تاثير اشعة كاما في نمط العوز الغذائي لعوامل النمو في بكتريا *S. typhimurium* المعزولة من اصابات سريرية في مدينة الموصل

عبد الرزاق خضر محمود[1] و مهدي صالح[2]

[1] قسم علوم الحياة، كلية التربية، جامعة الموصل، الموصل، جمهورية العراق

[2] قسم علوم الحياة، كلية العلوم، جامعة دهوك، دهوك، جمهورية العراق

الملخص:

جمعت (٣٠٠) عينة من براز ودم وادرار الأشخاص المشكوك باصابتهم بالحمى التيفوئيدية والتسمم الغذائي من مستشفيات رئيسية في مدينة الموصل. وقد شخصت اعتمادا على الفحص المجهري والاختبارات الكيمياحياتية والمصلية ودعمت النتائج باستخدام التشخيص بنظام (AP120E) ومن ثم التاكد من ذلك من قبل معهد السالمونيلا في بغداد.

اختيرت (٥) عزلات من جرثومة *Salmonella typhimurium* بالاعتماد على مصادر عزلها، شععت بالجرع الاشعاعية (٠,٥، ١، ١,٥، ٢، ٢,٥، ٣، ٣,٥، ٤، ٤,٥) KGY لتحديد الجرعة الاشعاعية القاتلة لكافة عزلات *Salmonella typhimurium* .

كانت النسب المئوية لفقدان مقاومة المضادات الحيوية Streptomycin، Trimethoprim، Ampicillin، Nalidixic acid، Chloramphenicol متغايرة مع الجرع الاشعاعية.

بعد التشعيع بالجرع الاشعاعية (١، ٢، ٣، ٤) KGY فان المستعمرات الجرثومية التي اظهرت فقدان المقاومة للمضادات الحيوية اختبرت لبيان نمط عوزها لعوامل النمو (قواعد نايتروجينية وفيتامينات) حيث اظهرت المستعمرات الجرثومية الحاجة للقواعد النايتروجينية Adenine ، Cytosine ، Guanine و Thymine وكذلك الى الفيتامينات Nicotinic acid و Thiamine .

لقد تم تشخيص عزلات *S. typhimurium* فقدت مقاومتها للمضادات الحيوية واخرى اكتسبت صفة المقاومة لهذه المضادات، وكذلك عند حجب القواعد النايتروجينية والفيتامينات عن الوسط الغذائي الادنى ظهرت مستعمرات فاقدة لصفة مقاومتها للمضادات الحيوية بعد التشعيع، قد يعود سبب ذلك الى تولد طفرات سرية في بعض المورثات التي تشفر انزيمات المسارات الحيوية لعوامل النمو نتيجة للتاثر باشعة كاما.

الكلمات المفتاحية: اشعة كاما، نمط العوز الغذائي، بكتريا *S. typhimurium* .

المقدمة:

Salmonellosis هي اصابة القناة المعوية والتهاب الامعاء والحمى المعوية وتسمم الدم والتسمم الغذائي. لبكتريا السالمونيلا اهمية صحية كبيرة اضافة الى اهميتها الاقتصادية حيث ان لبعض انواعها القابلية على احداث المرض حتى في حالة وجود اعداد قليلة منها، كونها تتكاثر داخل امعاء الانسان وتحصل عدواها بواسطة براز الاشخاص الحاملين لهذه الجرثومة (٤).

تعرف السلمونيلا بانها عصيات سالبة لصبغة كرام، اغلبها متحركة باسواط محيطية (Peritrichous) ، لاهوائية اختيارية غير مكونة للسبورات، لبعضها القابلية على تخمر الـ Glucose ، Mannitol ، بعضها ينتج كبريتيد الهيدروجين بكميات كبيرة والبعض الاخر ينتجه بكميات اقل.

كما تمتاز بقابليتها على افراز السموم المعوية (Enterotoxin) حيث تعمل هذه السموم على منع تحول الـ AMP الى ATP ونتيجة لذلك يحدث تغير في التوازن الايوني لمخاطية الامعاء حيث تتحرك كمية كبيرة من الماء الى الامعاء لمعادلة هذا التوازن ليحدث الاسهال (٢٦).

تعد مقاومة بكتريا السلمونيلا لبعض المضادات الحيوية الاساسية في العلاج مثل الـ Chloramphenicol والـ Ampicillin من المشاكل المهمة التي تواجه العاملين في مجال صحة الانسان كونها تمتلك بروتينات ناقلة لها القدرة على ضخ المضادات الحيوية خارج الخلية البكتيرية او امتلاكها لانزيمات خارج خلوية او تحور كيميائيتها او تقلل من نفاذية الغشاء الخارجي للخلية الجرثومية حيث تعيق عملية دخول جزيئات المضاد الحيوي الى داخل الخلية الجرثومية (١٨).

