

عزل وتشخيص البكتريا الهوائية من مرضى التهابات القناة التنفسية مع وصف جزئي لمحتواها البلازميدي

خالد دحام احمد

رواء ججي سالم

قسم علوم الحياة ، كلية التربية للعلوم الصرفة ، جامعة الموصل

استلم في: 3 ايلول 2015 ، قبل في: 12 حزيران 2016

الخلاصة

تم في هذه الدراسة عزل بكتريا من قشع المرضى المصابين بالتهابات القناة التنفسية في مستشفى ابن سينا التعليمي في مدينة الموصل- العراق اخضعت البكتريا للفحوصات المظهرية والزرعية و الكيموحيوية اللازمة لتشخيصها إذ تم الحصول على 25 عزلة والتي ضمت ستة انواع بكتيرية مختلفة وهي *Streptococcus*، *Staphylococcus aureus*، *Escherichia coli*، *Moraxella cattarhalis pneumonia* و *Pseudomonas aeruginosa* بالنسب التالية (4،4،8،8،12،64%) على التوالي. ودرست حساسية ومقاومة هذه العزلات لـ 12 مضادا حيويا إذ كان مضاد الجنتاميسين هو الاكثر تأثيرا على غالبية العزلات بينما قاومت جميع العزلات حامض النالدكسيك بنسبة 100%. و ايضا تم الكشف عن محتوى الـ DNA البلازميدي اربعة انواع منها وتبين ان هناك احجام مختلفة من البلازميدات فيها.

الكلمات المفتاحية: البكتريا، التهابات القناة التنفسية، المحتوى البلازميدي.

المقدمة

تعد التهابات القناة التنفسية Respiratory tract infections من بين أكثر الامراض الشائعة التي تصيب البشر في جميع انحاء العالم ومن المشاكل الصحية العامة الرئيسة وعاملا مسببا للأمراض والوفيات في العديد من البلدان النامية [1،2]. القناة التنفسية هي موقع متكرر للعدوى لأنها باتصال مباشر مع البيئة الطبيعية وهي معرضة للكائنات المجهرية المحمولة جوا بضمنها الفيروسات، البكتيريا، الفطريات والطفيليات [3]. إن الفهم الأفضل للممرضات التي تسبب هذه الاصابات يمكن تمييزه كشرط يسمح بإيجاد طريقة منطقية للعلاج و هنالك حاجة لاسيما في الدول النامية للتشخيص المناسب للمسببات الميكروبية الرئيسة للالتهابات التنفسية في المجتمع و ايجاد العلاج المناسب المبني على اختبار الحساسية للمضادات الحيوية للعامل المسبب لغرض منع مزيد من الانتشار للكائن الممرض الذي بطريقة او اخرى يؤدي الى مضاعفات [4،5].

القناة التنفسية في الانسان لاسيما العليا هي مفتوحة طبيعيا للتلوث بواسطة الكائنات المختلفة لاسيما اللاهوائية بنسبة تصل 100:1 هوائية الى لاهوائية، الكائنات اللاهوائية عادة تشمل *Peptostreptococcus* spp، *spp* *Actinomyces* و *Fusobacterium* spp. من جهة اخرى فإن الكائنات الهوائية المتواجدة كمتعايشات Commensiles غير مؤذية تشمل: *Streptococcus* spp (Viridans group)، *Staphylococcus* spp، *Enterobacteriaceae*، *Corynebacterium* spp و *Nisseria* spp [6]. والبكتيريا الأكثر شيوعا كعوامل مسببة لالتهابات القناة التنفسية هي *Staphylococcus* spp، *Streptococcus* spp، *Acinetobacter* spp، *Enterobacter* spp، *Klebsiella* spp، *Proteus* spp، *Pseudomonas* spp، و *Haemophilus influenza* [7،8،9].

اوجدت في العقود الثلاثة الاخيرة الكثير من التقارير العلمية في الاستعمال غير المناسب للأدوية وانتشار المقاومة البكتيرية بين الكائنات المسببة لالتهابات القناة التنفسية [10،11]. وأشار [12] ان المقاومة للمضادات الحيوية سوف تجعل الخيارات العلاجية لعلاج العدوى صعبة جدا و يكاد يكون مستحيلا في بعض الحالات، في حين بين [13] ان المقاومة المتنقلة بالبلازميدات لها الدور الأكبر فالبلازميد قد يحوي عدداً من الجينات فيشفر للمقاومة المتعددة للمضادات وكذلك فإن العناصر القافزة لها القدرة على حمل جينات المقاومة وبإمكانها أن تقتحم بلازميد اقتراني وأن تنتقل من بكتريا لأخرى.

