P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (JUAPS) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2007 ,(1), (2) :46-53

دور البلازميدات في مقاومة بكتريا *Kl. pneumoniae* للمضادات الحيوية.

خلف جاسم محمد الدليمي

جامعة الانبار – كلية العلوم – قسم علوم الحياة

معلومات البحث:
تاريخ التسليم: ٢٠٠٦/٥/١
تاريخ القبول: ٢٠٠٦/١٢/٩
تاريخ النشر: ١٤/ ٠٦ / ٢٠١٢
DOI: 10.37652/juaps.2007.15444

الكلمات المفتاحية:
البلازميدات ،
مقاومة ،
Kl. pneumoniae ،
مضادات الحيوية.

الخلاصة:

عزلت البكتريا *Kl. pneumoniae* من عينة ادرار لشخص مصاب بالتهاب المجاري البولية وشخصت اعتمادا على خصائصها الزرعية والمجهرية وتفاعلاتها الكيموحيوية . أجري لها اختبار الحساسية اتجاه المضادات الحيوية واظهرت النتائج حساسية البكتريا للمضادات الحيوية Cephaloxin , Tobramycin , chloramphenicol , rifampicin , Gentamycin , Amoxycilin Carpenicillin , Ampicillin , ومقاومة للمضادات الحيويةNeomycin , Clindomycin , penicillin G , Vancomycin , Cefalotine , Trimethprim , Cloaxcillin , Nalidixic acid , metronidazole , Fusidic acid , Lincomycin , اظهرت نتائج دراسة المحتوى من الـDNA البلازميدي احتواء البكتريا على بلازميد بوزن 8.6 كيلو زوج قاعدي بالمقارنة مع البلازميد PBR 322 المعزول من البكتريا *E. coli* HB101. لدراسة دور البلازميدات في المقاومة للمضادات الحيوية اجريت تجربة تحييد الـ DAN البلازميدي باستخدام مادة SDS وقد اظهرت نتائج هذه التجربة فقدان صفة المقاومة للمضاد الحيوي Nalidixic acid بعد الفقدان الفيزيائي للبلازميد الحامل له كما أكده عملية الترحيل الكهربائي الهلامي.

المقدمة

البلازميدات عبارة عن قطع DNA دائرية لها القابلية على التكرار المستقل عن كروموسوم المضيف وهي تتوارث بثبات على شكل قطع منفصلة عن الكروموسوم. تنتشر البلازميدات بشكل واسع في خلايا البكتريا، وهي تختلف في احجامها فمنها مايكون حجمه اقل من 1* 106 دالتون ، في حين يزيد حجم البعض منها على 106 * 200 دالتون ، وهي غير ضرورية عادة لحياة المضيف الا ان وجودها قد يعطي المضيف صفات اضافية تمكنه من العيش تحت ظروف استثنائية . من اهم الصفات المحمولة على البلازميدات هي المقاومة للمضادات الحيوية وانتاج الهيمولايسين وتخمير السكريات ومقاومة المعادن الثقيلة وتكوين السرطانات في النباتات وغيرها من الصفات

علماً ان هناك الكثير من البلازميدات التي لايعرف لها صفات مظهرية لحد الآن ولهذا يطلق عليها اسم البلازميدات الخفية cryptic plasmid[1]

قسم من البلازميدات لها القدرة على الاندماج داخل كروموسوم الخلية كبلازميدات الجنس (بلازميد الخصوية) وبلازميد Ti وهو بلازميد محفز للتسرطن في بعض النباتات عند الاصابة ببكتريا *Agarobacterium tumifeciens* نتيجة وجود العوامل الجينية المشفرة لمواد ذات صفة نتروجينية تعرف بالاوبينات Opines ، لهذا النوع من البلازميدات القدرة على الاندماج في DNA الخلية النباتية مؤدي الى حدوث نموات غير اعتيادية في منطقة الاندماج يشار اليها بمنطقة السرطان وتعرف البلازميدات التي تمتلك القدرة على الاندماج داخل الكروموسوم بالابيسومات Episomes [2]

* Corresponding author at: Anbar University - College of Science - Department of Life Sciences, Iraq;

E-mail address:

بـالنظر لوجـود اعـداد كبيـرة مـن البلازميـدات المختلفـة ، واستمرار اكتشاف بلازميدات جديدة فقد وضعت عدة نظم في تقسيم هذه البلازميدات من اجل تسهيل دراستها . تقسم البلازميدات اعتمادا على أحـد هـذه الـنظم الـى نـوعين رئيسـيين همـا البلازميـدات الاقترانيـة conjugative plasmids التي تحتوي على مجموعة من الجينات الناقلة transfer genes التي تسمى جينات tra المحفزة لعلمية الاقتران في البكتريا والبلازميدات غير الاقترانية Non conjurgative plasmids التي لاتحتوي على جينات tra وبهذا تكون البكتريا الحاوية على على مثل هذه البلازميدات غير قادرة على بدء عملية الاقتران [3].