لقد تمكن Guerry واخرون (١٢) من عزل جرثومة *S. typhimurium* مقاومة للمضادات الحيوية Ampicillin و Tetracycline و Streptomycin و Sulfanamide و Spectenomycin تعزى مقاومتها الى وجود بلازميدات معينة تقوم بهذا العمل.

عوامل النمو: Growth factors

تفتقر العديد من الاحياء المجهرية لواحد او اكثر من الانزيمات الاساسية، لذا فهي لا تستطيع ان تستخدم الكلوكوز مصدرا وحيدا للكاربون الامر الذي يجعلها تحتاج الى آلية وراثية وايضية، لذلك يجب ان تحصل على العناصر الضرورية من البيئة المحيطة.

تنمو الاحياء المجهرية وتتكاثر عندما يمكنها الحصول على مصادر الطاقة التي تتمثل (بالكاربون والاوكسجين والهيدروجين والنايتروجين والفسفور والكبريت). اضافة الى ذلك تحتاج الكائنات المجهرية في نموها وتكاثرها عناصر تسمى بالعناصر الدقيقة مثل (المنغنيز والنحاس والخارصين).

يعبر عن عوامل النمو بانها مركبات عضوية يحتاجها الكائن الحي كونها مكونات خلوية ضرورية لايمكن تصنيعها في الكائن الحي وهي ضرورية لصنع الاحماض النووية DNA و RNA والفيتامينات (Vitamins) التي تستخدم مرافقات انزيمية (٢٠).

العوز الغذائي: Auxotroph

هي طفرات بايوكيميائية تؤثر في عملية تغذية الاحياء المجهرية حيث لاتستطيع الخلية الجرثومية النمو على وسط غذائي ادنى (Minimal media) الا باضافة مغذيات الى الوسط. ويمكن ان يؤثر في السلوك المورفولوجي والفسيولوجي للكائن الحي. ويمكن لمثل هذه التغييرات ان تحدد تركيز عوامل النمو التي تحتاجها الاحياء المجهرية (٢).

اشعة كاما: Gamma Rays

هي عبارة عن اشعة كهرومغناطيسية ذات اصل نووي طول موجتها قصير جدا وذات طاقة وقوة اختراق عالية. من مصادر اشعة كاما النظائر المشعة كالنظير المشع الاصطناعي الكوبلت. تقاس الجرعة الاشعاعية الواطئة بوحدة الـ Rad ، اما الجرعات الاشعاعية العالية فتقاس بوحدة الـ Gry . تمتلك اشعة كاما طاقة عالية جدا فهي تقتل الخلايا الحية التي تصطدم بها وذلك لامتلاكها قوة اختراق عالية(١٩).

المواد وطرائق العمل:

جمع العينات: Specimens collection

جمعت (٣٠٠) عينة من الخروج والادرار والدم للمرضى المشكوك باصابتهم بالحمى التيفوئيدية والتسمم الغذائي وباعداد متساوية لكل مصدر من المصادر اعلاه وطبقا للقواعد المختبرية. شخصت جرثومة *S. typhimurium* بواسة الاختبارات الشكلية والكيمياحياتية والمصلية وكذلك باستخدام نظام (AP120E) (١٣). اما تشخيص الانماط المصلية للسالمونيلا فقد اجري في معهد السالمونيلا في بغداد.

من مجموعة العزلات التي حصلنا عليها اخترنا خمسة عزلات من *S. typhimurium* ومن مصادر مختلفة.

حضرت المحاليل الخزينة للقواعد النتروجينية والفيتامينات حسب طريقة (Ahmed ، ١٩٨٩) (٥) بالتراكيز المطلوبة وثبتت القواعد النتروجينية بتركيز نهائي قدره (٢٠ مايكروغرام/مل). اما الفيتامينات فثبتت بتركيز نهائي قدره (١٠ مايكروغرام/مل). وقد تم تعقيمها بطريقة البسترة او الترشيح. حضر الوسط الغذائي الادنى حسب (Miller ، ١٩٧٢) (١٥) اما وسط المضادات الحيوية فقد حضر حسب (Grant و Pittard ، ١٩٧٤) (١١).

دراسة نمط العوز الغذائي في عزلات الجرثومة*S. typhimurium* :

اتبعت طريقة(Clowes و Hayes ، ١٩٦٨) (٨) في اختبار العوز الغذائي لعوامل النمو في العزلات الجرثومية.

اختبار نمط العوز الغذائي للقواعد النتروجينية:

حضر (٥٠٠) مل من الوسط الغذائي الادنى ووزع على (٥) دوارق معقمة وبواقع (١٠٠) مل لكل دورق احدى هذه الدوارق اضيف اليه القواعد النتروجينية المستخدمة وهي قواعد البيورينات (A ، G) وقواعد البرميدينات (C، T) بتركيز نهائي (٢٠) مايكروغرام/مل. اما الدوارق الاخرى فقد اضيف لكل منها (٣) قواعد نايتروجينية أي حذف قاعدة نتروجينية مختلفة لكل دورق.

