# حساسية بكتريا العنقوديات الذهبية المعزولة من المصورين الشعاعيين تجاه المضادات الحيوية وتأثير تعرضها للأشعة فوق البنفسجية على هذه الحساسية.

**أشواق يونس الدوري[1] ،علي صالح حسين الجبوري[1] ، أياد محمد علي فاضل العبيدي[2]**

[1] *قسم علوم الحياة ، كلية التربية ، جامعة تكريت ، صلاح الدين ، العراق*

[2] *قسم التقانة الاحيائية ، كلية العلوم ، جامعة النهرين ، بغداد ، العراق*

( تاريخ الاستلام: ٧ / ٦ /٢٠٠٧ ، تاريخ القبول: ٢٠ / ٤ / ٢٠٠٨ )

**الملخص**

تناولت هذه الدراسة عزل وتشخيص بكتريا المكورات العنقودية الذهبية الطبيعية (*Staphylococcus aureus* commensal) من العاملين في حقل الاشعة السينية التشخيصية ، شملت العينات مسحات من الأذن والأنف و الحنجرة من مستشفيات مختلفة في مدينة بغداد و تكريت و كركوك ، وتم اختبار حساسية تلك البكتريا للمشلين والمضادات الحيوية الأخرى، كما شملت الدراسة مقاومة هذه العزلات للأشعة فوق البنفسجية والتغيرات المحتملة الناتجة عنها.ويمكن تلخيص النتائج كما يأتي:

أظهرت النتائج أن من (١٤٨) عزلة بكتيرية مكورة موجبة (٩٥) منها تعود الى نوع المكورات العنقودية الذهبية. قاومت غالبية العزلات مضادات مجموعة البيتالاكتام ، وأبدت غالبية العزلات حساسية عالية للمضادات المستخدمة . وأنتجت (٣٦) عزلة أنزيم بيتالاكتميز ، (٢١) عزلة منها كانت مقاومة لمضاد المشلين وأظهرت الدراسة أن لسنوات تعرض بكتريا المكورات العنقودية المختلفة للأشعة السينية تأثيراً واضحاً على المقاومة للمضادات الحيوية . كذلك بينت الدراسة ان لسنوات تعرض بكتريا *Staph. aureus* الطويلة للأشعة السينية تأثيراً واضحاً في مقاومتها العالية للأشعة فوق البنفسجية وأن العزلة ذات فترة التعرض القصيرة تكون ذات استعداد أكبر للتغير في عدد من صفات المقاومة للمضادات الحيوية.

**الكلمات الدالة:**المكورات العنقودية الذهبية ،المشلّين ، الأشعة السينية.

**المقدمة**

تعد كل من الأشعة السينية والأشعة فوق البنفسجية النوعين الأكثر تأثيراً في الخلية الحية لأنها أشعة كهرومغناطيسية تمتلك الأولى القابلية على اختراق المواد بصورة عالية بسمك يتراوح (60 – 400) سم وذلك اعتماداً على الطاقة المستعملة (17) وتتصف بقصر طول الموجة (أقل من 100 نانومتر). على الرغم من أن عدة دراسات أثبتت أن الأيونات والذرات المتهيجة والجزيئات المتولدة خلال التشعيع ليس لها تأثير سام على الانسان (52)، إلا أنها أثبتت فعالية عالية في اختزال99.9% من المحتوى المايكروبي خلال معاملات تعقيم الأغذية (12) كما تعمل أشعة أكس على اختزال المحتوى المايكروبي وتثبيط النمو مثل كل أنواع الاشعاع المؤين من خلال ميكانيكيتين رئيسيتين (18) :أولهما التداخل المباشر للإشعاع مع مكونات الخلية ، التداخل غير المباشر من خلال عمل نواتج الإشعاع الأيونية Radiolytic Ions مثل جذور الماء $H^+$ و $OH^-$ و $e_{aq}^-$ (اليكترونات الماء).

والهدف الثاني للإشعاع المؤين يظهر انه DNA الكروموسومي على الرغم من ان التأثير على الغشاء السايتوبلازمي قد يلعب دوراً أيضا ، إلا أن التغيرات في الـ DNA الكروموسومي مع أو بدون التأثير على الغشاء السايتوبلازمي تسبب تثبيط نمو المايكروبات (20) .

ان فكرة تأثير الإشعاع على الخلية الحية هي إحداث تأين أولي أو ترسيب طاقة في أجزاء الخلية المهمة. كما إن تثبيط الخلية قد يكون بصورة مباشرة أو غير مباشرة بتأثير الجذور الحرة. إن سلسلة التفاعلات الكيميائية التي تؤدي الى التدمير الحيوي للجزيئات المختلفة لا يستغرق إلا جزءً من المليون من الثانية ($10^{-6}$) ثانية بينما تثبيت الضرر وظهوره قد يستغرق ساعات أو أيام أو حتى سنوات. تختلف حساسية الخلايا للإشعاع حيث تتناسب طردياً مع النشاط التكاثري لها وعكسياً مع التخصص الخلوي حسب قانون Bergonei & Tribondeau Law وحسب هذا القانون تكون الخلية البكتيرية (البدائية) والنشطة تكاثرياً حساسة جداً للإشعاع (16).