في دراسة اخرى وجد ان ست عزلات طبية وهي (*Acinetobacter*، *Bacillus* spp.)

spp.، *E. coli*، *Klebsiella pneumonia*، *Staphylococcus* spp، *Pseudomonas* spp) امتلكت بلازميد المقاومة R- Plasmid المكتسب عن طريق نقل العناصر الوراثية المتنقلة والجينات المشفرة لمقاومة المضادات الحيوية كانت تقع على البلازميد بينما 3 عزلات التي هي (*Streptococcus* spp، *Enterococcus* spp، *Proteus* spp.) لم يظهر فيها البلازميد بالرغم من ابدائها مقاومة متعددة للمضادات ويعود السبب الى احتمال وقوع الجينات المشفرة للمقاومة على الكروموسوم [14].

اظهرت النتائج التي حصل عليها الباحثان [15] في دراسة على بكتريا *S.aureus* المعزولة من المرضى المصابين بالتهاب الاذن الوسطى بمدينة البصرة بأن جميع عزلات بكتريا *S.aureus* التي تم الحصول عليها التي كان عددها 24 عزلة امتلكت بلازميدات ذات اوزان جزيئية كبيرة تراوحت من 22-21 Kpb. اما الدراسة الاخرى للباحث [16] على بكتريا *S.aureus* والمكورات العنقودية السالبة لأنزيم التخثر (Coagulase negative *Staphylococci* (CoNS)

المعزولة من نماذج طبية من مستشفى في نيجيريا، تبين انها تمتلك بلازميدات تراوحت احجامها من Kpb (23.13-2.03).

يهدف هذا البحث الى معرفة اهم الانواع البكتيرية المعزولة من الالتهابات التنفسية وتشخيصها ودراسة حساسيتها لبعض المضادات الحيوية مع دراسة جزيئية لأنماطها البلازميدية.

المواد وطرائق العمل

عزل البكتيريا وتشخيصها: عزلت البكتيريا من 25 عينة من القشع Sputum للمرضى المصابين بالتهابات القناة التنفسية وباعمار مختلفة من شهر اب لغاية تشرين الاول من عام 2013 وتم زرع العينات على وسط اكار الدم وحضنت الأطباق بدرجة (37) °م لمدة 24 ساعة من أجل تنميتها ثم نقلت الى وسط اكار الماكونكي Macconkey Agar Medium بطريقة التخطيط Streaking لغرض تنقيتها والتأكد من قابلية البكتيريا المعزولة على تخمير سكر اللاكتوز من عدمه وايضا تم تنمية العزلات على وسط المانيتول الملحي Mannitol Salt Agar Medium ووسط اكار الدم المطبوخ Chocolate agar و تم اجريت عليها الاختبارات الشكلية والكيموحيوية حسب [17,18,19,20,21].

اختبار مقاومة العزلات للمضادات الحيوية : تم اختبار مقاومة العزلات لـ 12 مضادا حيويا حسب طريقة [22] والجدول (1) يبين التراكيز المستعملة لهذه المضادات.

عزل الـ DNA البلازميدي وتوصيفه جزيئيا : استعملت طريقة التحلل القاعدي Alkaline Lysis في عزل محتوى الـ DNA البلازميدي للعزلات قيد الدراسة حسب طريقة [23] ثم رحل محتوى الـ DNA البلازميدي المعزول كهربائيا في جهاز الترحيل الكهربائي وباستعمال هلام الاكاروز بتركيز 0.7% واستعمل فرق جهد 45 فولت لمدة 15 دقيقة بعد ذلك تم رفع الفولتية الى 70 فولت ولمدة 3 ساعات. صبغت قطعة الهلام بصبغة بروميد الاثديوم بتركيز نهائي 50 مايكروغرام/مل ولمدة 15 دقيقة. نقلت قطعة الهلام الى جهاز التألق الاشعاعي UV-Transilluminator عند طول موجي (320 نانوميتر) داخل غرفة مظلمة للكشف عن حزم الأحماض النووية في العينات المختبرة ثم صورت قطعة الهلام باستعمال الكاميرا الرقمية [24].