اختبار نمط العوز الغذائي للفيتامينات:

طبقت نفس الطريقة اعلاه وبتركيز نهائي (١٠) مايكروغرام/مل. اما الفيتامينات المستخدمة فهي (Folic acid ، Thiamine ، Nicotinic acid).

مصدر الاشعاع: Source of radiation

اجريت عملية التشعيع بجهاز اشعة كاما (كوبلت-٦٠) بمعدل جرعة ممتصة في الساعة (450 Gy/hr) حسب الطريقة المستخدمة من قبل (Tayer و Boyd ، ١٩٩٦) (٢١).

حددت الجرع الاشعاعية القاتلة حسب طريقة Atlas واخرون (١٩٩٥) (٦)، حيث اظيف (٠,١) مل من المزرعة الجرثومية المنشطة الى (١٠) قناني تحتوي كل منها على (٥) مل من المرق المغذي المعقم ثم تركت احدى هذه القناني نموذج سيطرة وشععت البقية بالجرع (٠,٥، ١، ١,٥، ٢، ٢,٥، ٣، ٣,٥، ٤، ٤,٥) KGY . وبعد التشعيع واجراء التخافيف العشرية والفرش على اطباق الاكار المغذي تم حساب عدد المستعمرات النامية (العدد الحي/مل).

حساسية العزلات المشعة للمضادات الحيوية:

تم دراسة العزلات المشعة عند الجرع (٠,١، ٠,٢، ٠,٣، ١، ٢، ٣، ٤) KGY وذلك للكشف عن النسب المئوية للعزلات الجرثومية الفاقدة او المكتسبة للمقاومة تجاه المضادات الحيوية المدروسة (Chloramphenicol (Cm) ، Ciprofloxacin(Cip))، Streptomycin (Sm) ، Trymethoprim (Tm) ، Ampicillin (Ap) ، Nalidixic acid (Nal)) نتيجة التشعيع، فبعد نمو المستعمرات على اطباق الاكار المغذي نقلت (٥٠) مستعمرة جرثومية لكل جرعة اشعاعية الى اوساط الاكار المغذي التي تمثل الـ Master plates وبعد تحضينها مدة (١٨) ساعة بدرجة (٣٧) °م نقلت هذه المستعمرات الى اوساط المضادات الحيوية المستخدمة في البحث وبعد تحضينها تم تحديد المستعمرات النامية والمستعمرات التي فشلت في النمو على وسط المضاد الحيوي وذلك بمقارنتها مع طبقة الـMaster plate(١٤).

نمط العوز الغذائي لعوامل النمو للعزلات المشعة:

اختيرت المستعمرات الجرثومية التي اظهرت فقدان المقاومة تجاه المضادات الحيوية نتيجة للتشعيع. حيث تم اخذ (١-٥) مستعمرات جرثومية عند كل جرعة اشعاعية من الجرع (١، ٢، ٣، ٤) KGY ولكل عزلة جرثومية واجري لها اختبار نمط العوز الغذائي لعوامل النمو (قواعد نايتروجينية وفيتامينات) وذلك للكشف عن تغييرات العوز الغذائي الحاصلة نتيجة التشعيع.

تهدف هذه الدراسة الى:

١. دراسة حساسية هذه العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية المستخدمة قيد الدراسة.
٢. دراسة نمط العوز الغذائي لعوامل النمو (قواعد نايتروجينية وفيتامينات) لهذه العزلات للكشف عن الطفرات التلقائية (Spontaneous mutation) لهذه العوامل.
٣. تحديد الجرع الاشعاعية القاتلة لهذه الجراثيم باشعة كاما.
٤. الكشف عن الطفرات الوراثية المتولدة في هذه العزلات بعد تشعيعها باشعة كاما من حيث الحساسية تجاه المضادات الحيوية والعوز الغذائي لعوامل النمو.

النتائج والمناقشة:

العزل والتشخيص:

اظهر التشخيص المصلي لبكتريا *S. typhimurium* المعزولة في هذه الدراسة انها موزعة على خمسة انماط مصلية شملت ثلاثة انماط معزولة من الـ (Stool) ، نمط واحد معزول من الـ (Blood) ونمط واحد معزول من الـ (Urine) .

لقد بينت الباحثة عبد الفتاح (٢٠٠١) ان الـ *S. typhimurium* المعزولة من الـ (stool) هي اكثر الانماط سيادة من الانماط المعزولة من المصادر الاخرى.

اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

اظهرت النتائج ايضا ان هذه العزلات الجرثومية مقاومة للمضادات الحيوية Rifampine ، Nalidixic acid، Ampicillin، Trimethoprim (الجدول ١) وهذا يتقارب مع نتائج White و Parry (١٩٩٦) (٢٤،١٦). ومن المثير للانتباه ان معظم هذه العزلات مقاومة لاكثر من مضاد حيوي في ان واحد حيث يتفق ذلك مع دراسات عديدة (١٧،٧).