وحسب ما جاء عن الوكالة الدولية للطاقة الذرية (25) أن الإشعاع المؤين عندما يمر في الخلية الحية يجعل جزيئات الماء مشحونة تتفصل إلى الجذور الحرة بسهولة مكونة جذور الهيدروكسيل ذات القابلية العالية للتفاعل الكيميائي والتي يمكن أن تغير في تركيب جزيئات مهمة في حيوية الخلية، وأحد أهم تلك الجزيئات المهمة في الخلية هي الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA الذي يسيطر على الصفات الوراثية المشفرة لوظائف الخلية المختلفة.

رغم أن المصورين الشعاعيين العاملين في حقل أشعة أكس التشخيصية لا يتعرضون للأشعة السينية تعرضاً مباشراً بسبب الاحتياطات المتخذة والجدار الرصاصي العازل الذي يمنع اختراق الأشعة وتسربها ، إلا أنهم قد يتعرضون لجرع واطئة Low doses ناتجة عن انعكاس الفوتونات والأشعة عن الجدران والأثاث في حيز ردهة التصوير، يظهر تأثير تلك الجرعات من خلال تراكمها في الخلية فتولد الضرر مجتمعة ، إلا أن التعرض لتلك الجرعات الواطئة على فترات طويلة يترك فرصة كبيرة للخلية لإصلاح الضرر عن طريق استحثاث الجزيئات (25).

تشير العديد من الدراسات إلى أن الخلايا البكتيرية تكون أكثر استجابة للأشعة فوق البنفسجية ومن ثم أكثر ضرراً عندما تكون في مرحلة النمو اللوغارتمي Logarithmic phase (3).

لذا تهدف هذه الدراسة الى تحديد نمط حساسية عزلات بكتريا *Staph. aureus* المعزولة من أجسام المصورين الشعاعيين للمضادات الحيوية المستخدمة في علاج أخماجها، التحري عن العزلات المنتجة لأنزيم

البيتالاكتميز ، محاولة إيجاد علاقة بين سنوات التعرض للأشعة السينية التشخيصية والمقاومة للمضادات الحيوية المختلفة ، التحري عن مدى تأثير الأشعة فوق البنفسجية والطفرات المقاومة للمضادات المحتملة بفعل الأشعة فوق البنفسجية.

## المواد وطرق العمل

### العزلات البكتيرية Bacterial Isolates

زرعت ١٧٦ عينة من مسحات الأنف والأذن والحنجرة من المصورين الشعاعيين العاملين في مستشفيات مختلفة في مدن صلاح الدين ، بغداد وكركوك وتم زرعها في أنابيب اختبار حاوية على 2ml من وسط المرق المغذي Nutrient broth لغرض اغناء النمو Enrichment (2) بعد نقلها الى المختبر بواسطة مسحات الوسط الناقل Transport medium swab(وزارة الصحة ، العراق). وبعد انقضاء فترة ١٨ ساعة من الحضن بدرجة ٣٧ مْ استدل على النمو بعكورة الوسط ، وتم العزل الأولي على وسطي المانيتول الملحي Manitol salt agar و (Himedia , India Barid parker agar ) واعتمد التشخيص النهائي على النتائج الفحص بنظام (APi staph) للمكورات العنقودية (Biomerieux , France) حيث أظهرت النتائج عائدية ٩٥ عزلة لجنس المكورات العنقودية الذهبية.

### فحص الحساسية للمضادات الحيوية

تم اختبار حساسية البكتريا لـ١٨ مضاداً حيوياً والمذكورة في الجدول -١- (Bioanalyse,Turkey) وذلك باستخدام طريقة Disk Diffusion Test (7) ، حيث تم نشر ٠,١ مول من مزرعة سائلة بعمر ( 18-24) و حضنت بدرجة حرارة (37) ْم الى وسط Himedia,India)Mueller Hinton ) وبعد تركها لتجف بدرجة حرارة الغرفة لمدة (10- 15) دقيقة تم نقل أقراص المضادات الحيوية بملقط معقم إلى الأطباق ( بواقع ٦ أقراص لكل طبق) ثم حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37 ْم لمدة 24 ساعة ، قرأت النتائج بملاحظة مناطق التثبيط حول أقراص المضادات الحيوية وفسرت النتائج مع ما ورد في (37).

### الكشف عن العزلات المقاومة للمثسلين

أجري هذا الفحص حسب طريقة كل من (39) وقد أمكن استعمال مضاد الاوكساسلين عوضاً عن مضاد المثسلين لعدم توفره ، كما أوصت (37).

نقلت عدة مستعمرات بكتيرية نقية من وسط اكار المانيتول الملحي الى أنبوبة اختبار حاوية على (5) مل من Brain heart Infusion Broth (Mast-diagnosis ,England) الحاوي على (2)% كلوريد الصوديوم و تركيز (6) ملغم/لتر من مضاد الاوكساسلين (Sigma,USA) وحضنت بدرجة حرارة (32) °م لمدة (24) ساعة.

بعدها أخذ (٠,١) من المحلول الملقح بوساطة ماصة معقمة الى وسط أكار مولر هنتون الحاوي على 5% من كلوريد الصوديوم و 5% سكروز و (6) ملغم/لتر من مضاد الأوكساسلين (57) وتركت الأطباق لتجف وتم تثبيت اقراص مضاد الأوكساسلين عليها باستعمال ملقط معقم وحضنت الأطباق بحرارة (30) °م لمدة (48) ساعة (56).