النتائج والمناقشة

عزل البكتيريا وتشخيصها

عزلت 25 عزلة بكتيرية من عينات القشع وشخصت مختبرياً وذلك بإجراء الفحوصات التشخيصية التي تتضمن الاختبارات المظهرية والكيموحيوية، الجدول (2) يوضح نتائج الاختبارات الكيموحيوية للعزلات قيد الدراسة. إذ تم الحصول على ستة انواع بكتيرية مختلفة وكانت البكتيريا الأكثر شيوعا هي البكتيريا الموجبة لصبغة كرام إذ حصلنا على نوعين هما بكتيريا *Staphylococcus aureus* بنسبة 64% إذ كان مجموع العزلات هي (16) عزلة تلتها (3) عزلات من *Streptococcus pneumoniae* بنسبة 12%، اما البكتيريا السالبة لصبغة كرام فضمت 4 انواع بكتيرية وهي (2) عزلة من كل من *Moraxella cattarhalis* و *Escherichia coli* بنسبة 8% لكل منهما و عزلة واحدة من كل من *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة 4% . جاءت نتائج العزل مقارنة مع [25,26] وكانت متوافقة مع [27] إذ ان بكتيريا *S.aureus* هي الأكثر انتشارا بحالات التهاب القناة التنفسية بينما لم تتوافق مع [28,29] إذ ان بكتيريا *Haemophilus influenza* و *P.aeruginosa* هي الأكثر انتشارا على التوالي وان عدم ظهور

الانواع الاخرى من البكتيريا الممرضة ربما بسبب كون الدراسة الحالية اقتصر على عدد محدود من العينات بينما شملت الدراسات الوبائية المذكورة عددا اكبر منها .

اختبار مقاومة العزلات للمضادات الحيوية

تم الكشف عن قابلية مقاومة العزلات البكتيرية المعزولة من التهابات القناة التنفسية لـ (12) نوعا من المضادات الحيوية والجدول (3) يوضح مقاومة العزلات للمضادات الحيوية معبرا عنها بالعدد والنسب المئوية إذ نجد ان اعلى مقاومة العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية المستعملة في الدراسة الحالية كانت لحامض النالديكسيك (Nx) بنسبة 100% تلتها مقاومة الامبسلين (AP) بنسبة 88.2% ثم الارثرومايسين (Er) بنسبة 83% و الريفامبين (Rf) 61.8% والتراميثريم (Tri) 61.4% و السيفالكسين (Cf) 54.9% و التتراسايكلين (Tc) بنسبة 29.9% و الستربتومايسين (Sm) 29.1% والكورامفينيكول (Cm) 13.6% واقل مقاومة كانت للجنتاميسين (Gen) بنسبة 8.3%.

نجد ايضا ان اكثر العزلات مقاومة للمضادات كانت عزلات بكتريا *E. coli* إذ بلغت نسبة مقاومتها 70% لجميع المضادات تلتها عزلة بكتريا *P.aeruginosa* بنسبة 60% ثم عزلات بكتريا *M.cattarhalis* بنسبة 55% و *St. pneumonia* بنسبة 50% و عزلات بكتريا *S. aureus* بنسبة 43.2% واخيرا عزلة النوع البكتيري *K. pneumoniae* بنسبة 40%. توافقت هذه النتائج مع دراسة [30] الذي ذكر بأن بكتريا *S. aureus* كان لها معدل مقاومة اقل نسبيا من البكتيريا السالبة لصبغة كرام والسبب ربما يعود الى انتاج انزيمات البييتالاكتاميز الواسعة الطيف extended spectrum beta-lactamase من قبل البكتيريا السالبة [31].

يظهر لنا بأن العزلات قيد الدراسة من بكتريا *S.aureus* كانت مقاومة للمضاد Methicillin وبنسبة (75%) وهذه النتيجة اتفقت مع دراسة [32] الذين اشاروا على قدرة بكتريا *S. aureus* العالية على مقاومة Methicillin. ان معظم المكورات الذهبية المقاومة للمثيسيلين تكون ذات مقاومة متعددة للادوية Multidrug resistant فتمتلك مقاومة عالية للمضادات الحيوية المضادة للمكورات Antistaphylococcal Antimicrobials كالبنسيلينات المقاومة للبنسلين والارثرومايسين والجنتاميسين والكورامفينيكول والـ Fluroquinolones وحتى الفانكومايسين وان سبب ذلك يعود الى الاستعمال غير العقلاني والعشوائي دون استشارة طبية لهذه المضادات [33].