يعتمد النظام الاخر لتقسيم البلازميدات على عدد نسخ البلازميد الموجـود فـي المضـيف وبهـذا تقسـم البلازميـدات الـى نـوعين همـا البلازميدات المسترخية او المستريحة Relaxed plasmids والتي تتواجد في خلية المضيف بعدد كبير من النسخ ولايرتبط تضاعف الـ DNA فيها بتضاعف DNA خلية المضيف ويمكن ان يصل عدد نسخها داخل الخلية الواحدة الى 200 -10 نسخة ، والبلازميدات المتشددة أو المقيدة Stringent plasmid والتي يرتبط تضاعفها بتضاعف الـ DNA وتتميز بقلة عدد نسخها في الخلية [4]، استهدفت هـذه الدراسـة تحديـد دور البلازميـدات فـي مقاومـة بكتريـا *Kl. pneumoniae* لعدد من مضادات الحيوية.

المواد وطرق العمل

عزل وتشخيص البكتريا

عزلت البكتريا من عينة إدرار لشخص مصاب بالتهاب المجاري البولية اعتمادا على خصائصها الزرعية على وسط Macconky agar وعلى خصائصها المجهرية وتفاعلاتها الكيموحيوية [5]

إختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية

استخدمت طريقة الاقراص لمعرفة حساسية البكتريا للمضادات تحت الاختبار [6]

عزل الـ DNA البلازميدي

عزل الـ DNA البلازميدي من البكتريا تحت الدراسة بالاعتماد على مسخ الـ DNA الكرموسومي بالتسخين الى درجة الغليان ومن ثم ترسيب الـ DNA البلازميدي باستخدام الايزوبروبانول[7]. وتتلخص خطوات العمل بتلقيح 5 مللتر من الوسط الزرعي السائل (L - broth Luria) (١٥ غرام Tryptone ، 5 غرام Yeast extract ، 5 غرام Nacl ، ٥ غرام D-glucose في لتر من الماء عند اس هيدروجيني قدره 7.5 بمستعمرة بكتيرية مفردة وحضن الوسط الملقح بالبكتريا عند درجة حرارة 37C باستخدام حاضنة هزازة لمدة 24 ساعة ثم نبذ 1.5 مللتر من المزروع البكتيري لمدة دقيقة واحدة ومن ثم تم التخلص من المحلول الرائق وجفف الراسب البكتيري وعلق بـ 350 مايكروليتر من محلول يتكون من (8 % sucrose , 0.5% Triton x- 100,50mM EDTA(PH 8.0), 10mM Tris-Cl (PH (PH 8.0)).اضيف 25 مايكروليتر من محلول محضر آنياً من (PH 8.0) Tris-Cl يحتوي على الانزيم الحال lysozyme بتركيز 10 ملغرام / مللتر ومزجت محتويات الانبوبة جيداً لمدة 40 ثانية. وضعت الانبوبة في حمام مائي مغلي لمدة 40 ثانية ثم نبذت لمدة 10 دقائق عند درجة حرارة الغرفة ومن ثم تم التخلص من الراسب باستخدام عيدان تنظيف الاسـنان واضـيف الـى المحلـول الرائـق 40 مـايكروليتر مـن خـلات الصوديوم بتركيز 2.5 مولاري و 420 مايكرو ليتر من الايزوبروبانول ومزجت محتويات الانبوب جيداً وحفظت الانبوبة في حمام كحولي ثلجي لمدة 15 دقيقة ومن ثم نبذت الانبوبة لمدة 15دقيقة عند درجة حرارة 4C ثم تم التخلص من المحلول الرائق وعلق الراسب بـ 50مايكرو ليتر من محلول TE المتكون من (PH - Trisl-Cl (10mM

((EDTA (PH 8.0 1mM,(8.0 والحاوي على الانزيم الهاضم للـ RNA (RNase) بتركيز 50 مايكرو غرام / مللتر وحضن عند درجة 37C لمد 10 دقائق وحفظ ناتج التحضير عند درجة حرارة 4C لحين اجراء عملية الترحيل الكهربائي.

