مجلة جامعة بابل / العلوم الصرفة والتطبيقية / العدد (٤) / المجلد (١٧) : ٢٠٠٩

دراسة بكتريولوجية ووراثية على البكتريا المسببة لحب الشباب

انوار علي الحسيني قسم علوم الحياة ، كلية العلوم ،جامعة بابل

حسن فاضل ناجي قسم علوم الحياة، كلية العلوم ،جامعةدهوك

سامره يونس يوسف

الخلاصة

جمعت ٢١٥ عينة من ١٦٦ مريضاً من كلا الجنسين تراوحت أعمارهم بين ١٣ – ٣٣ سنة ،يعانون من مرض حب الشباب . كانت الإصابة بحب الشباب في الإناث أعلى (٥٣,١ %) من الذكور (46.9 %) ،أما نسب شدة الإصابة فكانت 10.2 % و ١٥,٣ % في الإناث والذكور على التوالي . عزلت ٢٠٠ عزلة بكتيرية موجبة لصبغة كرام هوائية ولاهوائية من تلك العينات،وأظهرت نتائج التشخيص عائدية ١١٠عزلة لبكتريا *Staphylococcus epidermidis* ، ٢٦ عزلة لبكتريا *S. aureus* و٦٤ عزلة لبكتريا *Propionibacterium acnes* ،اجري فحص الحساسية الدوائية للعزلات تجاه ١٩ مضاداً حيوياً شائع الاستعمال طبياً ،وأظهرت هذه العزلات مقاومة متعددة لعدد من هذه المضادات . درس عدد من عوامل الضراوة،إذ كانت جميع عزلات بكتريا *S. epidermidis* و *S. aureus* و 76.9 % من عزلات *P. acnes* منتجة لإنزيم البيتالاكتاميز. أظهرت جميع العزلات للأنواع البكتيرية الثلاثة القدرة على إنتاج إنزيم اللايبيز الذي يلعب دوراً مهماً وأساسياً في إحداث الإصابة بحب الشباب،وكانت 71.4 % من بكتريا *S. epidermidis* و ٥٧,١ % من بكتريا *S. aureus* لها القدرة على إنتاج المواد المخاطية الخارجية . اشارت نتائج الترحيل الكهربائي للدنا الكلي لسبع عزلات من كل نوع في هلام الاكاروز الى احتواء هذه العزلات على حزمتين بلازميديتين أو ثلاث ،بينما اوضحت تجارب التحول أن بلازميدات بكتريا *S. epidermidis* و *S. aureus* لها القدرة على التعبير المظهري في بكتريا*Escherichia coli* MM294 .

Abstract

A total of two hundred and fifteen samples were collected from 166 patients of both sexes at the ages of 13-33 years who were suffering from acne vulgaris. The infection frequency of acne vulgaris was 46.9% in males and 53.1% in females, while the percentages of severity of infection were 10.2% and 15.3% in females and males, respectively. Two hundred areobic and anaerobic gram positive isolates were isolated and identified. Out of these ,110 were *Staphylococcus epidermidis*, 26 were *S. aureus* and 64 were *Propionibacterium acnes*.The antibiotic susceptibility tests of these isolates towards 19 antibiotics were checked and found that the isolates having multiresistance for some antibiotics. A number of virulance factors were studied and it was found that 100% of *S. epidermidis* and *S. aureus* isolates along with 76.9% of *P. acnes* isolates were able to produce of β -lactamase. All isolates were able to produce of lipase which play an essential role in infection, while 71.4% of *S. epidermidis* and 57.1% of *S. aureus* isolates were able to produce of extracellullar slime substances . Agarose gel electrophoresis of whole DNA of 7 isolates of each species of *P. acnes*, *S. epidermidis* and *S. aureus* showed that these isolates were harboured two or three plasmid bands. These were checked by transformation experiments after their expression in *Escherichia coli* MM294.

المقدمة Introduction

يعد حب الشباب (Acne Vulgaris) من المشاكل الصحية التي يتعرض لها الشباب ،ولا سيما في سن المراهقة ،ويعرف على انه اعتلال وحدة الدهن للشعرة (Pilosebaceous Unit) و التي تشمل الغدة الدهنية واقنيتها الموجودة في الجلد والتي تحمل إفرازاتها وهي الزهم (Sebum) إلى سطح الجلد (Burkhart, 2003) . يعزى ظهور حب الشباب إلى عدة عوامل منها زيادة إفراز مادة الزهم وزيادة تقرن الجلد الذي يؤدي إلى انسداد القناة الدهنية ، وزيادة في إفراز هرمونات الاندروجينات وغزو الأحياء المجهرية الذي يؤدي إلى حصول الالتهاب (Thiboutot, 2000) . قسمت الاصابات بحب الشباب الى نوعين هما غير الالتهابي(Non – Inflammatory) ويشمل الفدام (Comedon) بنوعيه المفتوح ذو الرأس الأسود والمغلق

ذو الرأس الابيض، والالتهابي(Inflammatory) ويشمل الحطاطات(Papules) والبثور(Pustules) والعقيدات (Nodules) والندب (Scars) وهذه تظهر في الحالات الشديدة والحادة لحب الشباب (Webster, 2002) . ان المسبب الرئيس لاحداث الاصابة بحب الشباب هي البكتريا الموجبه لصبغة كرام و لاسيما اللاهوائية كبكتريا *P. acnes* و الهوائية كبكتريا *S. aureus* و *S. epidermidis* لامتلاكها عوامل ضراوة مختلفة (Webster, 1995) وظهور طافرات مقاومه لمعظم المضادات الحيويه المتداوله طبيا (Nishijima *et al.*,2000) وقد تكون مضادات البيتالاكتام المستخدمة في علاج حب الشباب غير مجدية بسبب انتاج بعض السلالات البكتيرية لأنزيم β- Lactamase (Webster,2002)، لذا هدفت هذه الدراسة الى عزل وتشخيص البكتريا المسببة لحب الشباب والتحري عن مدى استجابتها للمضادات الحيوية الشائعة الاستعمال طبيا ودراسة نسقها البلازميدي.