الجدول (١): حساسية عزلات جرثومة *S. typhimurium* للمضادات الحيوية المستخدمة

رقم العزلة	وسط الاكار المغذي الحاوي على المضاد الحيوي بالتراكيز النهائية (مايكروغرام/مل)									
	Tm 10	Ap 50	Nal 30	Cip 30	Cm 10	Sm 25	Rif 5	Er 5	Cf 30	Tc 15
١	R	R	R	S	S	R	R	S	S	S
٢	R	R	S	S	S	S	R	R	R	S
٣	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R
٤	R	R	S	S	S	R	R	S	R	S
٥	R	R	S	S	S	S	R	R	R	S

Tc: Tetracycline, Cf: Cephalexin, Er: Erythromycine, Rif: Rifampicin, Sm: Streptomycin,
Cm: Chloramphenicol, Cip: Ciproflaxacin, Nal: Nalidixic acid, Ap: Ampicillin, Tm: Trymethoprim.
R: Resistant, S: Sensitive

من جانب ثاني نجد ان جميع العزلات حساسة للمضاد الحيوي Ciprofloxacin وهذا ينسجم مع النتائج المثبتة من قبل الباحث(Gullardo واخرون، ١٩٩٩)(١٠).

يمكن ان يعزى سبب هذه النتائج الى الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية حيث ان اضافة هذه المضادات الى الاعلاف الحيوانية الامر الذي يؤدي الى ظهور سلالات مقاومة في الحيوانات يمكن ان تنتقل الى الانسان، اضافة الى ذلك يمكن ظهور تباين في الحساسية والمقاومة من العزلات الجرثومية نتيجة الى التركيب الوراثي للنمط الجرثومي.

دراسة نمط العوز الغذائي في جرثومة*S. typhimurium* :

اختبر العوز الغذائي للعزلات الجرثومية للكشف عن التغيرات في العزلات التي تسبب الحاجة الى احدى عوامل النمو. ان اختبار العزلات المختارة للتحري عن نمط العوز للقواعد النايتروجينية والفيتامينات، تبين ان جميع هذه العزلات وصلت في نموها الى طور الثبات (Stationary phase) في الوسط الغذائي الادنى سواء احتوى الوسط على عوامل النمو ام لم يحتوي وذلك من خلال قراءة الكثافة الضوئية عند الطول الموجي 590 (nm .

اعتبرت هذه العزلات عزلات سيطرة للعزلات بعد تشعيعها، حيث انه لايوجد تثبيط في مسارات القواعد النايتروجينية والفيتامينات للعزلات الجرثومية.

دراسة الجرع الاشعاعية القاتلة للعزلات الجرثومية:

اظهرت نتائج دراسة الجرع الاشعاعية القاتلة للعزلات الجرثومية والموضحة في الجدول (٢) وبعد حساب العدد الحي.

الجدول (٢): العدد الحي للمستعمرات الجرثومية النامية في (١) مل بعد تعريضها للجرع الاشعاعية المختلفة من اشعة كاما

الجرعة الاشعاعية KGY	عدد المستعمرات النامية في (١) مل للعزلات الجرثومية المشعة				
	١	٢	٣	٤	٥
٠	79×10^7	45×10^8	69×10^8	90×10^7	53×10^7
٠,٥	47×10^6	195×10^6	109×10^6	100×10^5	73×10^6
١	184×10^5	180×10^4	136×10^4	95×10^4	290×10^4
١,٥	180×10^4	142×10^3	292×10^3	219×10^2	95×10^3
٢	119×10^3	85×10^2	307×10^2	304×10^2	118×10^2
٢,٥	45×10^2	23×10^2	184×10	33×10^2	96×10^2
٣	220	350	117	850	540
٣,٥	73	160	50	320	150
٤	29	25	28	67	9
٤,٥	0	0	0	0	0

ان (٤,٥) KGY هي الجرعة اللازمة للقضاء على جميع الجراثيم بصورة نهائية وهذه النتائج تتفق مع نتائج العديد من الدراسات (٢٢).

تاثير اشعة كاما على حساسية العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية:

تم الحصول على نسب مختلفة للمستعمرات الجرثومية التي اظهرت فقدان المقاومة للمضادات الحيوية كما هو موضح في جدول (٣).

الجدول (٣): تاثير اشعة كاما بجرعات مختلفة في مقاومة عزلات جرثومة الـ *S. typhimurium* للمضادات الحيوية