أختبار انزيم البيتالاكتميز :

استخدمت طريقة اليود السريعة( Iodometric Method) وحسب ما ورد عن (29)

### التطفير باستخدام الأشعة فوق البنفسجية وحساب النسبة المئوية للبقاء:

تم انتخاب كل من العزلتين E3(معزولة من الأذن) والتي تميزت بمقاومتها لـ 15 مضاد حيوي والعزلة E24 والتي تميزت بحساسيتها لـ 16 مضاداً حيوياً لإجراء التطفير باستخدام الأشعة فوق البنفسجية وحساب النسبة المئوية لبقائها ومقاومتها للإشعاع مقارنةً مع العزلة القياسية ATCC6538p (المركز الوطني للبحوث والرقابة الدوائية /بغداد) والكشف عن الطفرات المحتملة بالتعرض المتزايد للإشعاع. وقد اتبعت طريقة (13).

## النتائج والمناقشة

### مقاومة عزلات المكورات العنقودية الذهبية للمضادات الحياتية

إن الغاية الأساسية من إجراء هذا الاختبار هو لدراسة العلاقة بين المقاومة للمضادات الحياتية والمحتوى الوراثي للعزلات ، ومدى علاقة أو ارتباط هذه المقاومة بالفترة الزمنية للتعرض لأشعة أكس التشخيصية، أي التحري عن التأثير التراكمي للإشعاع في المحتوى الوراثي لعزلات المكورات العنقودية الذهبية المستوطنة طبيعياً في جسم الانسان . أبدت بكتريا المكورات العنقودية الذهبية قيد الدراسة المقاومة لمعظم المضادات الحياتية المستعملة ، الجدول(1).

يعزى سبب مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية المختلفة الى قدرتها على منع التأثير القاتل للمضاد بواسطة آليات متعددة ، تتمثل بتثبيط فعل المضاد عن طريق إنتاج انزيمات مثبطة مثل البيتالاكتميز ، أو بتغيير موقع هدف ارتباط المضاد الحيوي داخل الخلية البكتيرية ، أو بتغيير المسار الأيضي الخلوي ،أو قد يكون عن طريق تغيير نفاذية الغشاء الخلوي ، وميكانيكيات أخرى غير شائعة في بكتريا *Staph. aureus* ( 10, 58 ).

ذكر كل من Khachtourians Mazel (27) (1998) وDavis (32)(1999) و Rosenbloom (40) (2000) ان هناك طرق عدة للحصول على عوامل المقاومة منها ان البكتريا تكتسب DNA خارجي من محيطها ، أو أنها تكتسب المقاومة عن طريق الطفرات وإن تلك الطفرات قد تؤدي الى المقاومة المتصالبة Cross-Resistance أو المقاومة المشتركة Co-Resistance.

وقد أثبتت عدة دراسات أن الإشعاع هو أحد العوامل المطفرة التي تشجع اكتساب عوامل المقاومة تلك. وتعتبر اشعة اكس إحدى المطفرات الفيزيائية Physical Mutagen التي تؤدي الى حصول الطفرات بتردد عالي كما افترضه Bryan (1984) (11) وأيده من قبل Hirman (36) Muller الحاصل على جائزة نوبل عام 1927 لاثباته أن هناك علاقة خطية بين معدل الطفرة والجرعة المستخدمة من أشعة أكس.

الجدول (1) النسبة المئوية لمقاومة عزلات بكتريا *Staph. aureus* قيد الدراسة للمضادات الحياتية

| المضاد الحيوي | عدد العزلات المقاومة | النسبة المئوية% |
|---|---|---|
| Amoxicillin | 90 | 95 |
| Ampicillin | 86 | 91 |
| Ceftazidime | 75 | 79 |
| Cefotaxim | 61 | 64 |
| Cefalexin | 60 | 63 |
| Cefazolin | 60 | 63 |
| Cefalothin | 56 | 59 |
| Ceftriaxone | 44 | 46 |
| Tetracycline | 36 | 38 |
| Co-Trimoxazole | 29 | 31 |
| Streptomycin | 25 | 26 |
| Gentamicin | 25 | 26 |
| Oxacillin | 22 | 23 |
| Chloramphenicol | 12 | 13 |
| Rifampin | 3 | 3 |
| Fusidic acid | 2 | 2 |
| Vancomycin | 0 | 0 |
| Nitrofurantoin | 0 | 0 |

**الكشف عن العزلات المقاومة للمشلين :**

ان الغرض الأساسي للتحري عن عزلات بكتريا المكورات العنقودية المقاومة للمشلين MRSA هو التعرف على نسبة انتشارها بين العاملين في حقل أشعة أكس التشخيصية مقارنة بالدراسات التي أثبتت إمكانية انتشارها وتفشيها بين العاملين في المستشفيات. فقد اعتبرت ظاهرة مقاومة بكتريا المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للمشلين ذات أهمية كبيرة وذلك للقابلية السريعة على الانتشار بين المرضى والكادر الطبي والعاملين في المستشفيات في مختلف انحاء العالم مسببة بذلك العديد من الأخماج المرتبطة بالمستشفيات (55, 6, 33, 41, 51)

لذا فقد درست حساسية عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية البالغ عددها (95) عزلة لمضاد الأوكساسلين وقد أظهرت 23% من العزلات قابليتها على مقاومة لمضاد الأوكساسلين (ORSA) وحيث أن مضادي الأوكساسلين و المشلين ينتميان الى مجموعة البنسلينات المقاومة للبنسليز (Penicillinase Resistant Penicillins) مما يعني أن النتائج المستحصلة من الأول تنطبق على الثاني والعكس صحيح (14,37,49).