المواد وطرائق العمل Materials and Methods

1. جمع العينات Collection of samples

أخذت عينات الفدام والبثور من المرضى المصابين بحب الشباب،من كلا الجنسين وبأعمار تراوحت بين 13-33 سنة ،من المراجعين لمستشفى مرجان التعليمي التخصصي ،قسم الجلدية ،ومركز الحساسية والربو،شعبة الجلدية في مدينة الحلة.مسحت البشرة 2-3 مرات بالكحول الاثيلي (70%) واستخدم قالع الفدام بالنسبةلعينات الفدام وثاقب البثور بالنسبة لعينات البثور. وضعت العينات في قناني معقمة حاوية على وسط مرق الثايوكلايكوليت Thioglycolate broth (Biolife) ونقلت الى المختبر لآجراء التجارب الاحقة.

2 - عزلات البكتريا Bacterial isolates

تم عزل البكتريا المسببة لحب الشباب بعد زرع العينات هوائيا على وسطي اساس أكار الدم Blood agar base(Mast) وأكارالماكونكي MacConkey agar(Biolife) بتقنية التخطيط،ولاهوائيا في وسط مرق الثايوكلايكوليت والمضاف الية 80 Tween 1% . شخصت العزلات اعتمادا على الصفات المظهرية والفحوصات الكيموحيوية (MacFaddin, 2000). كما تم الحصول على السلالتين القياسيتين *E. coli* MM294 و *E. coli* HB101 من قسم التقنيات الاحيائية،كلية العلوم،جامعة بغداد.

3 - اختبار الحساسية الدوائية Antibiotic susceptibility test

اختبرت حساسية العزلات تجاه 19 من المضادات الحيوية والمجهزة بشكل اقراص جاهزة من شركة Oxoid بالاعتماد على ما ذكر في NCCLS (2005).

4 - انتاج المواد المخاطية الخارجية Production of extracellular slime substances

استخدم وسط مرق صويا تربتكيز Trypticase soy broth(Oxoid) في الكشف عن انتاج المواد المخاطية الخارجية (Christensen *et al.*,1982).

5- انتاج انزيم البيتالاكتاميز Production of β-Lactamase

استخدمت طريقة اليود القياسية السريعة (Rapid Idometric Method) في الكشف عن قدرة العزلات على انتاج انزيم β-Lactamase (Collee *et al.*,1996) .

6 -انتاج انزيم اللايبيز Production of lipase

استخدمت طريقة Harryigan and Mafacne (1976) في الكشف عن انتاج انزيم اللايبيز.

7 - استخلاص الدنا الكلى Extraction of whole DNA

اعتمدت طريقة التمليح الخارجي (Salting out) كما ذكرت من قبل Pospiech and Neuman (1995) في استخلاص الدنا الكلي .

8 - الترحيل الكهربائي Gel electrophoresis

تم الكشف عن النمط البلازميدي لعزلات البكتريا بعد اجراء الترحيل الكهربائي في هلام الاكاروز (Maniatis *et al.*,1982) .

9 - التحول البكتيري Bacterial transformation

استخدم الدنا البلازميدي المستخلص من العزلات لتحويل سلالة البكتريا *E.coli* MM294 كما هو متبع في Maniatis وجماعته (1982).

النتائج والمناقشه Results and Discussion

من بين ١٦٦ مريضا" بحب الشباب كان عدد الإصابات في الذكور ٧٨ إصابة (٤٦,٩ %) ،أما عدد الإصابات في الإناث فكانت ٨٨ (٥٣,١ %) ،أي إن تكرار الإصابة في الإناث هي أكثر من الذكور (جدول1).

جدول 1. العلاقة بين الإصابة بحب الشباب والفئات العمرية للإناث والذكور

الفئة العمرية (سنة)	الإناث	النسب المئوية	الذكور	النسب المئوية	العدد الكلي	النسب المئوية
١٣ – ١٨	٣٨	43.1	٢٩	37.1	٦٧	40.4
١٨ – ٢٣	٣٤	38.6	٣٨	48.7	٧٢	43.4
٢٣ – ٢٨	١٠	11.3	٦	7.6	١٦	9.6
٢٨ – ٣٣	٦	6.8	٥	6.4	١١	6.6
المجموع	٨٨	٥٣,١	٧٨	46.9	١٦٦	١٠٠

كانت الفئة العمرية ١٣-١٨ سنة في الإناث هي أكثر إصابة بحب الشباب ،ويعزى السبب في ذلك إلى الوقت المبكر لمرحلة النضج الجنسي وبدأ المراهقة عند الإناث مقارنةً بالذكور (Yeung *et al.* ،2002). فقد تبين أن قمة حدوث المرض تكون بين الفئة العمرية ١٨-٢٣ سنة،إذ بلغت النسبة المئوية43.4 % لكلا الجنسين ،تليها الفئة العمرية ١٣- ١٨ والتي بلغت 40.4 % ثم الفئة العمرية ٢٣- ٢٨ وكانت النسبة المئوية 9.6 % وأخيراً الفئة العمرية٢٨ - ٣٣بنسبة 6.6 % . فقد أشارت دراسات أخرى،الى أن قمة حدوث المرض وشدته يقع ضمن المدى العمري ١٤-١٧ للإناث و١٦-١٩ بالنسبة للذكور (Rossen and Roed – Petersen, 1993; Sharpe, 1995)، وهذا الاختلاف ربما يعزى إلى تداخل عدة عوامل تختلف باختلاف الموقع الجغرافي وطبيعة المناخ،فضلاً عن العامل الوراثي وعامل التغذية وغيرها من العوامل المؤثرة بصورة مباشرة أو غير مباشرة في ظهور حب الشباب أو تفاقمه .