الترحيل الكهربائي الهلامي

حضر قالب من هلام الاكاروز بتكيز 1% باذابة الاكاروز في محلول الترحيل الكهربائي TBE بتركيز (1 X) (حضر المحلول TBE بتركيز (5 X) باذابة 54 غرام من Tris-base 27.5، غرام من حامض البوريك Boric acid, 20 مللتر مـن 0.5M EDTA (PH (8.0 في لتر من الماء) وصبه قبل ان يتصلب في قالب يحتوي على مشط بارتفاع 1-0.5 ملمتر عن القاعدة لصنع حفر بالقرب من احدى حافتي الهلام تعبأ فيها النماذج ثم ترك الاكاروز يتصلب بدرجة حرارة الغرفة لفترة زمنية ثم رفع المشط من القالب لتتكون الحفر . مزجت عينةDNA البلازميدي مع محلول التحميل Loading buffer بتركيز (1X) (حضر محلول التحميل بتركيز (6X) باذابة bromophenol blue % 0.25 و sucrose (w/v) 40% في الماء ثم رحلت عينـة DNA البلازميـدي كهربائيـاً بالمقارنـة مـع البلازميـد pBR322 المعزول من بكتريا Escherichia coli HBlol لمدة 6 ساعات بسرعة 4 فولت / سنتمتر ثـم صـبغ هـلام الاكـاروز بصـبغة بروميـد الاثيديوم بغمر الهلام في ماء مقطر حاوي على الصبغة بتركيز نهائي مقـداره 0.5 مـايكروغرام / مللتـر لمـدة 45 دقيقـة ثـم شخصـت حـزم الDNA البلازميدي باستخدام الاشعة فوق البنفسجية عند طول موجي مقداره 302 نانوميتر بعد ذلك تم ازالة الصبغة الزائدة بغمر الهلام في الماء المقطر لمدة 30 دقيقة ثم اخذت صورة للهلام باستخدام كاميرا نوع Polaroid [7] .

تحديد الـDNA البلازميدي

تم تحديد التركيز المثبط الادنى MIC لمادة SDS بزرع البكتريا على وسط المرق المغذي الحاوي على تراكيز مختلفة من مادة SDS (400000,200000,100000,50000,25000) مـايكروغرام/ مللتـر وحضـنت الانابيـب عنـد درجـة حـرارة 37C لمـدة 24 سـاعة. اجريـت سلسلة من التخافيف لكل تركيز وزرعت على الاكار المغذي لحساب العدد الكلي الحي للخلايا. انتخبت 100 مستعمرة بكتيرية ناتجة عن زرع البكتريـا الواقعـة تحـت تـاثير مـادة SDS بتركيـز 100000 مـايكروغرام/مللتر وكـررت علـى وسـط الاكـار المغـذي الحـاوي علـى المضادات الحياتية Clindomycin, Cloxacillin, Trimethprim, Cefalotin, Vancomycin, Penicillin G, lincomycin ,Fusidicacid , Metronidazole , Nalidixic acid وتم التحري عن الخلايا المحيدة اعتماداً على فقدان صفة المقاومة للمضاد الحياتي وكذلك عن طريق عزل البلازميدات وترحيلها كهربائياً للتأكد من حالة الفقدان الفيزيائي للبلازميدات تحت تأثير العامل المحيد [8] .

النتـائج

عـزل وتشخيص البـكتريا

اسفرت عملية زرع البكتريا على وسط Macconky agar عن ظهور مستعمرات ملساء محدبة حافتها متعرجة مخاطية ذات لون وردي (صـورة 1) واظهرت الفحوصات المجهرية عن كون البكتريا عصويه ، سـالبة لصـبغة كرام ، مكونـة للمحفظـة ، غيـر متحركـة وغيـر مكونـة للسبورات أ ما التفاعلات الكيموحيوية للبكتريا فيبينها جدول 1 .

إختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية

أظهـرت البكتريا حساسية لقسم مـن المضـادات الحيويـة ومقاومـة للقسم الاخرمنها(جدول2)

عـزل الـ DNA البلازميدي

أظهرت عملية الترحيل الكهربائي الهلامي احتواء البكتريا على بلازميد ذو وزن جزيئي يقدر بـ 8.6 كيلو زوج قاعدي بالمقارنة مع البلازميد pBR322 المعزول من بكتريا *E. coli* HBlol (صورة 2).

تحييد الـDNA البلازميدي

أظهرت البكتريا وكما هو مبين في شكل 1 عدم تأثرها بمادة SDS عند التراكيز 25000, 50000, 100000 مايكروغرام /مللتر حيث كانت نسبة بقاء الخلايا 65%, , 85%,75%, على التوالي في حين كانت نسبة بقاء الخلايا 25% عند التركيز 200000 مايكروغرام/ مللتر والذي يمثل التركيز المثبط الادنى وبذلك اختير التركيز 100000 مايكروغرام/ مللتر كتركيز محيد للبلازميدات . أظهرت دراسة التحييد فقدان البكتريا لصفة المقاومة للمضاد الحيوي Nalidixic acid بسبب التأثير المحيد لمادة SDS عند تركيز 100000 مايكروغرام/ مللتر .

المنـاقشة

عـزل وتشخيص البـكتريا

يعزى اللون الوردي للبكتريا على وسط Macconky agar الى قدرة البكتريا على تخمير سكر اللاكتوز الموجود في الوسط .

أما القوام المخاطي فيعزى الى انتاج البكتريا للمحفظة خلال فترة نشاطها حيث تحيط جسمها بطبقات من السكريات المتعددة التي تكون المحفظة. تلجأ البكتريا الى التفاعلات الكيموحيوية لاجراء جملة من التغييرات على المغذيات لغرض النمو والتكاثر ، فقد يتوجب عليها أن تغير هذه المغذيات وهي لم تزل في الوسط المغذي وقبل ان تدخل الى الخلية، وعليها ان تجري تحويرات اخرى لحظة دخول هذه المواد الى الخلية حيث يصنع قسم من هذه المواد المحورة الى مركبات تشكل جزء مهم من الخلية ويبسط قسم آخر ليهيء الطاقة الضرورية لهذه التصنيعات [9] .

إختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية

تعزى مقاومة بكتريا *Kl. pneumoniae* للمضادات الحيوية إلى امتلاكها المحفظة وانتاجها الانزيمات المحطمة القادرة على تحليل جزيئة المضاد او إجراء تحويرات فيها محولة اياها الى جزيئات خاملة وتاتي في المقدمة إنزيمات البيتالاكتاميز B-lactamase المحطمة لمجموعة البنسلينات والسيفالوسبورينات التي تعد من الاسباب الرئيسية لفشل الكثير من الحالات العلاجية، حيث وجد إن اغلب الاوبئة سببها سلالات منتجة لانزيمات البيتالاكتاميز من قبل بلازميدات معظمها اقترانية حاملة لصفة المقاومة المتعددة ، وقد اعتبرها البعض اخطر بكثير من المقاومة نتيجة الانزيمات الكروموسومية ضد مجموعة البيتا لاكتام B-lactam اما سبب حساسية البكتريا *Kl. pneumoniae* لقسم من المضادات هو عدم استخدام هذه المضادات سابقاً ضد البكتريا وبذلك لاتملك البكتريا جينات وراثية موروثة من اسلافها المقاومة لهذه المضادات كما ان بعض هذه المضادات يحيد البلازميد وبذلك تفقد صفة المقاومة عند البكتريا لذلك المضاد كما في المضاد الحيوي Rifampicin ومجموعة مضادات Quinolone [8] [10] [11].

