباينت نسب الالتصاق بين سلالات الانواع المختلفة اذ ان 20(74.1%) و 4(57.1%) و 2(100%) سلالة من سلالات الانواع *E.faecalis* و *E.faecium* و*E.gallinarium* على التوالي اظهرت القدرة على الالتصاق بالخلايا الظهارية المعزولة من القناة البولية وكما في الشكل (2) ، وهذا يتفق مع دراسة Qi *et al.,* (2011) التي بينت القدرة العالية لسلالات النوع *E.faecalis* على الالتصاق بالخلايا الطلائية ، كما جاءت هذه النتائج متفقة تقريباً مع دراسة العزاوي (2008) والتي اشارت الى قدرة جراثيم المكورات المعوية الى الالتصاق بالخلايا الظهارية البولية وبنسبة 66% ، واقتربت من دراسة Guzman *et al.,* (1989) والذي اشار الى قدرة الالتصاق العالية لسلالات النوع *E.faecalis* المعزولة من خمج القناة البولية بالخلايا الظهارية البولية،مقارنة بسلالات النوع نفسه المعزولة من الدم والمسببة لحالات التهاب شغاف .



الصورة (4-7) صور مجهرية تبين معدل التصاق البكتريا بالخلايا الظهارية البولية (1000X) .

A / التصاق خلايا البكتريا بالخلايا الظهارية البولية B / خلايا ظهارية بولية معزولة من الانسان .

**المصادر**


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 .

العزاوي ، زينب حسين مهدي (2008). دراسة عوامل الفوعة والاستجابة للمضادات الجرثومية في المكورات المعوية المعزولة من المرضى . رسالة ماجستير . كلية التربية . جامعة ديالى .

مجيد ، قيثار رشيد (2006). دراسة أنماط المقاومة للمضادات الحيوية لأنواع جرثومة المكورات المعوية المعزولة من مصادر مختلفة . اطروحة دكتوراه . كلية العلوم . جامعة البصرة .

Baldassarri, L.; Creti, R.; Montanaro, L.; Orefici, G. and Arciola, C.R. (2005). Pathogenesis of implant infections by enterococci. Int. J. Artif. Organs., 28: 1101-1109.

Baron, E.J. and Finegold, S.M. (1990). Diagnostic Microbiology. Baily and Scotts. 8th ed. C.V. Mosby Company, St. Louis, pp: 223-236.

Bottone, E.J.; Patel, L.; Patel, P. and Robin, T. (1998). Mucoid encapsulated *Enterococcus faecalis* an emerging morphotype isolated from patients with urinary tract infections. Diagn. Microbiol. Infect. Dis., 31: 429-430.

Carvalho, M.G.S. and Teixeira, L.M. (1995). Haemagglutination properties of *Enterococcus*. Curr. Microbiol., 30: 265-268.

Chick, S.; Harber, M.J.; Mackenzie, R. and Asscher, A.W. (1981). Modified method for studing bacterial adhesion to isolated uroepithelial cells and uromucoid . Infect. Immun., 34(1): 256-261.

Chowdhury, S.A.; Arias, C.A.; Nallapareddy, S.R.; Reyes, J.; Willems, R.J.L. and Murray, B.E. (2009). A Trilocus Sequence Typing Scheme for Hospital Epidemiology and Subspecies Differentiation of an Important Nosocomial Pathogen, Enterococcus faecalis. J. Clin. Microbiol., 47: 2713-2719.

Collee, J.G.; Marmion, B.P.; Fraser, A.G. and Simmons, A. (1996). Mackie and McCartney Practical Medical Microbiology. 14th ed. Churchill Livingstone, New York, pp: 263-298.

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.

Coque, T.M.; Patterson, J.E.; Steckelberg, J.M. and Murray, B.E. (1995). Incidence of hemolysin, gelatinase and aggregation substance among Enterococci isolated from patients with endocarditis and other infections and from feces of hospitalized and community-based persons. J. Infect. Dis., 171: 1223-1229.

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.

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

Elsner, H.A.; Sobottka, I.; Mack, D.; Claussen, M.; Laufs, R. and Wirth, R. (2000). Virulence factors of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* blood culture isolates. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 19: 39-42.

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 Teixeira, L.M. (1997). *Enterococcus*. In: Collier, A., Balow, S. and Sussman, M., (Eds.), Microbiology and microbial infections. Topiey and Wilson, 9th ed., Edward Arnold, London, pp. 669-682 .

George, S. and Kishen, A. (2007). Effect of tissue fluids on hydrophobicity and adherence of *Enterococcus faecalis* to dentin. J. Endod., 33(12):1421-1425.

Gilmore, M.S.; Coburn, P.S.; Nallapareddy, S.R. and Murray, B.E. (2002). Enterococcal Virulence, pp: 301-354. In Gilmore, M.S.; Clewell, D.B.; Courvalin, P.M.; Dunny, G.M.; Murray, B.E. and Rice, L.B. (2002). The enterococci: pathogenesis, molecular biology, antibiotic resistance, and infection control. ASM Press, Washington, D.C.

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.

Guzman, C.A.; Pruzzo, C.; Lipira, G. and Calegari, L. (1989). Role of adherence in pathogenesis of *Enterococcus faecalis* urinary tract infection and endocarditis. Infect. Immun., 57(6): 1834-1838.

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

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

Huebner, J.; Wang, Y.; Krueger, W.A.; Madoff, L.C.; Martirosian, G.; Boisot, S.; Goldmann, D.A.; Kasper, D.L.; Tzianabos, A.O. and Pier, G.B. (1999). Isolation and chemical characterization of a capsular polysaccharide antigen shared by clinical isolates of *Enterococcus faecalis* and vancomycin resistant *Enterococcus faecium*. Infect. Immun., 67(3): 1213-1219.