بلغت نسب شدة الإصابة من النوع الخفيف 20.4 % و 25.6 % في الإناث والذكور على التوالي ،أما النوع المتوسط فقد شكّل 69.3 % و 58.9 % في الإناث والذكور على التوالي ،في حين كان النوع الشديد أو

الحاد بنسبة 10.2 % في الإناث و 15.3 % في الذكور ، وهذا يشير إلى أن إصابات حب الشباب من النوع الخفيف والشديد كانت في الذكور أكثر من الإناث (جدول2) ،ويعزى السبب إلى دور هرمون الاندروجين الذكري كمحفز فعال لزيادة نشاط الغدد الدهنية مما ينتج زيادة في إفراز مادة الزهم المهمة في إحداث وتطور الإصابة (Goulden *et al*., 1997; Stathakis *et al*., 1997) .

جدول 2 . شدة الإصابة بحب الشباب لدى الجنسين

شدةالاصابة / الجنس	خفيف	النسب المئوية	متوسط	النسب المئوية	شديد	النسب المئوية	العدد الكلي	النسب المئوية
إناث	١٨	20.4	٦١	69.3	٩	10.2	٨٨	53.1
ذكور	٢٠	25.6	٤٦	58.9	١٢	15.3	٧٨	46.9
المجموع	٣٨	22.8	١٠٧	٦٤,٤	٢١	12.6	١٦٦	١٠٠

اما النتائج المبينة في الجدول 3 فأنها توضح أنواع العينات واعداد والنسب المئوية للعزلات التي تم عزلها من95 عينة فدام و120عينة بثور وهي ١١٠ عزلة لبكتريا *S. epidermidis* ،٦٤ عزلة لبكتريا *P. acnes* و٢٦ عزلة لبكتريا *S. aureus* .

جدول 3. اعداد العزلات ونسبها المئوية في عينات الفدام والبثور

نوع العينة	العدد	اعداد عزلات *S . epidermidis*	النسب المئوية	اعداد عزلات *P. acnes*	النسب المئوية	اعداد عزلات *S. aureus*	النسب المئوية	العددالكلي للعزلات
الفدام	95	٣٠	40.5	٣٦	48.6	٨	10.8	٧٤
البثور	120	٨٠	٦١	٢٨	21.3	١٨	13.7	126
المجموع	215	١١٠	53.6	٦٤	31.2	٢٦	12.6	200

أظهرت اغلب العزلات صفة تعدد المقاومة للمضادات الحيوية وكانت ذات مستوى عالي من المقاومة لمعظم مضادات البنسلينات المتضمنة بنسلين ج ،الاموكسيلين ،الامبيسلين ، والامبيكلوكس ، فقد كانت جميع عزلات *S. epidermidis* و *S. aureus* مقاومة (١٠٠ %) للبنسلين- ج ،في حين أبدت عزلات *P. acnes* مقاومة أوطأ لهذا المضاد(76.92%). أما الاموكسيلين والامبيسلين والامبيكلوكس فقد أظهرت العزلات للأنواع البكتيرية المذكورة مقاومة مختلفة تجاه هذه المضادات (جدول 4). كماأن ١٠٠ % من عزلات *S. epidermidis* و *S. aureus* و 76.9 % من عزلات *P. acnes* ،أعطت نتيجة موجبة لفحص إنتاج البيتالاكتاميز(جدول 5). وبشكل عام يمكن الاستنتاج أن نسب المقاومة لمضادات البيتالاكتام بين جميع العزلات كانت عالية ،وقد يعود ذلك إلى قابلية العزلات على إنتاج إنزيم البيتالاكتاميز الذي يعمل على تحطيم حلقة β – Lactam لجزيئة البنسلين ومشتقاته ومن ثم تثبيط فعل المضاد الحيوي ،وهذا ما أكدته بعض الدراسات لامتلاك الكثير من الأنواع البكتيرية ومنها *P. acnes* و *S. epidermidis* و *S. aureus* القابلية على إنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز(Bonfiglio and Livermore, 1994; Coates *et al*., 2002).

أبدت جميع العزلات حساسية عالية تجاه مضاد الدوكسي سايكلين ،ويعد من المضادات الكفوءة في علاج حب الشباب ،إذ يمتلك هذا المضاد فعالية طيف واسعة ضد الأنواع البكتيرية الموجبة والسالبة لصبغة كرام ، وهو من الجيل الثاني للتتراسايكلينات ،ويعطى في حالة المصابين بحب الشباب الذين لم يستجيبوا لعلاج الجيل

الأول ، ويمتاز بكونه محباً للدهون إذ يتجمع في الغدد الدهنية مما يؤدي إلى قتل الأحياء المجهرية الموجودة في تلك الغدد (Webster, 2002) .