لذا اعتبرت 23% من العزلات قيد الدراسة مقاومة للمشلين (MRSA) وذلك من خلال عدم تكوّن اية منطقة تثبيط حول قرص مضاد الأوكساسلين وكذلك قابليتها على النمو في وسط الأوكساسلين الملحي (Oxacillin – salt medium).

تتمكن بكتريا المكورات العنقودية الذهبية من مقاومة المشلين من خلال انتاج بروتين مرتبط بالبنسلين PBP خاص يرمز له PBP2a له ألفة واطئة تجاه مركبات البيتالاكتام (53). الطبيعي ويشفر لانتاج PBP2a الجين *mec*A التركيبي الذي يقع على الكروموسوم . (44) والتعبير عن PBP2a يسيطر عليه بواسطة اثنين من الجينات المنظمة الواقعة على نفس القطعة الكروموسومية DNA *mec* وتلك الجينات هي *mec*I و *mec*R1 يشفر الأول لصناعة بروتين يعمل على كبح الجين *mec*A فيما يعمل الثاني على تشغيل استنساخه. (48,22,30 ).

لقد أكدت كثير من الدراسات على المستوى الجزيئي ، إن المقاومة للمشلين تحدث نتيجة الطفرات الوراثية وهذه تشمل طفرات الحذف Deletion mutations للجين *mec*I أو الطفرات النقطية Point mutations للجين المذكور والتي كانت فعلاً قد وجدت في العديد من سلالات المكورات العنقودية المقاومة للمشلين (24,47,28).

**الكشف عن العزلات المنتجة لانزيم البيتالاكتاميز :**

لقد أظهرت النتائج ان ٣٦ عزلة (٣٧,٨%) كانت منتجة لانزيمات البيتالاكتاميز حيث استخدام البنسلين G كركيزة أساسية في هذا الفحص كما أشار الى ذلك Bush *et al.*,1995(9) ذلك لكي يتم تحويله الى مركب خامل هو Penicilloic acid كما ان السيفالوسبورينات تتحول الى مركب قلق هو Cephalosporic acid من خلال تحليل حلقة البيتالاكتام الموجودة في تركيبه الكيميائي بفعل انزيمات البيتالاكتاميز المفرزة من قبل البكتريا، وتلك المركبات بدورها تغير لون كاشف الاختبار (19).

تقاوم بها البكتريا *Staph. aureus* مضادات البيتالاكتام عند اكتسابها عوامل المقاومة المشفرة من الميكانيكيات المختلفة وأول ميكانيكية عرفت ودرست باستفاضة هي عن طريق انتاج انزيم البيتالاكتميز كاستجابة لوجود مضادات البيتالاكتام في محيطها (14) الذي يعمل على شطر آصرة الامايد لحلقة البيتالاكتام ويشفر له الجين *blaZ* وهذا يقع غالباً على البلازميد وأحياناً على الكروموسوم وهناك امكانية انتقاله بين البكتريا عن طريق البلازميدات (54,60).

وذكر Lowy (2003) (31)ان زيادة انتاج انزيم البيتالاكتامز قد يحدث نتيجة حصول الطفرة في الجين *blaZ* لهذا السبب يستخدم اختبار البيتالاكتاميز ليعطي تصوراً عن الخلفية الوراثية للمقاومة.

**نتائج التطفير باستخدام الأشعة فوق البنفسجية**

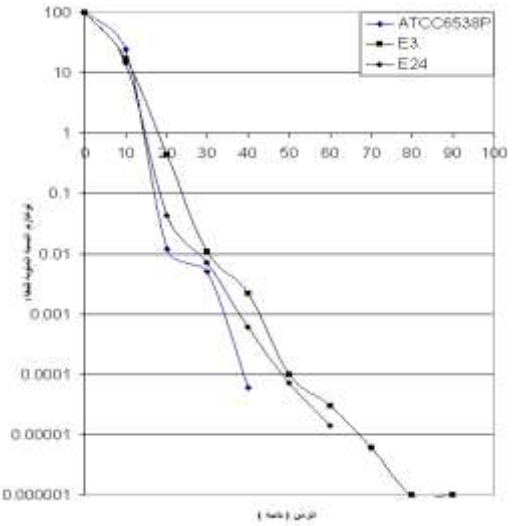
**مقاومة عزلات Staph. aureus للأشعة فوق البنفسجية**

تم اجراء التطفير باستخدام الأشعة فوق البنفسجية بطول موجي ٢٥٤ نانوميتر للعزلتين $E_3$ و $E_{24}$ اللتان كانتا قد أظهرتا اختلافاً في حساسيتهما للمضادات الحيوية المستخدمة قيد الدراسة. فقد أظهرت العزلة $E_3$ مقاومتها لـ ١٥ مضاداً حيوياً شملت الأوكساسلين والتي كانت قد تم عزلها من مصور شعاعي وصلت فترة خدمته في حقل الأشعة السينية التشخيصية ٢٢ سنة وعن عمر ٥٢ في حين أظهرت العزلة $E_{24}$ حساسيتها لـ ١٦ مضاداً حيوياً من بين المضادات الحيوية المذكورة والتي تم عزلها من أحد المصورين العاملين لثمان سنوات في حقل الأشعة السينية التشخيصية وعن عمر ٣٧ سنة. وكان الغرض من عملية التطفير هو التعرف على مدى تأثير تعرض المكورات العنقودية الذهبية المتعايشة للأشعة السينية لسنوات عديدة في نشوء المقاومة للاشعاع مقارنة بمقاومة العزلة القياسية .