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.

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

Koneman, 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 .

Langston, C.W.; Gutierre, Z.J. and Bouma, C. (1960). Motile Enterococci (*Streptococcus faecium* var. Mobilis var. N.) isolated from grass silage. J. Bacteriol., 80: 714-718.

Leavis, H.L.; Bonten, M.J. and Willems, R.J. (2006). Identification of high-risk enterococcal clonal complexes: global dispersion and antibiotic resistance. Curr. Opin. Microbiol., 9:454-460.

Libertin, C.R.; Dumitru, R. and Stein, D.S. (1992). The hemolysin/bacteriocin produced by enterococci is a marker of pathogenicity. Diagn. Microbiol. Infect. Control 15:115-120.

Liu, G.; Griffiths, M.W.; Wu, P.; Wang, H.; Zhang, X. and Li, P. (2011). *Enterococcus faecium* LM-2, a multi-bacteriocinogenic strain naturally occurring in "Byaslag", a traditional cheese of Inner Mongolia in China. Science Direct., 22(2):283-289.

Lomberg, H.; Cedergren , B.; Leffer,H.; Nelsson, B.; Carlstrom, A. and Eden, C. (1986). Influence of blood group on the availabl ability of receptors for attachment of uropathogenic *Escrrichia coli*. Infect. Immun., 51(3): 9190-9206.

Lopardo, H. and Blanco, A. (2007). Methods for the detection of beta-lactamase producing enterococci. Rev. Argent. Microbiol., 39(2):105.

MacFaddin, J.E. (2000). Individual biochemical tests for identification of medical bacteria. 3th ed. Lippincott Williams Wilkins, London. pp:57-424.

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

Patterson, J.E.; Colodny, S.M. and Zervos, M.J. (1988). Serious infection due to β-lactamase-producing *Streptococcus faecalis* with high-level resistance to gentamycin. J. Infect. Dis., 158:1144-1145.

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.

Qi, X.; Bai, D.; Zhao, X.; Wang, A.; Li, Y. and Jin, Y. (2011). Probiotic activities of lab in endometritis: probiotic activities of three lactic acid bacteria strains isolated from healthy bovine cervix: *In Vitro* adherence to immortalized endometrial epithelialcells and antimicrobial properties. J. Animal and Veterinary Advances., 10(4): 484-488.

Rozdzinski, E.; Marre, R.; Susa, M.; Wirth, R. and Muscholl-Silberhorn, A. (2001). Aggregation substance-mediated adherence of *Enterococcus faecalis* to immobilized extracellular matrix proteins. Microb. Pathog., 30:211-220.

Sava, I.G.; Heikens, E.; Kropec, A.; Theilacker, C.; Willems, R. and Huebner, J. (2010). Enterococcal surface protein contributes to persistence in the host but is not a target of opsonic and protective antibodies in *Enterococcus faecium* infection. J. Med. Microbiol., 59: 1001-1004.

Starr, M.P. (1941). Spirit blue agar: a medium for the detection of lipolytic microorganisms. Science, 39: 333-334.

Styriak, I.; Laukova, A.; Fallgren, C. and Wadstrom, T. (1999). Binding of selected extracellular matrix proteins to Enterococci and *Streptococcus bovis* of Animal origin. Curr. Microbiol., 39: 327-335.

Valenzuela, A.S. ; Benomar, N.; Abriouel, H.; Cañamero, M.M. and Gálvez, A. (2010). Isolation and identification of *Enterococcus faecium* from seafoods: antimicrobial resistance and production of bacteriocin-like substances. Food Microbiol., 27(7):955-961.

Wells, V.D.; Wong, E.S.; Murray, B.E.; Coudron, P.E.; Williams, D.S. and Markowitz, D.M. (1992). Infections due to beta-lactamase-producing, high-level gentamycin-resistant *Enterococcus faecalis*. Ann. Intern. Med., 116:285-292.

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.

Zareba, T.W.; Pascu, C.; Hryniewicz, W. and Wadstrom, T. (1997). Binding of extracellular matrix proteins by enterococci. Curr. Microbiol., 34(1): 6-11.

**Abstract**; The bacteriological study included isolation of *Enterococcus* and species diagnosis from (196) clinical specimens of patients which suffered from various infections at Al-Sadr Medical City and Al-Zahraa Educational Hospital in the Holy governorate of Najaf during the period from 1\7\2010 to 1\12\2010. A (34) isolates of *Enterococcus* were obtained at ratio (17.3%) and distributed into 22 (15.9%) urine , 9 (56.2%) feces , and 3 (17.6%) vaginal swab , but no specimen were isolated from cerebral spinal fluid , two additional isolates from blood specimens were also isolated , so the total number were (36) isolate . The study revealed that the species *E. faecalis* was the most abundant species with (75%) , followed by *E. faecium* with (19.4%) and *E. gallinarium* with (5.6%) The investigation of virulence factors of this bacterium which play a major role in its pathogenicity , it was approved that these bacteria had the ability to produce haemolysin , protease , lipase , β-lactamase , capsules formation , enterosin production , and their ability of haemagglutination , the study also showed mannose effect on haemagglutination test , and the ability of this bacterium to adhere to human urinary tract epithelial cell This study also gave attention to investigate the hydrophobicity of *Enterococcus* , the results of separation with ammonium sulfate exhibited that the species *E. faecalis* had the highest rates of adherence , followed by *E. faecium* , whilst *E. gallinarium* exhibited a negative result .