جدول 4. الحساسية الدوائية لعزلات بكتريا *S.aureus*، *S.epidermidis* و *P.*acnes

المجموعة	المضاد الحيوي	التركيز (مايكروغم/قرص)	النسب المئوية للحساسية الدوائية للعزلات:		
			P.acnes	*S.epidermidis*	*S.aureus*
البنسلينات	Penicillin G	IU	76.92 (R)	100(R)	100(R)
			23.07 (S)	0(S)	0(S)
	Ampicillin	10	61.53 (R)	54.54(R)	69.23(R)
			38.46 (S)	45.45(S)	30.76(S)
	Ampiclox	30	53.84(R)	68.18(R)	65.38(R)
			46.15(S)	31.81(S)	34.61(S)
	Amoxycillin	25	69.23(R)	72.72(R)	76.92(R)
			30.76 (S)	27.27(S)	23.07(S)
السيفالوسبورينات	Cephalexin	30	30.76(R)	23.63(R)	15.38(R)
			69.23(S)	76.36(S)	84.61(S)
	Cefotaxime	30	23.07(R)	29.09(R)	30.67(R)
			76.92(S)	70.90(S)	69.23(S)
الأمينوكلايكوسيدات	Amikacin	30	23.07(R)	14.54(R)	42.30(R)
			76.92(S)	85.45(S)	57.69(S)
	Neomycin	30	15.38(R)	20.90(R)	19.23(R)
			84.61(S)	79.09(S)	80.76(S)
	Gentamycin	10	15.38(R)	21.81(R)	42.30(R)
			84.61(S)	78.18(S)	57.69(S)
الكينولونات	Ciprofloxacin	5	23.07(R)	29.09(R)	26.92(R)
			76.92(S)	70.90(S)	73.07(S)
الكلورامفنيكولات	Chloramphenicol	30	23.07(R)	18.18(R)	42.30(R)
			76.92(S)	81.81(S)	57.69(S)
الريفامبسينات	Rifampicin	5	15.38(R)	14.54(R)	7.69(R)
			84.61(S)	85.45(S)	92.30(S)
التتراسايكلينات	Tetracycline	30	46.15(R)	42.72(R)	46.15(R)
			53.84(S)	57.27(S)	53.84(S)
	Doxycycline	30	7.69(R)	2.72(R)	3.84(R)
			92.30(S)	97.27(S)	96.15(S)
السلفانومايت	Trimethoprim / Sulfamethoxazol	1.25+23.75 (25)	15.38(R)	27.27(R)	42.30(R)
			84.61(S)	72.72(S)	57.69(S)
الماكروليدات	Erythromycin	15	46.15(R)	43.63(R)	46.15(R)
			53.84(S)	56.36(S)	53.84(S)
	Clindamycin	2	15.38(R)	6.36(R)	7.69(R)
			84.61(S)	93.63(S)	92.30(S)
	Lincomycin	2	15.38(R)	23.63(R)	42.30(R)
			84.61(S)	76.36(S)	57.69(S)
الكاربابنيمات	Imipenem	10	15.38(R)	10(R)	7.69(R)
			84.61(S)	90(S)	92.30(S)

الرموز: R : مقاومة(Resistance) ، S : حساسة(Sensitive) ، IU : وحدة دولية (International unit).

جدول 5. العزلات المنتجة لانزيم البيتالاكتاميز والفترات الزمنية لحصول التغيير اللوني.

ت	البكتريا	عدد العزلات	وقت التغير اللوني (دقيقة)
١	*S. epidermidis*	١٥	أقل من دقيقة
		٣١	٥
		١٧	٦
		١٢	٧
		٢٥	٩
		١٠	١٠
٢	*S. aureus*	٢٠	أقل من دقيقة
		٢	٥
		٣	٧
		١	٩
٣	*P. acnes*	٣	٥
		٢	١٠
		٥	١٢

إذ إن الاختزال السريع لليود إلى يوديد يعتمد على تركيز وفعالية إنزيم البيتالاكتاميز ،وان هذه الفعالية تتأثر بدرجات الحرارة والرقم الهيدروجيني ،وكمية الإنزيم المنتج خارجياً ،لذا يمكن القول أن العزلة التي أعطت فحصاً موجباً أسرع من بقية العزلات لها من جزيئات الإنزيم ما يكفي لتحويل أكبر عدد من جزيئات البنسلين- ج إلى حامض البنسلوك وهذا يؤدي إلى ظهور النتيجة الموجبة سريعاً (Foley and Perret, 1962) . أختبرت ٧ عزلات لكل من *S. epidermidis* و *S. aureus* التي تميزت بكونها متعددة المقاومة للمضادات الحيوية ومنتجة لإنزيم البيتالاكتاميز ،لاختبار مدى قابليتها على إنتاج المادة المخاطية التي تُعد أحد عوامل الضراوة (Cramtone *et al*., 1999) . وقد تمكنت ٥ عزلات من بكتريا *S. epidermidis* و ٤ عزلات من بكتريا *S. aureus* من إنتاج المادة المخاطية على وسط TSB ،إذ يعد هذا الوسط المفضل لإنتاج المادة المخاطية ،وذلك لاحتوائه على مواد محفزة ومنشطة لإنتاج المادة المخاطية،كسكر الدكستروز والتربتون والفايتون ،إذ تدخل هذه المكونات كمصادر كربونية مهمة في تخليق السكريات المتعددة التي تتكون منها المادة المخاطية (Christensin *et al*., 1982) . أوضحت عدة دراسات أن المادة المخاطية قد تكون أحد أسباب مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية ،إذ تعمل هذه المادة كحاجز يمنع نفوذ المضاد الحيوي إلى داخل الخلية مما يضفي عليها صفة المقاومة ومن ثم فشل المضادات الحيوية في علاج الإصابات التي تنجم عن البكتريا المنتجة للمادة المخاطية (Christensin *et al*., 1987; Tunney *et al*., 1998).