عـزل الـ DNA البلازميدي

أوضحت النتائج احتواء بكتريا *Kl. pneumoniae* على بلازميد ذو وزن جزيئي يقدر بـ 8.6 كيلو زوج قاعدي . اشار كل من Baya [12] و Rice [13] الى انه ليس هناك علاقة وثيقة بين عدد الحزم البلازميدية او الوزن الجزيئي للبلازميدات مع عدد ونوع المضادات التي تقاومها البكتريا . تمتاز الصفة المحمولة على البلازميد بانها اكثر اهمية من تلك المحمولة على الكروموسوم وذلك لقابليتها على الانتقال وسرعة الانتشار بين الانواع البكتيرية المختلفة وتزداد اهميتها عندما تشفر البلازميدات لصفة معينة مثل المقاومة لعدد من المضادات الحيوية وانتقالها من البكتريا المرضية الى البكتريا غير المرضية مسببة مشاكل خطيرة[14]. تظهر اهمية دراسة النسق او

المحتوى البلازميدي من خلال توصيف البلازميدات المستخلصة من العزلات البكتيرية العائدة للنوع البكتيري نفسه او للانواع البكتيرية المختلفة وذلك عند وجود تماثل في عدد وحجم البلازميدات المستخلصة من النوع البكتيري الواحد او بين الانواع البكتيرية المختلفة[15] وقد اشارت دراسات حديثة لعدة عزلات من بكتريا *Kl. pneumoniae* أنها كانت تشترك في احتواءها على بلازميد واحد على الاقل ومن الممكن ان يحدث انتقال للبلازميدات بين العزلات وذلك عن طريق الاقتران او التحول الوراثي .

تحييد الـ DNA البلازميدي

كما هو واضح من النتائج إن مادة SDS ذات تاثير محيد على البكتريا *Kl. pneumoniae* عند تركيز 100000 مايكرو غرام / مللتر وهذا يتفق مع ماأشار اليه Trerors [8]من إن مادة SDS تكون ذات تاثير محيد عند تركيز 10% . أظهرت النتائج فقدان صفة المقاومة للمضاد الحيوي Nalidixic acid وبشكل كامل على وسط الأكار المغذي الحاوي عليه وهذا يؤكد فقدان كل أو جزء من البلازميد الموجود في بكتريا *Kl. pneumoniae* المسؤول عن مقاومة المضاد الحيوي Nalidixic acid . ولأجل اثبات صحة هذه النتائج تم استخلاص الـ DNA البلازميدي من بكتريا *Kl. pneumoniae* الواقعة تحت التأثير المحيد لمادة SDS فوجد عدم احتوائها على أي حزمة بلازميدية مما يؤكد قابلية مادة SDS على تحييد الـ DNA البلازميدي حيث تعمل هذه المادة على سحب البلازميدات الصغيرة الحجم القريبة من الجدار الخلوي [8]. اشار كل منWolfson[16] و Danilevskaya and ragerov [17] إلى تأثير المواد Coumermycin, Novobiocin في تحييد البلازميدات من خلال التأثير على تحت الوحدة B (Subunit B) في انزيم DNA gyrase كما أشار Fu [11] الى تاثير مضادات Quinoloneفي تحييد البلازميد pBR322 في بكتريا *E.coli* والبلازميدات pUBllo و pPL603 في بكتريا *Bacillus subtilis* والبلازميد pSC194 في بكتريا *Staphylococcus aureus* .

References

[1] Bukari, A.I.; Shapiro, J.A.and Adhya, S-L-(1977) .DNA insertion elements, plasmids, and episomes .cold Harbor Laboratory press. Cold spring Harbor, New York.

[2] Hooykass-Van Slogtern, G.M.S; Hooykass, P.J.J. and schilperoort , R.A.(1984). Experession of of Ti plasmid genes in monocotyledonous plants infected with Agarobacterium tumefaciens. Nature-311: 763-764

[3] Davis, R.W-; Botstein, D.and Roth, J.R.(1980).Advanced bacterial genetics .Cold spring Harbor Laboratory. Cold spring Harbor, New Yourk.

[4]Novick,R.P.(1980). Plasmid.Sci.Amer-243 (6):102-127.

[5]Starr, M.P.; Truper, H.G.; Stlop, H.; Balows, A. andchteyel, H.G. (1981). The Prokaryotes Alt and book on Isolation and Identification of Bacteria Vol-I, spring –Verlag Berlin Heidelbery, New York