رقم العزلة	الجرعة KGY	النسب المئوية لفقدان مقاومة المضادات الحيوية للمستعمرات الجرثومية بعد تشعيعها بجرع مختلفة من اشعة كاما				
		Tm	Ap	Nal	Cm	Sm
١	٠,١	٦	٠	٤	S	٠
	٠,٢	٠	٢	٨	S	٤
	٠,٣	١٢	٨	٦	S	١٠
	١	١٨	١٠	١٢	S	٦
	٢	١٦	٨	١٨	S	١٤
	٣	٢٤	١٢	٢٠	S	١٨
	٤	٢٦	١٠	٢٨	S	١٢
٢	٠,١	٤	٦	٨	S	S
	٠,٢	٦	٨	٦	S	S
	٠,٣	٤	٦	١٠	S	S
	١	١٨	١٠	١٦	S	S
	٢	٢٠	١٨	٨	S	S
	٣	١٦	٢٠	١٢	S	S
	٤	٢٤	٢٤	١٦	S	S
٣	٠,١	٢	١٢	٤	S	S
	٠,٢	١٠	٤	١٢	S	S
	٠,٣	٠	٠	٦	S	S
	١	٨	١٢	٨	S	S
	٢	١٦	٢٤	٢٠	S	S
	٣	٢٠	١٦	٢٠	S	S
	٤	٢٦	٣٠	٢٤	S	S
٤	٠,١	٦	٦	٨	S	S
	٠,٢	٤	١٢	٠	S	S
	٠,٣	٨	٦	١٠	S	S
	١	٠	١٤	١٦	S	S

	٢	٨	١٠	٢٤	S	S
	٣	٢٠	١٦	١٨	S	S
	٤	٢٤	٢٨	٢٨	S	S
٥	٠,١	٠	٨	٢	٦	S
	٠,٢	٦	٤	٠	١٨	S
	٠,٣	٢	١٠	١٤	٤	S
	١	٨	٠	١٨	٢٤	S
	٢	١٨	٨	٨	١٢	S
	٣	٢٤	١٦	٢٦	١٨	S
	٤	٢٦	٢٢	٣٠	٢٦	S

Sm: Streptomycin, Cm: Chloramphenicol, Nal: Nalidixic acid, Ap: Ampicillin, Tm: Trymethoprim

وقد كانت النسب المئوية لفقدان المقاومة للمضادات (Tm، Ap، Nal، Sm، Cm) لكافة العزلات الجرثومية وللجرع المختلفة متقاربة المديات (٩). تشير النتائج ايضا ان بعض المستعمرات الجرثومية قد اكتسبت صفة المقاومة لبعض المضادات الحيوية. يتبين من هذا بان اشعة كاما مطفرة للجراثيم وتغير في حساسيتها ومقاومتها تجاه المضادات الحيوية.

دراسة نمط العوز الغذائي للقواعد النايتروجينية في مستعمرات جرثومة *S. typhimurium* المشعة والفاقدة لمقاومتها لبعض المضادات الحيوية:

يبين الجدول (٤) ظهور مستعمرات جرثومية تصل في نموها الى الطور اللوغاريتمي عند فقدان بعض القواعد النايتروجينية لكنها تصل في نموها الى طور الثبات عند اضافة القواعد النايتروجينية. يمكن تفسير ذلك بحدوث تغييرات في المسارات الحيوية لصنع القواعد النايتروجينية.

الجدول (٤): قراءات الكثافة الضوئية عند الطول الموجي 590 nm لنمو عزلات جرثومة الـ *S. typhimurium* الفاقدة لمقاومتها للمضادات الحيوية في اوساط غذائية دنيا حاوية على قواعد نيتروجينية مختلفة

رقم العزلة	الوسط / الجرعة KGY	M9	M9 + N. bases	M9 + N.b. -A	M9 + N.b -C	M9 + N.b -G	M9 + N.b -T
١	Control	١,٠٣٥	١,٠٥٨	١,١١٦	٠,٩٩٥	١,٠٥٥	١,٠٦٤
	١	٠,٧٢٥	١,١٠٤	٠,٤٣٦	٠,٩٣٦	١,٠٤٢	٠,٩٦٨
	٢	٠,٩٦٤	١,٠٠٥	٠,٩٨٢	١,٠١٦	٠,٩٩٥	١,٠٣٢
	٣	٠,٤٩٣	٠,٩٩٣	١,١٣٤	٠,٩٩٢	١,١٣٥	٠,٤٦٧
	٤	٠,٩٤١	١,٠٩٢	٠,٨٦٤	٠,٩٢١	٠,٩٤٦	١,٠٩٢
٢	Control	١,١٠١	١,٠٤٥	١,١٢٦	١,٠٠٠	١,١٠١	٠,٩٥٣
	١	٠,٦١٥	١,٠٩٣	٠,٥٨٢	٠,٨٩٤	١,١٢٠	١,٠٤١
	٢	٠,٨٣٨	٠,٩٩٣	١,٠٣٨	١,٠١٥	١,٠٩٩	٠,٩٤٦
	٣	٠,٤٩٦	١,٠٠٠	٠,١٠٠	٠,٤٤٨	٠,٩٢٦	١,١٩٦
	٤	٠,٨٢٩	١,١٥٦	١,١٤٩	٠,٨٩٩	١,٠٤٩	١,٠١٠
٣	Control	١,٠١٩	١,٠٠٨	١,٠٦٦	١,٠٠٨	٠,٩٨٣	١,٢٠١
	١	٠,٨٤١	٠,٩٩٥	٠,٩٣٢	١,٠٠٦	١,٠٤١	١,٠١٦
	٢	٠,٥١٣	١,٠٦٤	٠,٩٦٥	٠,٤٢٤	١,٠٥٣	١,١٢٦
	٣	٠,٨٢٥	١,١٢٥	٠,٩٢٩	١,٠٦٣	٠,٨٩٥	١,١١٩
	٤	٠,٩٤١	١,٠٦٨	١,٠٣٤	٠,٨٣٠	١,٠٥٢	٠,٩٩٣
٤	Control	١,٠٥٥	١,١٣٢	٠,٩٨٨	٠,٩٢٨	١,١٤٦	٠,٨٩٦
	١	٠,٥٢١	١,٠٠٨	٠,٩٥٩	١,٠٥٨	١,٠١٥	٠,٤٠١
	٢	٠,٨١٢	١,١٢٤	٠,٩٢٣	١,٠٤٨	٠,٩٣٢	١,٠٦٨
	٣	٠,٩٤٩	١,٠٠٠	٠,٩٣٥	٠,٩٠٠	١,٠٤٨	١,٠٤٢
	٤	٠,٤٢٩	١,١٦٨	١,٠٦٨	٠,٩٣٢	٠,٣١٦	١,١٠٧
٥	Control	١,١٢٣	١,٠٨٩	١,٠٤٨	١,٠٥٨	١,١٢٣	٠,٨٩١
	١	٠,٥٢٣	٠,٩٨٦	٠,٩٩٥	١,٠٨٣	٠,٤٢٠	١,٠١٩
	٢	٠,٩٠٣	١,٠١٥	٠,٩٩٩	١,٠٠٨	١,١٠٤	٠,٩٧١
	٣	٠,٨٣٢	٠,٩٨٣	١,١٢٣	٠,٩٠٨	٠,٩٦٤	١,٠٩٦
	٤	٠,٦٠٣	١,٠٥٣	٠,٤٢٦	١,٠٩٥	٠,٩١٩	١,٠٣٨