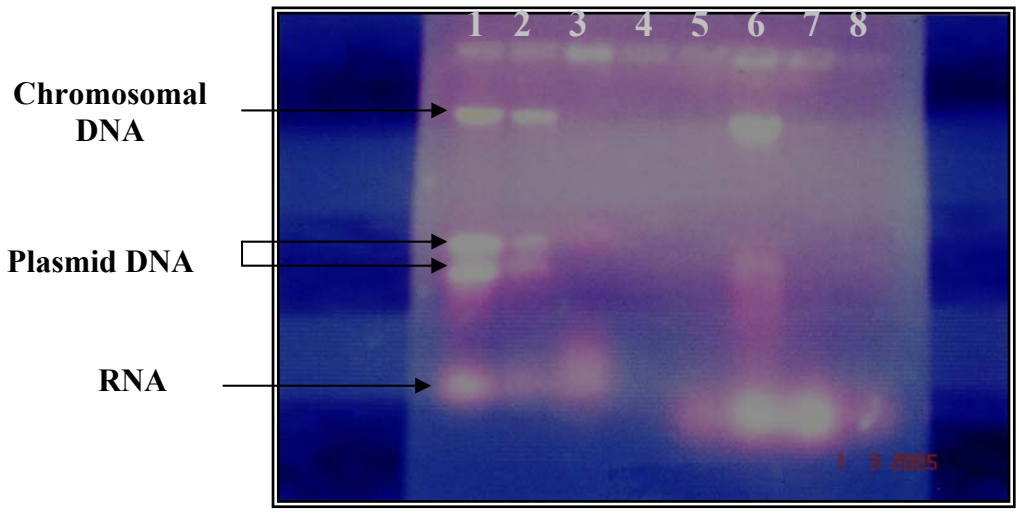
أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي بهلام الاكاروز احتواء عزلات *P. acnes* على بلازميد واحد صغير، إذ يتضح من الشكل (١) احتواء العزلة في المسار ٢ على بلازميد صغير(ذو حجم مقارب لحجم pBR322) ، أما العزلة في المسار ٣ فاحتوت على بلازميد أكبر حجماً من pBR322 ، بينما العزلة في المسار ٦ احتوت على بلازميد أصغر حجماً من pBR322 ، وقد أشار كل من Rehberger و Glotz (١٩٩٠) إلى احتواء عزلات بكتريا *P. acnes* على بلازميدات مختلفة الأحجام تتراوح أوزانها الجزيئية بين أقل من ٦,٦ كيلو زوج قاعدي إلى أكثر من ١٧٨,٥ كيلو زوج قاعدي.

يظهر من الشكل (٢) احتواء جميع عزلات بكتريا *S. epidermidis* على بلازميد واحد صغير (ذو حجم أقل أو مقارب من حجم pBR322) وقد ظهر هذا البلازميد بشكلين فيزياويين ،الدائري المغلق تساهمياً(CCC) والخطي(L) . فقد أشارت بعض الدراسات الى احتواء عزلات *S. epidermidis* على بلازميدات صغيرة تحمل جينات المقاومة لعدد مـن المضادات الحيوية،مثل مضادات (Macrolides , Lincosmide , Streptogramine (MLS)) والتي تشمل مضاد الارثرومايسين (Parisi *et al*., 1981; Leelaporn *et al*., 1995) .

أما الشكل (٣) فيوضح احتواء جميع عزلات *S. aureus* على بلازميد واحد صغير (مقارب في الحجم إلى حجم البلازميد pBR322) وقد ظهر هذا البلازميد في المسارات ٢ ،٣ ،٥ ،٨ بشكلين فيزياويين، الدائري المغلق تساهمياً (CCC) و الخطي(L) ، أما المسارات ٤ ،٦ ،٧ فقد ظهرت بثلاثة أشكال فيزياوية، الدائري المغلق تساهمياً (CCC) والخطي (L) والمفتوح (OC). ومن الجدير بالذكر أن البلازميدات الصغيرة الحجم شائعة الوجود في جنس المكورات العنقودية وخاصة في *S. aureus* ، إذ تحتوي هذه البكتريا على بلازميدات صغيرة الحجم تحمل جينات المقاومة لبعض المضادات الحيوية وكذلك جينات المقاومة لبعض المعادن الثقيلة (Tennent *et al*., 1985) يتضح من هذه النتائج وجود تشابه في النسق البلازميدي لعزلات البكتريا الثلاثة *P. acnes* و *S. epidermidis* و*S. aureus* ، وهذا ما أُكد في الشكل ٤. وقد يفسر ذلك إلى إمكانية انتقال البلازميد نفسه بين البكتريا المتواجدة معا في نفس موقع الإصابة ، والذي يعكس مدى التشابه في نمط المقاومة للمضادات الحيوية في تلك الأجناس، وهذا الاحتمال يتفق مع نتائج دراسات أخرى أشارت إلى إمكانية انتقال صفات المقاومة للمضادات الحيوية من بكتريا *S. epidermidis* إلى بكتريا *S. aureus* نتيجة لعمليات الاقتران والتحول التي تتوسطها البلازميدات (Jaffe *et al*., 1980; Naidoo and Noble, 1987).

تم تحويل سلالة *E. coli* MM294 بمستخلص الدنا البلازميدي للعزلتين (*S. epidermidis* (SE_2) و *S. aureus* (SA_1) ، واستعمل مستخلص الدنا البلازميدي pBR322 الحامل لصفة المقاومة للتتراسايكلين والامبيسلين لتحول السلالة *E. coli* MM294 بوصفها سيطرة موجبة للتأكد من نجاح التجربة . وبعد استخلاص دنا المتحولات وترحيله كهربائياً بهلام الاكاروز كان النسق البلازميدي لهذه المتحولات مشابها للنسق البلازميدي للعزلتين SE_2 و SA_1 (الشكل ٥) وهذا يدل على نجاح التحول وانتقال البلازميدات الحاملة لصفة مقاومة البنسلين والامبيسلين. إن نجاح البلازميدات الصغيرة الحجم المستخلصة من العزلتين SE_2 و SA_1 في قدرتهما على التعبير المظهري في السلالة *E. coli* MM294 يدل على ان هذه البلازميدات ذات مدى مضيفي واسع ، إذ تشير الدراسات إلى إمكانية تعبير البلازميدات المستخلصة من بكتريا *S. aureus* في بكتريا *E. coli* (GryCzan *et al*., 1978; Tennent *et al*., 1985) . وكذلك

تستطيع أن تعبر في بكتريا *Bacillus subtilis* (Ehrlich, 1977; GryCzan *et al*., 1978) ، بينما أشار Jaffe وجماعتـه (١٩٨٠) إلـى إمكانية انتقال صفة المقاومة لمضاد الجنتامايسين بين *S. aureus* و*S. epidermidis* نتيجة لعمليات التحول التي تتوسطها البلازميدات .