أظهرت النتائج فروقاً معنوية واضحة عند مقارنتها بالعزلة القياسية ATCC6538P وعند مستوى احتمالية ($P<0.01$) باستخدام اختبار التحليل الاحصائي Student's Test. ويتضح من الشكل (1)الذي يوضح العلاقة بين مقدار جرعة الاشعاع ممثلة بزمن التعرض للاشعاع (Sec.) والمقاومة للاشعاع ممثلة بالنسبة المئوية للبقاء ( Log Survival) ان العزلة $E_3$ كانت أكثر العزلات الثلاث مقاومة للاشعاع حيث تطلبت فترة ٣٠ ثانية من التعرض لهلاك ٩٩,٩% من الخلايا ، في

حين تطلب هلاك النسبة نفسها لكل من العزلتين $E_{24}$ و العزلة القياسية فترة ٢٠ ثانية من التعرض للأشعة فوق البنفسجية.

**الشكل(١) مقاومة عزلات بكتريا المكورات العنقودية الذهبية للأشعة فوق البنفسجية**




كما تطلبت كل من العزلات الثلاث فترة ١٠٠ ، ٧٠ ، ٥٠ ثانية على التوالي من التعرض لهلاك جميع الخلايا ، مما يشير بشكل واضح الى ان الفترة الزمنية الطويلة من التعرض للأشعة السينية قد أدت الى نشوء آليات متنوعة لاصلاح الضرر الناجم عن الاشعاع وهذا يظهر واضحاً من المنحني البياني للعزلة $E_3$ حيث يظهر فيه الكتف عند الجرعات العالية. فقد أشارت العديد من الدراسات الى ان ظهور الكتف عند الجرع القليلة يعني وجود آلية واحدة كفوءة للاصلاح كما هو الحال عند تشعيع بكتريا *Micrococcus radiodurans* بالأشعة السينية أو فوق البنفسجية ، بينما ظهوره عند الجرع العالية يعني وجود أكثر من آلية واحدة لاصلاح الأضرار الخلوية الناجمة عن التعرض للاشعاع (35).

هذا وقد أظهرت العديد من الدراسات وجود مستويات مختلفة لكفاءة عملية اصلاح الضرر الاشعاعي تسيطر عليها جينات كروموسومية أو بلازميدية او كلاهما معاً تعمل على ازالة الضرر المتسبب عن تعرض البكتريا للأشعة فوق البنفسجية ضمن آليات عمل مختلفة قد تكون في الغالب انزيمية (23).وتحديداً يسيطر على تلك القابلية لاصلاح الجين *rec*A والذي يستحث بواسطة التعرض للاشعاع . فقد أثبتت العديد من الدراسات ان هناك علاقة بين فقدان ذلك الجين (*rec* mutant) وحساسية البكتريا للاشعاع . (21,8 , 50).

## التغيرات الناتجة عن المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية

في الدراسة الحالية استخدمت الأشعة فوق البنفسجية كذلك كعامل مطفر. من خلال تعريض العزلات $E_3$ و $E_{24}$ و ATCC6538P لجرعات متتالية من الأشعة فوق البنفسجية لاحداث درجات مختلفة من التدمير للحامض النووي DNA وذلك بعد وصول النمو الى منتصف الطور اللوغارتمي هذا مع مراعاة اجراء التجربة في غرفة مظلمة لتجنب عمليات الاصلاح بواسطة الضوء.( 34 ,13).

وبعد هلاك اكثر من 99.9% من الخلايا تم اختبار حساسية الخلايا المقاومة للاشعاع للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة الحالية للتحري عن الطفرات الحاصلة في العوامل الوراثية المشفرة لمقاومة تلك المضادات. وقد نتج عن المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية الى حد العتبة Threshold عدد من الطفرات المقاومة للمضادات بسبب استحثاث نظام الاصلاح للضرر الناجم عن الأشعة فوق البنفسجية بعد ازالة المزدوجات المتكونة في الحامض النووي DNA بعمليات تصليح الظلام Dark Repair حيث تلجأ الخلية البكتيرية الى ميكانيكيتين للاصلاح تتم بغياب الضوء وهما بشكل عام الاصلاح القطعي Excision Repair والاصلاح بعد التضاعفي Post-Replication Repair وكلتا العمليتين تتم بعدة خطوات انزيمية.(42, 23, 46, 59)

وقد وجد ان العزلة القياسية أظهرت استعداداً للطفور لثلاث صفات هي المقاومة للتتراسايكلين والأوكساسلين والحساسية للسيفازولين في حين أظهرت العزلة $E_3$ متعددة المقاومة Multiresistant أربع طفرات تمثلت بالحساسية للستربتومايسين والأوكساسلين و السيفازولين والسيفاليكسن. فيما يتعلق بالمقاومة للمشلين فهو أمر وارد بالنسبة لعزلات MRSA متعددة المقاومة فقد وجد Chapple(15) وجماعته (1992) ان الطفرات في الجين mecA لسلالات *Staph. aureus* متعددة المقاومة للمضادات الحيوية تحدث بتردد عالي يقارب ($10^{-3}$) أما عن الستربتومايسين فقد أكد كل من Thompson و Hart (1981) (50) ان تطفير عزلات *Staph. aureus* بواسطة الأشعة فوق البنفسجية ينتج عنه غالباً طفرات مقاومة للستربتومايسين وبالأخص عند الجرعات الأقل من $1\ J/m^2$ وهذا ايضاً معتمد على الجين *rec*A (*rec*A dependent mutant).