Mg : الوسط الغذائي الادنى، N.b. : القواعد النايتروجينية، (A ، C ، G و T): الادنين، السايتوسين، الكوانين والثايمين.

المستعمرات الجرثومية للعزلة (١) اظهرت الحاجة الى قواعد الادنين او الثايمين عند الجرع المختلفة. العزلة (٢) ظهرت المستعمرات فيها حاجة الى قواعد الادنين او السايتوسين لكي تنمو. والعزلة (٣) ظهرت فيها مستعمرة ذات عوز للقاعدة السايتوسين عند الجرعة (٢) KGY . والعزلة (٤) كانت مستعمراتها ذات عوز لقواعد الكوانين او الثايمين. اما العزلة (٥) فكانت مستعمراتها ذات عوز لقواعد الكوانين او الثايمين عند جرع مختلفة من اشعة كاما التي يمكنها ان تؤثر على البيرميدينات والبيورينات من خلال تكوين الجذور الحرة والبيروكسيدات (H_2O_2 ، H ، O). كما يمكنها ايضا ان تتفاعل مع الاواصر الفوسفاتية فتحدث التاثير (٢٥،١).

دراسة نمط العوز الغذائي للفيتامينات في مستعمرات جرثومة الـ *S. typhimurium* المشعة والفاقدة لمقاومتها لبعض المضادات الحيوية:

اتبعت نفس الطريقة في الفقرة السابقة، حيث اجري لها اختبار الكشف عن عوزها لفيتامينات الثايمين (B1) ، حامض الفوليك (Fo) وحامض النيكوتينيك (Ni). ومن خلال ملاحظة الجدول (٥) نجد ان المستعمرات الجرثومية لمعظم العزلات ظهر فيها العوز الغذائي لفيتامينات الثايمين Thiamin و Nicotinic acid عند الجرع الاشعاعية المختلفة. قد يعزى ذلك الى حدوث طفرات سريعة في المورثات المسؤولة عن صنع الانزيمات الداخلة في مسار صنع الفيتامينات مقابل ذلك عند بعض الجرع الاشعاعية لم تظهر أي مستعمرة ذات حاجة الى فيتامين معين لكي تنمو قد يتعلق ذلك بانه لم يتسن للاشعاع ان يضرب مسار صنع هذه الفيتامينات، وبسبب ان هناك اكثر من مسار واحد لصنع الفيتامينات.

لاحظ Webb واخرون (١٩٩٦) (٢٣) ان فيتامين الثايمين في جرثومة *S. typhimurium* يتم صنعه من نفس مسار صنع قواعد البيورينات حيث امكن الحصول على عوز غذائي للثايمين في هذه الجرثومة باستخدام مطفر كيميائي.

الجدول (٥): قراءات الكثافة الضوئية عند الطول الموجي (590 nm) لنمو عزلات جرثومة الـ *S. typhimurium* الفاقدة لمقاومتها للمضادات الحيوية في اوساط غذائية حاوية على فيتامينات مختلفة.