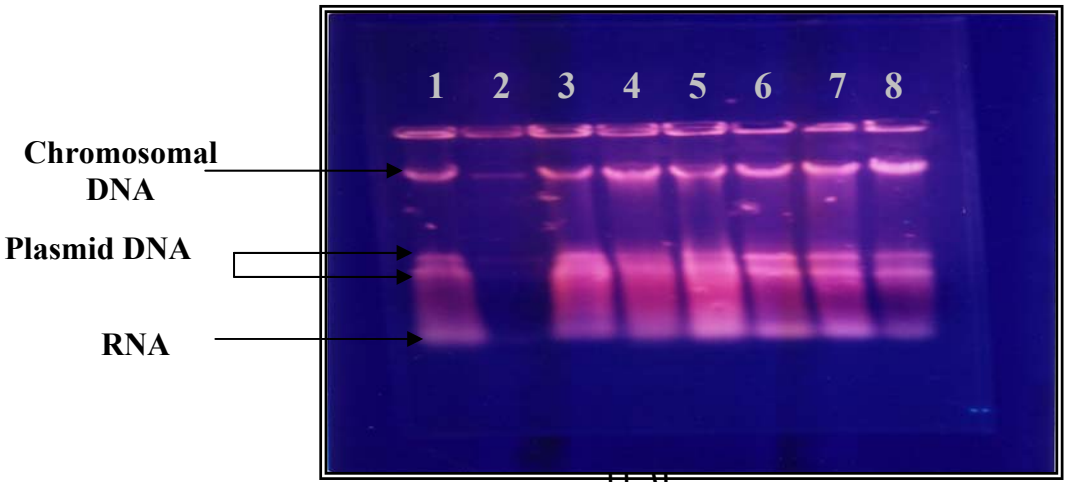
شكل١ . الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز (٠,٨ %) بفرق جهد ٦٥ فولت والذي يظهر مواقع حزم الدنا البلازميدي والكروموسومي لعزلات بكتريا *P. acnes* .

المسار ١ : البلازميد pBR322 — المسار 5 : العزلة PA_4

المسار ٢ : العزلة PA_1 — المسار ٦ : العزلة PA_5

المسار ٣ : العزلة PA_2 — المسار ٧ : العزلة PA_6

المسار 4 : العزلة PA_3 — المسار 8 : العزلة PA_7



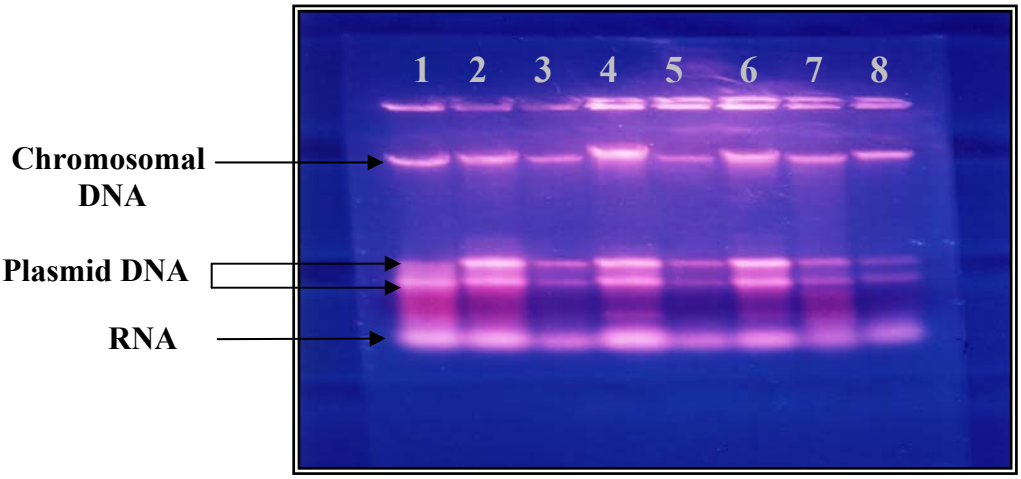
شكل ٢. الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز (0.8 %) بفرق جهد ٦٥_فولت والذي يظهر مواقع حزم الدنا البلازميدي والكروموسومي لعزلات بكتريا *S. epidermidis* .