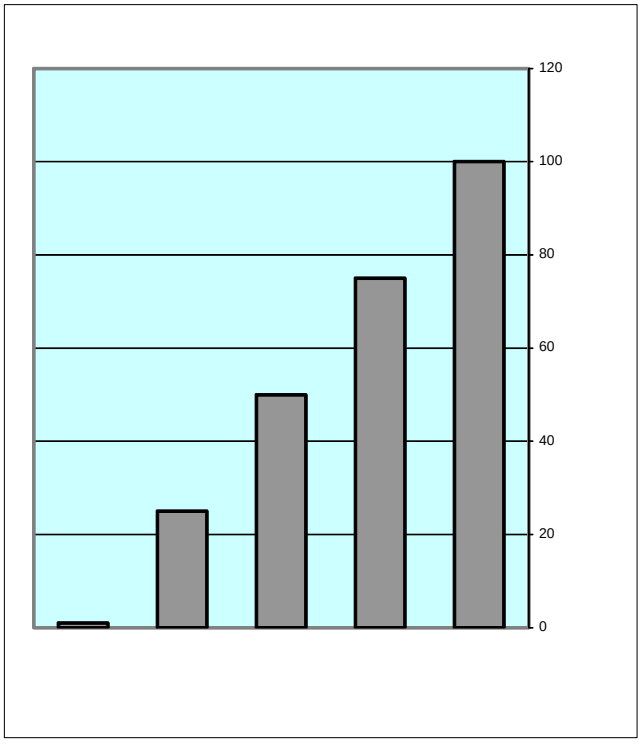
[6] Bradshaw, E.S.(1979) Laboratory Microbiology .

[7] Maniatis, T.; Fritsch, E.F and Sambrook, J.(1982) .Molecular cloning (a laboratory manual) .Cold spring harbor laboratory.

[8] Trevors, J.T. (1986)-Plasmid curing in bacteria. FEMS Microbiology Reviews 32: 149 –157.

[9] Bailey, W.R.and Scoott, E.G. (1974). Atext book for the the isolation and identification of pathogenic microoganisms.

[10] Jacoby, G.A. and Sutton (1985) .B-Lactamase and B lactam resistance in Escherechia coil.



شكل ١: تاثير مادة SDS في نمو بكتيريا *Kl. pneumoniae*

جدول 1: التفاعلات الكيموحيوية لبكتريا *Kl. Pneumoniae*.

Oxidase	Catalase	Citrate Utilization	Voges Proskauer	Methyl Red	Indole Production	البكتريا
-	+	+	-	+	-	*Kl.Pneumoniae*

جدول 2: –اختبار حساسية بكتريا Klebsiella Pneumoniae تجاه المضادات الحيوية.

المضاد الحيوي	الاستجابة
Amoxycillin	حساسة
Gentamycin	حساسة
Cephaloxin	حساسة
Neomycin	حساسة
Rifampicin	حساسة
Chloramphenicol	حساسة
Tobramycin	حساسة
Ampicillin	حساسة
Carpenicillin	حساسة

[11]Fu, K. P; Garace, M.E; Hsiao, C.L. and Hung, P.P (1988). Elimination of Antibiotic Resistant Plasmid by Quinolone Antobiotics Harbor. Chemotherapy 34:415-418.

[12] Baya, A.M; Brayton , P.R and Brown ,V.L. (1968) Coincident plasmidds and antimicrobial resistance in marine bactreria isolated from polluted and unpolluted atlantic occean samples – Appl. Environ . Microbiol .V51: P 1285 – 1292.

[13] Rice,L.;Williy,S.; Papanicolaou , G;Merdeiros ,A.;Eliozoulos G.;Moellering,R.and Jacoby, G. (1990). Out break of ceftazidime resistance caused by extended –Spectrum B-Lactamase at amassachusetts chronic-care Facility-Antimicrob. Agents chemother. 34(11): 2194-2199.

[14] Johnsen, J.; Warren, R.L. and Branstrom, A.A.(1991) . Effects of FB2 and a mercury resistance plasmid from Pseudompnas aeruginosa PA 103 on exoenzymes production. Journal of clinical Microbiology 29(5): 940-944.

[15] Threlfall, E. and Frost, J.(1990).The identification typing and finger printing of Salmonella laboratory aspects and epidemiological application . J. Appl. Bacteriol. 86(1):5-16 .

[16]Wolfson,J.S.;Hooper,D.C.;Swartz,M.N.;Swartz,M. D.; mchugh ,G.L.(1983).Novobiocin –induced elimination of F lac and mini-F plasmids from E. coli .J-Bact. 165 : 1165 – 1170 .

[17]Danilevskaya, O.N.; Gragerov, A.I. (1980) .Curing of Escherichia coil plasmids by coumermycin .Molec.gen-Genetics178:310-317. isolation and identification of pathogenic microoganisms .