كذلك يلاحظ من الجدول نفسه استعداداً أكبر للعزلة $E_{24}$ للطفور في عدد من المواقع الوراثية المشفرة لمقاومة عدد كبير من المضادات الحيوية المستخدمة في هذه الدراسة.

منها المقاومة للستربتومايسين والريفامبين والجينتمايسين والتتراسايكلين وحامض الفيوسدك فضلاً عن عدد من مضادات السيفالوسبورينات وايضاً الفانكومايسين مما يشير بوضوح الى امتلاك تلك العزلة لنظام اصلاح كفوء بدرجة مناسبة لاحداث تلك الطفرات.

وحيث ان هناك آليات عديدة لمقاومة التتراسايكلين و الجينتمايسين ومجموعة السيفالوسبورينات فإن نظام الاصلاح لتلك العزلة ادى الى عدد من الطفرات في مواقع مسيطرة على الآليات المختلفة المنظمة لمقاومة تلك المضادات (45,31)في حين تدل المقاومة للريفامبين وحامض الفيوسدك الى حصول الطفرات الكروموسومية المفردة والمتعددة في الجين *rpo*B والجين المشفر لعامل الاستطالة جي EF–G. (5)أما عن المقاومة للفانكومايسين فقد أشار Adhikari (1) وجماعته (2004) ان تلك المقاومة تنشأ عن طفرات حذف واعادة ترتيب للجين *mec*A يؤيدهم بذلك (43,38) وتلك الطفرات تحدث عادة عند معاملة عزلات *Staph. aureus* بجرعات صغيرة من الأشعة فوق البنفسجية (4,26).

**الجدول (٢) يوضح التغيرات الناتجة عن المعاملة بالأشعة فوق البنفسجية**

| رمز العزلة | | S | RA | C | AM | KF | CN | F | AX | CTX | FD | CAZ | TE | SXT | OX | CZ | CL | VA | CRO |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ATCC6538p | قبل التشعيع | S | S | S | R | R | S | S | R | S | S | S | S | S | S | R | S | S | S |
| | بعد التشعيع | S | S | S | R | R | S | S | R | S | S | S | R | S | R | S | S | S | S |
| $E_3$ | قبل التشعيع | R | R | R | R | R | R | S | R | R | S | R | R | R | R | R | R | S | R |
| | بعد التشعيع | S | R | R | R | R | R | S | R | R | S | R | R | R | S | S | S | S | R |
| $E_{24}$ | قبل التشعيع | S | S | S | R | S | S | S | R | S | S | S | S | S | S | S | S | S | S |
| | بعد التشعيع | R | R | S | R | R | R | S | R | S | I | I | R | S | S | R | S | R | I |

**المصادر**


1. Adhikari, R.P., Scales, G.C., Kobayashi, K., Smith, J.M., Berger-Bächi, B. and Cook, G.M. (2004). Vancomycin-induced deletion of the methicillin-resistance genge *mec*A in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agent.Chemoth., 54 (2) : 360-363.
2. Al-Jebouri,M.M.,Abdulla B.A.,Sharif A.Y.The frequency of three opportunistic pathogens in maternity hospital.Iraq Med. J. 1988; 36: 20-25.
3. Alper,T. and Gillies ,N.E.(1960).The relationship between growth and surivival after irradiation *E coli* strain B and two resistant mutants .J.Gen.Microbiol.,22:113-128.
4. Annear, D. I. and Grubb, W. B. (1976). Methicillin-sensitive variants in ageing broth cultures of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Pathol., 8: 69–72.
5. Aubry-Damon, H., Soussy, CJ., and Courvalin, P. (1998). Characterization of mutations in the *rpo*B Gene that confer rifampin resistance in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemoth., 42 (10) : 2590-2594.
6. Ayliffe, G.A. J., Buckles, A., Casewell, M.W., *et al*. (1998). Revised guidelines for control of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infection in hospitals. J. Hosp. Infect., 39:253-290.
7. Bauer, A.W. , Kirby, W.M. , Sherries, J.C. , and Turk, M. (1966). Antibiotic susceptibility tests by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol., 45 : 493-496.
8. Böhme, H. (1968). Absence of repair of photodynamically induced damage in two mutants of *proteus mirabilis* with increased sensitivity to monofunctional alkylating Agents Mutat. Res., 6: 166-168.
9. Bush, K., Jacoby, G.A. and Medeirous, A.A. (1995). A functional classification scheme for β-lactamase and its correlation with molecular structure. Antimicrob. Agents Chemoth., 39 (6) : 1211 –1233.
10. Brooks, G.F., Butel, J.S and Morse, S.A. (1998). Jawetz, Melinkk and Adelberge's Medical microbiology . 21st ed. Appleton and Lange, Asimon and Schuster Co. California.p.79.
11. Bryan, L.E. (1984). "Aminoglycoside Resistance" P. 241-277. In L.E. Bryan ed. Antimicrob. Drug resistant. Academic Press.
12. Brynjolfsson, A. (1979). Food irradiation and nutrition. The professional Nutritionist., 11 (4) : 7-10.
13. Carrasco,A. and Soto, C. (1987). Mutagenesis of *Clostridium butyricum* .J. Appl. Bacteriol.,63:539-543.
14. Chambers, H.F. (1999). Methicillin Resistance in Staphylococci : Molecular and biochemical basis and clinical implications. Clin. Microbiol. Rev., 10:781-791.

*aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. Epidemiol. Infect., 117:289-295.
29. Koneman, E. W. , Allen, S. D , Janda, W.M., Schreckenborger, P.C. and Winn, Jr., W.C. (1992). Color Plate and Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. J.B. Lippinnocott Company, Washington., pp. 405-429.
30. Kuwahara-Arai, K., Kondo, N., Hori, S., Suzuki, T.E. and Hirmatsu, K. (1996). Suppression of methicillin-resistance in *mec*A containing pre-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strain is caused by the *mec*I mediated repression of PBP2 production. Antimicrob. Agents Chemoth., 40:2680-2685.
31. Lowy, F.D. (2003). Antimicrobial resistance : The example of *Staphylococcus aureus* . G. Clin. Invest., 111:1265-1273.
32. Mazel, D. and Davies, J. (1999). Antibiotic resistance in microbes. Cell. Mol. Life., 56 : 742.
33. Melter, O. , Sanches, I.S., Shindler, J. *et al*., (1999). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clonal types in the Czech Republic. J. Clin. Microbiol., 37 : 2798-2803.
34. Mitchell, T. (2003). MindExpo 2005. A show case of undergraduate Academic excellence. Doane College.
35. Moseley, B.E.B. and Laser, H. (1965). Similarity of repair of ionizing and ultraviolet radiation damage in *Micrococcus radiodurans*. J. Bacteriol., 97: 647-652.
36. Muller, H.J. (1927). Artificial transmutations of gene. Science., 66 : 84-87.
37. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1999). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 9th Informational Supplement NCCLs, Wayns, pa.
38. Reipert, A., Ehlert, K., Kast, T. et al. (2003). Morphological and genetic differences in two isogenic Staphylococcus aureus strains with decreased susceptibilities to vancomycin. Antimicrob. Agents Chemoth., 47: 568–576.
39. Resende, C.A., and Figueredo, M.S. (1997). Discrimination of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus from borderline and susceptible isolate by different methods. J. Med. Microbiol. 46 :145-149.
40. Rosenbloom, H. (2000). Mechanisms of resistance , emerging strains, and methods to keep this increasingly serious problem under control . Drug-resistant Pathogens.J. Respiratory Care Practitioners .,56:876.
41. Rubin, R.J., Harrington, C.A., Poon, A. *et al*. (1999). The economic impact of *Staphylococcus aureus* infection in New York city hospitals. Emerging Infect. Dis. Attlanta., 5 : 9-17.
42. Setlow, R. B and Carrier, W.L. (1966). Pyrimidine dimers in ultraviolet-irradiated DNA. J. Mol. Biol., 17 :237-254.
43. Sieradzki, K., Wu, S. W. and Tomasz, A. (1999). Inactivation of the Methicillin resistance gene *mec*A in vancomycin-resistant
15. Chapple, R.M., Inglis B., and Stewart, P.R. (1992). Lethal and mutational effects of solar and UV radiation on *Staphylococcus aureus.* Arch. Microbiol., 157 (3) : 242-248.
16. Collee, J.G. , Fraser, A.G. , Marmion, B.P. and Simmons, A. (1996). MacKie and Mecartney, practical medical microbiology. 14th (ed.) Churchill Livingstone, U.S.A.
17. Curry, R. Unklesbay, N., Clevenger, T., Brazos, B., Mesyats, G. and Filatov, A. (1999). The effect of high dose rate x-rays on *E. coli* 0157:H7 in ground beef. IEEE on plasma science.
18. Farkas, J. (1997). Physical methods of food preservation. Food microbiology fundamentals and frontiers. M. P. Doyle, L. R. Peauchat, T.J. Montville (eds.) Washington, D.C. ASM Press,pp: 497-519.
19. Garrod, L.P., Reeves, D. S., Phillips, I. , Williams, J.D. and Wise, R. (1978). Laboratory Methods in Antimicrobial chemotherapy. Churchill Livingstone, New York.
20. Grecz N, Rowley DB, Matsuyama A (1983). The action of radiation on bacteria and viruses.In: Preservation of foods by ionizing radiation. Josephson ES and Petrson MS (Eds.). CRC.Press, Boca Raton, Florida. , 2: 167-218.
21. Hertman, I. and Luria, S.E. (1984). Transduction studies on the role of a $rec^+$ gene in the ultraviolet induction of prophage Lambda. J. Mol. Biol., 23 : 117-133.
22. Hirmatsu, K. , Asada, K. , Suzuki, E., Okonogi, K., and Yokota, T. (1992). Molecular cloning and nucleotide sequence determination of the regular region of *mec*A gene in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). FEBSlett., 298 : 133-136.
23. Haward- Flanders, P. (1968). DNA Repair. Annu. Rev. Biochem., 37 : 175 – 200.
24. Hürlimann-Dalel, R. L., C. Ryffel, F. H. Kayser, and B. Berger-Bächi. 1992. Survey of the methicillin resistance-associated genes *mecA*, *mecR1-mecI*, and *fem*A-*fem*B in clinical isolates of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemoth., 36:2617-2621
25. IAEA (2004). International Atomic Energy Agency. Radiation, People and the Environment. IAEA/PI/A.75/04–00391. P.10.
26. Inglis, B., Matthews, P. R. and Stewart, P. R. (1990). Induced deletions within a cluster of resistance genes in the *mec* region of the chromosome of *Staphylococcus aureus*. J. Gen. Microb., 136: 2231–2239.
27. Khachtourians, G.G. (1998). Agricultural use of antibiotics and the evolution and transfer of antibiotic resistance bacteria. CMAJ, 159 :1130.
28. Kobayashi, N., K. Taniguchi, K. Kojima, S. Urasawa, N. Uehara, Y. Omizu, Y. Kishi, A. Yagihashi, I. Kurokawa, and N. Watanabe**.** (1996). Genomic diversity of *mec* regulator genes in methicillin-resistant *Staphylococcus*