المسار ١ : البلازميد pBR322 المسار ٥ : العزلة SE_4

المسار ٢ : العزلة SE_1 المسار ٦ : العزلة SE_5

المسار ٣ : العزلة SE_2 المسار ٧ : العزلة SE_6

المسار ٤ : العزلة SE_3 المسار ٨ : العزلة SE_7



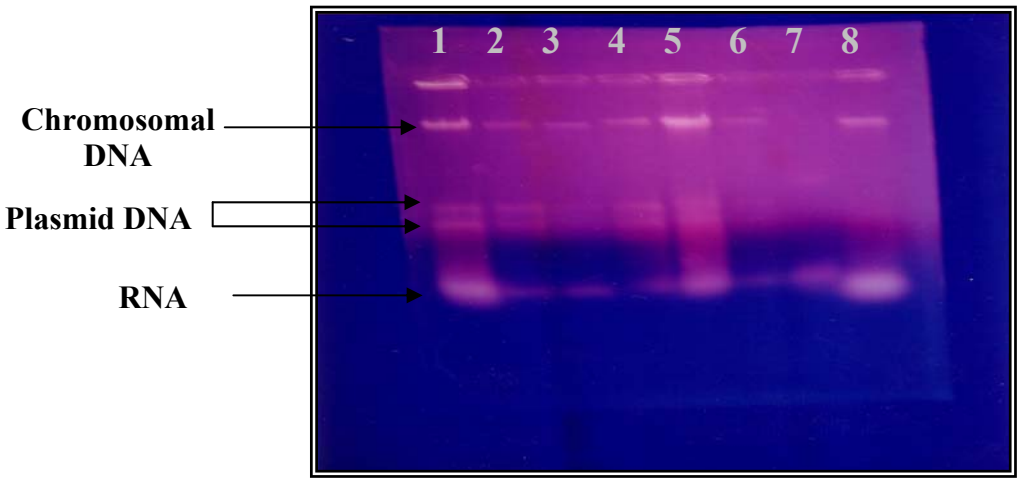
شكل ٣ . الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز (0.8 %) بفرق جهد ٦٥ فولت والذي يظهر مواقع حزم الدنا البلازميدي والكروموسومي لعزلات بكتريا *S. aureus*

المسار ١ : البلازميد pBR322 المسار ٥ : العزلة SA_4

المسار ٢ : العزلة SA_1 المسار ٦ : العزلة SA_5

المسار ٣ : العزلة SA_2 المسار ٧ : العزلة SA_6

المسار ٤ : العزلة SA_3 المسار ٨ : العزلة SA_7



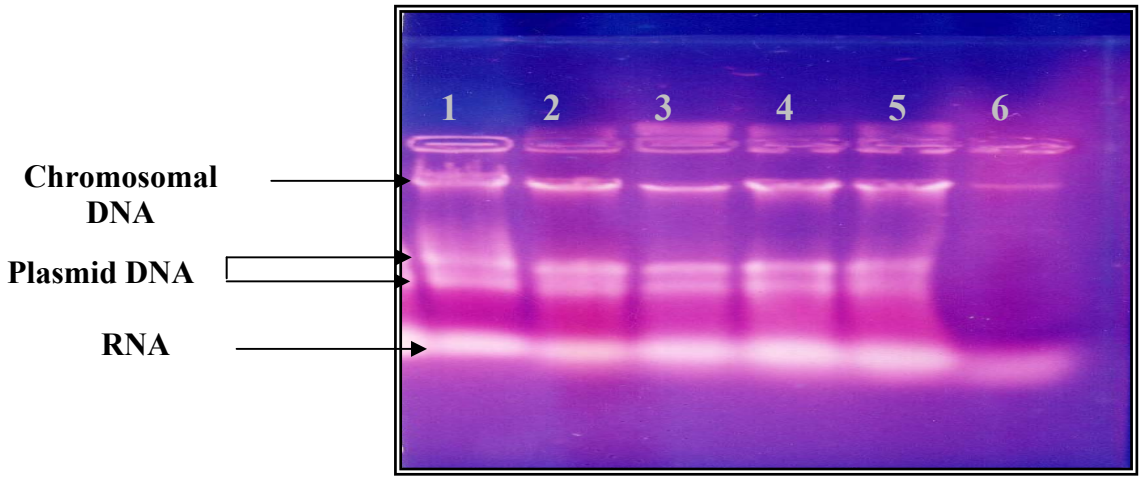
شكل ٤ . الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز (0.8 %) بفرق جهد ٦٥ فولت والذي يظهر مواقع حزم الدنا البلازميدي والكروموسومي لعزلات بكتريا *S. aureus*ا و*S. Epidermidis* و*P.acnes* .

المسار ١ : البلازميد pBR322

المسار ٢، ٣ : العزلتين SA_2 , SA_1 لبكتريا *S. aureus*

المسار ٤، ٥ : العزلتين SE_2 , SE_1 لبكتريا *S. epidermidis*

المسار ٦، ٧، ٨ : العزلات PA_5 , PA_2 , PA_1 لبكتريا *P. acnes*



شكل ٥ . الترحيل الكهربائي في هلام الأكاروز (0.8 %) بفرق جهد ٦٥ فولت والذي يظهر الحزم البلازميدية والكروموسومية للعزلات المستخدمة في التحول.

المسار ١ : السلالة HB101 *E. coli* الحاملة للبلازميد pBR322

المسار ٢ : العزلة SE_2 *S. epidermidis*

المسار ٣ : السلالة MM294T *E. coli*

المسار ٤ : العزلة SA_1 *S. aureus*

المسار ٥ : السلالة MM294T *E. coli*

المسار ٦ : السلالة MM294 *E. coli*

References

Bonfiglio, G. and Livermore, D.M. (1994). β-Lactamase types amongst *Staphylococcus aureus* in relation to susceptibility to β-lactam inhibitor combinations. Antimicrobial. Chemother. **33**: 465 – 481.

Burkhart, C.N. (2003). Clinical assessment of acne pathogenesis with treatment implications. International Pediatrics. **18 (1)**: 14 – 19.

Christansen, G.D.; Baddour, L.M. and Simpson, W.A. (1987). Phenotypic variation of *Staphylococcus epidermidis* slime production in *vitro* and in *vivo*. Infect. Immun. **55**: 2870 – 2877.