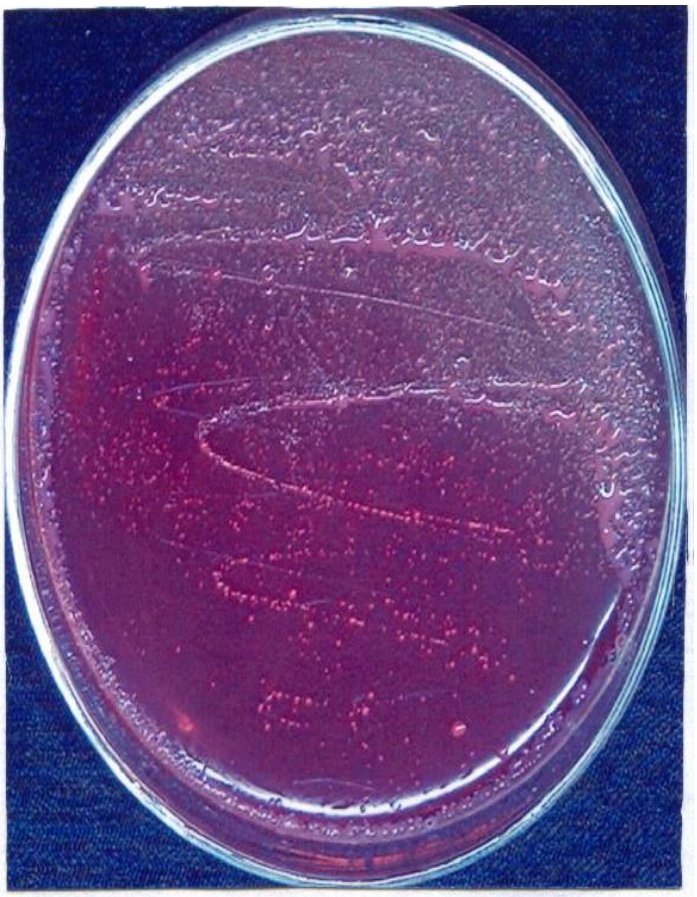
P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2007 ,(1), (2) :46-53

Streptomycin	حساسة
Nitrofuration	حساسة
Clindomycin	مقاومة
Cloxacillin	مقاومة
Trimethprim	مقاومة
Cefalotine	مقاومة
Vancomycin	مقاومة
Penicillin G	مقاومة
Lincomycin	مقاومة
Fusidic acid	مقاومة
Metronidazole	مقاومة
Nalidixic acid	مقاومة

صورة 2: الترحيل الكهربائي للـ DNA البلازميدي على هلام الاكاروز بتركيز 1% وفولتية 5 فولت / سم لمدة 6 ساعات لبكتريا *Kl.pneumonia* بالمقارنة مع البلازميد pBR 322

المسار 1 :- البلازميد pBR 322

المسار 2 :- البلازميد المعزول من بكتريا *Kl.pneumoniae*



صورة 1: بكتريا *Kl. Pneumoniae* على وسط Macconky agar

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2007 ,(1), (2) :46-53

THE ROLE OF PLASMIDS IN RESISTANCE OF *Kl. pneumoniae* ANTIBIOTICS

KHALAF JASIM MOHAMMED AL-DOLAIMI

E.mail:

Abstract

The bacterium *Kl. pneumoniae* was isolated from urine sample of patient with urinary tract infection and diagnosed according to its cultural and microscopic characters and biochemical reactions . Sensitivity test of the bacterium against antibiotics was established and the results appeared that the bacterium was Sensitive to Amoxycillin , Gentamycin , Cephaloxin, Neomycin, Rifampicin , Chloramphenicol , Tobramycin , Ampicillin and carpenicillin and resistant to clindomycin ,cloxacillin , Trimethprim , Cefalotine , Vancomycin , Penicillin G , Lincomycin , Fusidic acid , Metronidazole and Nalidixic acid .

Results of plasmid DNA content for the bacterium showed the presence of 8-6 kb plasmid compared with the plasmid pBR 322 isolated from E. coli HBlol . To study the role of plasmids in coding for antibiotics resistance , curing experiment was accomplished using SDS .Results showed the loss of resistance of the antibiotic , Nalidixic acid after physical loss of plasmid as ensured by gel electrophoresis.