رقم العزلة	الوسط / الجرعة KGY	M9	M9 + Vs.	M9 + V.-B_1	M9 + V.-Fo	M9 + V.-Ni
١	Control	1.109	1.098	1.038	0.986	1.105
	١	0.803	0.995	0.924	1.063	0.987
	٢	0.963	1.163	0.987	1.068	0.954
	٣	0.791	0.991	0.508	1.002	1.131
	٤	0.503	0.995	0.964	0.963	0.527
٢	Control	1.004	1.105	0.956	1.053	0.965
	١	0.916	1.032	0.926	1.008	0.974
	٢	0.498	1.016	0.493	0.899	0.973
	٣	0.660	1.068	0.999	0.995	0.513
	٤	0.916	0.953	0.982	1.065	0.857
٣	Control	0.994	1.151	1.014	0.958	1.003
	١	0.622	1.080	0.601	1.052	0.953
	٢	0.915	1.031	0.989	1.011	1.026
	٣	0.989	0.963	1.007	1.163	0.992
	٤	0.865	1.025	1.064	1.005	1.103
٤	Control	1.015	1.077	0.985	1.117	1.000
	١	0.826	1.004	0.953	1.129	1.095
	٢	0.918	1.003	0.956	0.892	0.953
	٣	0.801	0.985	0.809	1.032	1.051
	٤	0.495	0.968	1.067	1.120	0.476
٥	Control	0.980	1.103	1.056	0.981	0.873
	١	0.622	1.065	0.532	0.965	1.152
	٢	0.921	0.998	1.005	0.932	0.859
	٣	0.456	1.103	0.472	1.058	0.973
	٤	0.923	1.081	0.956	1.051	0.910

Mg : الوسط الغذائي الادنى، V : الفيتامينات، Ni : حامض النيكوتينيك، Fo : حامض الفوليك، B_1 : الثايمين.

اما الاستنتاجات المهمة التي توصلنا اليها في هذا البحث فيمكن تبيانها في النقاط التالية:

١. تفاوت عزلات *S. typhimurium* في حساسيتها للمضادات الحيوية، حيث اظهرت عزلات مقاومة لعدة مضادات حيوية في ان واحد.
٢. الجرعة الاشعاعية القاتلة لكافة انواع*S. typhimurium* هي (٤،٥) KGy .
٣. ظهرت مستعمرات جرثومية فاقدة لمقاومتها للمضادات الحيوية بعد التشعيع باشعة كاما، كما ظهرت مستعمرات جرثومية اخرى اكتسبت صفة المقاومة للمضادات الحيوية.
٤. ان ظهور مستعمرات جرثومية فاقدة لمقاومتها للمضادات الحيوية بعد التشعيع باشعة كاما ذات نمو بطيء بغياب القواعد النايتروجينية والفيتامينات من الوسط الغذائي الادنى ربما يعود ذلك الى تولد طفرات سرية في بعض المورثات التي تشفر انزيمات المسارات الحيوية لعوامل النمو وذلك نتيجة التاثر باشعة كاما.

المصادر:

١. السامرائي، قيس فاضل مهدي (٢٠٠٠): ايض نيوكليوتيد الثايمين في بعض جراثيم العائلة المعوية. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.
٢. شكارة، مكرم ضياء (٢٠٠٠): علم الوراثة. دار المسيرة للنشر والتوزيع والطباعة، عمان.
٣. عبد الفتاح، بلسم قبيس سعيد (٢٠٠٢): التاثير التثبيطي لراتنج المستكي وبعض المشتقات الكومارينية المحضرة محليا على بعض انماط جنس السالمونيلا المعزولة من عينات سريرية. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.
٤. لوهارنو، بيسان (٢٠٠١): ارتفاع النداءات من اجل سلامة الغذاء: تقانة التشعيع اصبحت هي الاجابة المناسبة. الذرة والتنمية، نشرة فصلية ربع سنوية تصدرها الهيئة العربية للطاقة الذرية، ١٤(١٣)، تونس.
5. Ahmed, K.D. (1989). The positive control of ilv C expression in E. coli K12. Ph.D. Thesis, University of Durham, England.
6. Atlas, R.M.; Brown, A.E. and Parks, L.G. (1995). Laboratory manual. Experimental Microbiology. Mosby-Year Book, Inc., USA.