51. Trindade, P.A., McCulloch, J.A., Olivera, G. A. and Mamizuka, E.M. ( 2003). Molecular Techniques for MRSA Typing : Current Issues and Perspectives. The Brazillian Journal of Infectious Disease., 7 (1) : 32-43.
52. U.S. Food and Drug Administration (2000). Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies, Pulsed x-rays. Center for Food Safety and Applied Nutrition. USA. IFT/FDA Contrac No. 223-98-2333.
53. Utsui, Y. and Yokota, T. (1985). Role of an altered Penicillin binding proyein in Methicillin and Cephem-resistant *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemoth., 28 :397-403.
54. Vesterholm-Nielsen, M., Larsen, M. Olsen, J. and Aarestrup, F.M. (1999). Occurrence of the *bla*Z gene in Penicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Denmark. Acta Vet. Scand., 40 : 279.
55. Wenzel, R.P., Nettleman, M.D. , Jones, R.N. and Pfaller, M.A. (1991). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* : implications for the 1990s and effective control measures. Am. J. Med. Suppl., 3B:2215-7.
56. WHO (1996). Guidelines for Antimicrobial resistance surveillance.
57. WHO. (1998), Drug information.
58. Wise, R. (1999). A review of the mechanisms of the action and resistance of antimicrobial agents. Can. Resp. J., 6 : 20 .
59. Witkin, E.M. (1969). The role of DNA repair and recombination in mutagenesis. Proc. XII Int. Congr. Genet., 3 : 225-246.
60. Zhang, H.Z., Hackbarth, K.M. Chansky, and Chambers, H.F. (2001). Aproteolytic transmembrane signaling pathway and resistance to β-lactams in Staphylococci. Science., 291 : 1962.

*Staphylococcus aureus*. Microbial. Drug Resistance., 5: 253–257.
44. Song, M.D., Wachi, M.D., Ishino, F., and Matsuhashi, M. (1987). Evolution of an indicible penicillin target protein in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by gene fusion. FEBSLett., 221 :167-171.
45. Speer, B.S., Shoemaker, N.B., and Salyers, A.A. (1992). Bacterial resistance to Tetracycline : mechanisms, transfer and clinical significance. Clin. Microbiol. Rev., 5 (4) : 387-399.
46. Strauss, B. (1968). DNA Repair Mechanisms and their relation to mutation and recombination. Curr. Top. Microbiol. Immunol., 44 : 1-85.
47. Suzuki, E., Kuwahara-Arai, K., Richardson, J. F. and Hiramatsu, K. (1993). Distribution of *mec* regulator genes in Methicillin-resistant *Staphylococcus* clinical strains. Antimicrob. Agents Chemoth., 37:1219-1226.
48. Tesch, W., Ryffel, C., Strässle, A., Kayser, F.H., and Berger-Bächi, B. (1990). Evidence of noval Staphylococcal *mec*-encoded element (*mec*R) controlling expression of penicillin binding protein. Antimicrob. Agents Chemoth., 34 : 1703-1706.
49. Tikofski, L.,and Schukken, Y. H. (2002). A comparison of antibiotic susceptibility patterns for *Staphylococcus aureus* in organic and conventional dairy herds. Organic forming Research foundation project report.Cornell Uneversity., # 00-65.
50. Thompson, J.K. and Hart, M.G. (1981). Novel patterns of ultraviolet mutagenesis and Weiglere combination in *Staphylococcus aureus* and phage phi 11. J. Gen. Microbiol., 124 (1) : 147-157.

# The Sensitivity of Staphlococcus aureus isolated from X-Rays technicians to Antibiotics and the effect of its exposure to u: V. Rays on this Sensitivity

**Ashwq Younis Al- doury[1] , Ali Salih Al-Jebury[1] , Ayad Mohamad Ali Al- Aubaidy[2]**

(Received / / 2007, Accepted 20 / 4 / 2008)

## Abstract

This study was carried out to isolate and identify the Commensal *Staphylococcus aureus* from the technicians worked in diagnostic X-Rays field ,the specimens involved swabs from Ear, Nose, Larynx from different hospitals in Baghdad, Tikreet and Karkuk, its susceptibility to Methicillin and other antibiotics was tested, the study included the resistance of these strains against ultraviolet rays ,probable changes happened ,the resulet can be summarized as :the results showed that 148 bacterial isolate was Gram positive cocci, (95) belongs to *Staphylococcus aureus* ,most of strains were resistant to beta lactam group, most of strains showed high susceptibility against antibiotics used,(36) isolate produced beta lactamase enzyme , (21) isolate of them were resistant to Methicillin , the study also showed that bacterial exposure time to X ray had a clear effect on antibiotic rasestance .

The study showed that long term exposure of *Staph. aureus* to X ray had aclear effect on its high resistance against UV rays ,and isolate of short term exposure was more reliable to change in several characteristics of antibiotics resistance