Christensen, G.D.; Simpson, W.A.; Bisno, A.L. and Beachey, E.H. (1982).Adherence of slime-producing strains of *Staphylococcus epidermidis* smooth surfaces. Infect. Immun. **37 (1)**: 318 – 326.

Coates, P.; Vyakrnam, S.; Eady, E.A.; Jones, C.E.; Cove, J.H. and Cunliffe, W.J. (2002). Prevalence of antibiotic – resistant *Propionibacterium* on the skin of acne patients: 10 – years surveillance data and snapshot distribution study Br. J. Dermatol. **148 (2)**: 365 – 367.

Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmian, B.P. and Simmons A. (1996). Practical Medical Microbiology "14th ed.". The Churchill Livingstone. Inc. New York, U.S.A.

Cramtone, S.E.; Gerke, C.; Schnell, N.F.; Nichols, W.W. and Gotz, F. (1999). The intercellular adhesion (ica) locus is present in *Staphylococcus aureus* and is required for biofilm formation. Infect. Immun. **67**: 5427 – 5433.

Ehrlich, S.D. (1977). Replication and expression of plasmids from *Staphylococcus aureus* in *Bacillus subtilis*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. **74 (4)**: 1680 – 1682.

Foley, J.M. and Perret, C.J. (1962). Screening bacterialcolonies for penicillinase production. Nature. **195**: 287 – 228

Goulden, V.; Clark, S. and Cunliffe, W. (1997). Post – adolescent acne: A review of clinical features. Br. J. Dermatol. **136**: 66 – 70.

GryCzan, T.J.; Contente, S. and Dubnau, D. (1978). Characterization of *Staphylococcus aureus* plasmids introduced by transformation into *Bacillus subtilis*. J. Bacteriol. **134**: 318 – 329.

Harryigan, W.F. and Mafacne, M.E. (1976). Laboratory method in food and dairy microbiology. Academic Press. Inc. London.

Jaffe, H.W.; Sweeney, H.M.; Nathan, C.; Welnstein, R.A.; Kabins, S.A. and Cohen, S. (1980).Identity and interspecific transfer of gentamycin – resistance plasmids in *Staphylococcus aureus* and *S. epidermidis*. J. Infect. Dis. **141**: 738 – 747.

Leelaporn, A.; Firth, N.; Paulsen, I.T.; Hettiaratchi, A. and Skurray, R.A. (1995). Multidrug resistance plasmid PSK108 from coagulase–negative Staphylococci: relationship to *Staphylococcus aureus* qacC plasmids. Plasmid. **34**: 62 – 67.

MacFaddin, J.E. (2000). Biochemical test for identification of medical bacteria."3rd ed." Lippin Cott Williams and Wilkins. Philadelphia, U.S.A.

Maniatis, T.; Fritsch, E.F.; and Sambrook, J. (1982). Molecular cloning: A Laboratory Manual. Cold spring Harbor Laboratory. Cold spring Harbor, New York.

Naidoo,J. and Noble, W.C.(1987).Skin as a source of transferable antibiotic resistance in coagulase- negative staphylococci. Zentrabatt Bakt Suppl. **16**:225 -234.

National Committee for Clinical Laboratory Standards (2005). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.15th.ed. informational supplement(M100-S15). National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wanye, Pa.USA.

Nishijima, S. ; Kurokawa , I.; Katoh, N.and Watanabe, K.(2000).The bacteriology of acne vulgaris and antimicrobial susceptibility of *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis* isolated from acne lesion.J. Dermatol.**27(5)**:318–323.

Parisi, J.T.; Robbins, Lampson, B.C. and Hecht, D.W. (1981). Characterization of amacrolide, lincosamide, and streptogramin resistance plasmid in *Staphylococcus epidermidis*. J. Bacteriol. **148**: 559 – 564.

Pospiech, J. and Neuman, T. (1995). Preparation and analysis of genomic and plasmid DNA (ed. Kieser, T) Norwich, U.K.

Rehberger, T.G. and Glotz, R.A. (1990). Characterization of *Propionibacterium* plasmids. Appl. Environ. Microbiol. **56 (4)**: 864 – 871.

Rossen, M.H. and Roed –Petersen, J. (1993). Acne vulgaris. Ugeskrlaeger. **155 (11)**: 775–778.

Sharpe, G.R. (1995). Prescribing for acne vulgaris. Prescriber's J. **35 (2)**: 53 – 58.

Stathakis, V.; Kilkenny, M. and Marks, R. (1997). Descriptive epidemiology of acne vulgaris in the community. Australia's. J. Dermatol. 38 (3): 115 – 123.

Tennent, J.M.; Lyon, B.R.; Gillespie, M.T.; May, J.W. and Skurray, R.A. (1985). Cloning and expression of *Staphylococcus aureus* plasmid – mediate quaternary ammonium resistance in *Escherichia coli*. Antimicrob. Agents Chemother. **27 (1)**: 79 – 83.

Thiboutot, D.M. (2000). New treatments and therapeutic strategies for acne. Arch. Fam. Med. **9 (2)**: 179 – 187.

Tunney, M.M.; Ramage, G.; Patrick, S.; Nixon, J.R.; Murphy, P.G. and Gorman, S.P. (1998). Improved antibiotic therapy for elimination and prevention of prosthetic hip infection. J. Pharm. Pharmacol. **50**: 40 – 45.

Webster, G.F. (2002). Acne vulgaris. BMJ. **325**: 475 – 479

Webster, G.M. (1995).Inflammation in acne vulgaris.J. Am. Acad. Derm.**33**: 247-253.

Yeung, C.K.; Teo, L.H.Y.; Xiang, L.H. and Chan, H.H.L. (2002). A Community – based epidemiological study of acne vulgaris in Hong Kong adolescents. Acta. Dermato – Venereol. **82 (2)**: 104 – 114.