isolated from chicken carcass and giblets in Debre Zeit and Addis Ababa Ethiopia. Ethiop. J. Health Dev., 17(2): 131-149.
18. Pena, M.E.; Higuera-Iglesis, A.L.; Huertas-Jimenez, M.A.; Baez-Martinez, R.; de-Leon, J.M.; Artego-Cabello, F.; Rangel-Fransto, M.S. and Leon-Rosales, S.P. (2001). An outbreak of Salmonella enteritidis infection among hospital workers in Mexico. Salud Publica de Mexico, 43(3): 1-6.
19. Singleton, P. (1997). Bacteria in biology, biotechnology and medicine. 4th ed., John Wiley and Sons, New York.
20. Talaro, K. and Tolaro, A. (1996). Foundations in Microbiology. 2nd ed., Wm. C. Brown Publishers, London.
21. Thayer, D.W. and Boyd, G. (1996). Comparative studies the effects of the suspending meat and irradiation temperature on the radiation sensitivity of food born pathogens. Radiat. Phys. Chem., 48(3): 369-370.
22. Warke, R.G.; Kamat, A.S. (1999). Irradiation of chewable tobacco mixes improvement in microbiological quality. J. Food Protection, 62(6): 678-681.
23. Webb, E.; Febres, F. and Downs, D.M. (1996). The amine pyrophosphate (TTP) negatively regulates trans-cription of some thigenes of Salmonella typhimurim. J. of Bacteriol., 178(9): 2533-2538.
24. White, N.J. and Pary C.M. (1996). The reatment of typhoid fever current opinion in infectious disease, 9: 298-302.
25. WHO, (1999). High-dose irradiation: wholesomeness of food irradiated with doses above 10 KGY. Technical Report Series 890, p. 1-197. Geneva.
26. Winger, C. (2000). Salmonella spp. http://www.ams.useda.gov/dairy/ pltlok797.pdf.
7. Chandel, D.S.; Chaudhry, R.; Dhawan, B.; Pandy, A. and Dey, A.B. (2000). Drug resistant Salmonella euterica serotype paratyphi A in India. Emerging Infections Diseases, 6(4): 420-421.
8. Clowes, R.C. and Hayes, W. (1968). Experiments in microbial genetic. Blakwell Scientific Publ., Oxford, Edinburgh.
9. Fomenko, B.S. and Akoeu, L.G. (1979). Effect of ionizing radiation on trans-membrane potential of streptococcus. Radiat. Res., 77(2): 479-489.
10. Gallardo, F.; Ruiz, J.; Marco, F.; Jowner, K.J. and Vila, J. (1999). Increase in incidence of resistance to ampicillin, chloramphenicol and trimethoprim in clinical isolates of Salmonella serotype typhimurium with investigation of molecular epidemiology and mechanisms of resistance. J. Med. Microbiol., 48: 367-374.
11. Grant, A.J. and Pittard, J. (1974). In compatibility reactions of R plasmids isolated from Escherichia coli of animal origin. J. Bacteriol., 120: 185-188.
12. Guerry, P.; Falkow, S. and Datta, N. (1974). R62, a naturally occurring hybrid R plasmid. J. Bacteriol., 119(1): 144-151.
13. Koneman, E.W.; Allen, S.D.; Janda, W.M.; Schreckenberger, P.C. and Winn, W.C. (1997). Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th ed., J.B. Lippincott Company, New York.
14. Meyer, R. (1974). Alternate forms of the resistance factor R1 in P. Mirabilis. J. Bacteriol., 118: 1010-1019.
15. Miller, J.H. (1972). Experiments in molecular genetic. Cold spring Harbor Laboratory, Cold spring Harbor, New York.
16. Mirza, S.H.; Beeching, N.J. and Hart, C.A. (1996). Multidrug resistance typhoied: a global problem. J. Med. Mierobiol., 144: 317-319.
17. Molla, B.; Mesfin, A. and Alemayehu, D. (2003). Multiple antimicrobial-resistant Salmonella serotypes

Gamma Ray Effect on Food Demand to Growth Factors as *S. typhimurium* Isolated from Clinical Cases in Mosul City

Abdalrazzaq Khidhir Mahmood[1] and Mehdi Salih[2]

[1]Department of Biology, College of Education, University of Mosul, Mosul, Iraq
[1]Department of Biology, College of Science, University of Duhook, Duhook, Iraq

Abstract:

Three hundred samples were collected from stool, blood and urine from suspected patients with typhoid fever and food-poisoning. They collected from mains hospitals of Mosul City.

Diagnostic were performed using microscopic examination, biochemical and serological tests, the results were supported by using API 20E system test, and then was determined by Salmonella institution in Baghdad.

Five bacterial isolates of *Salmonella typhimurium* were selected depending on source of isolation and irradiated with the doses of (0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 3.5, 4, 4.5) KGY, to determine the lethal dose for all *S. typhimurium* isolates.

The percentage of antibiotic resistances of chloramphenicol, Nalidixic acid, Ampicillin, Trimethoprim, Streptomycin was differing with doses.

After irradiation with the doses (1, 2, 3, 4) KGY the bacterial colonies that revealed losing their antibiotics resistance were tested for their demand to growth factors (Nitrogenous bases and vitamins).

Bacterial colonies showed the needs to the nitrogenous bases (Thymine, Guanine, Cytosine, and Adenine) and vitamins (Thiamin, Nicotinic acid).

It have been diagnosis isolated from *S. typhimurium* which were lose their resistant for the antibiotics and other acquired the resistant property for these antibiotics, also when nitrogenous bases and vitamins were isolate from minimal medium, colonies lost for their antibiotics resistant property were appear after the irradiation, this may be result to generating mutation spontaneous in some genotypes which is marcing the biological paths enzymes of growth factors as a result to Gamma rays effect.