توافقت نتائج [9,34] مع نتائج دراستنا ان العزلات التنفسية تظهر حساسية كبيرة اتجاه (Gen) و حساسية معتدلة اتجاه الكلورامفينيكول (Cm) وتتناب مع دراسة [8] التي تبين ان العزلات مقاومة لـ (Gen) و (Sm) بينما نتائج دراستنا تبين مقاومة معتدلة لـ (Sm) وحساسية لـ (Gen) وهذه التباينات في النتائج ربما تعود الى اختلاف تركيز المضاد المستعمل .

عزل الـ DNA البلازميدي وتوصيفه جزئيا

بعد استخلاص محتوى الـ DNA البلازميدي من العزلات البكتيرية قيد الدراسة، جرى توصيف نماذج الـ DNA المحضرة و الشكل (1) يوضح النتائج إذ نلاحظ فيه ان بكتريا *S. aureus* المتمثلة بالاعدة من 2-16 اظهرت حزمة واحدة من الـ DNA البلازميدي في الاعدة (2,3,5,6,9,14,15,16) وبحجم اكبر بقليل من 23 kbp بدلالة الدليل الحجمي للمدا DNA المهضوم بالانزيم القاطع Hind III وكانت جميعها باحجام واحدة لقطعها مسافات متساوية في الهلام وهي حزم واضحة ومنفصلة خارجة من القطب السالب باتجاه القطب الموجب. كذلك نلاحظ في الاعدة (7,8,10,11,12,13) عدم ظهور حزم من الـ DNA البلازميدي وظهور حزم الـ RNA فقط وهذا يعني بأن نماذج الـ DNA خالية من حزم البلازميدات بينما في العمود (4) المتمثل بالعزلة رقم (3) نلاحظ عدم ظهور اي نوع من الاحماض النووية وربما يعود السبب الى فقدان المادة النووية اثناء التحضير . اما العزلة رقم (16) من بكتريا *S. aureus*

المكررة في الاعمدة (19،18) نلاحظ وجود عدة حزم من الـ DNA البلازميدي وباحجام مختلفة إذ إن الحجم الاول اكبر من 23 kbp بينما الحجم الثاني يقع بين 6kbp و 7 kbp . أما الحزمتين الاخيرتين فاحجامها اصغر من 5kbp. لكونها قطعت مسافة اطول من الحزم الاخرى في هلام الاكاروز (بدلالة الدليل الحجمي لمدى الـ DNA المهضوم بالانزيم القاطع BamH I)، ظهور عدة حزم من الـ DNA في هذه العزلة ربما يعود بسبب كونها حاوية على بلازميدات مختلفة الاحجام مما قد يجعلها ذات مقاومة عالية للمضادات الحيوية.

كذلك من الشكل (1) نلاحظ ان الانواع البكتيرية السالبة لصبغة كرام اظهرت حزما من الـ DNA البلازميدي إذ ان الاعمدة 21 و 22 التي تمثل الـ DNA البلازميدي المعزول من عزلتي بكتريا *E.coli* إذ اظهرت العزلة الاولى حزمة واحدة واضحة ومنفصلة من الـ DNA البلازميدي وبحجم مساو تقريبا لـ 23 kbp . بينما العزلة الثانية اظهرت حزمتين من الـ DNA البلازميدي باحجام صغيرة لقطعها مسافة اطول في الهلام. الاعمدة 23 و 24 المتمثلة بعزلات بكتريا *P.aeruginosa* و *K. pneumonia* على التوالي فقد ظهر فيها حزمة واحدة وواضحة من الـ DNA البلازميدي لكل من العزلات وبحجم مساو لحجم حزمة الـ DNA البلازميدي التي اظهرتها العزلة الاولى لبكتريا *E.coli* اي بحجم 23 kbp. من نتائج دراسة توصيف محتوى الـ DNA البلازميدي للعزلات البكتيرية قيد الدراسة نجد أن دراسة [35،36] تتطابق مع نتائج دراستنا كون ان بعض عزلات بكتريا *S. aureus* اظهرت بلازميدات باحجام مساوية او اكبر من 23 kp وبعض العزلات لم تظهر اي بلازميدات وهذا ربما يعود لمصادر العزل والاصابات المختلفة، وكذلك تطابقت مع نتائج الباحث [37] اذ ان احدى عزلات بكتريا *S. aureus* اظهرت 4 حزم من البلازميدات وباحجام مختلفة. كذلك تطابقت نتائج عزلتي بكتريا *E. coli* قيد الدراسة مع نتائج الباحثة [38] نظرا لكون احدى العزلتين اظهرت بلازميدا واحدا بينما الاخرى اظهرت بلازميدين باحجام صغيرة. بينما لم تتفق نتائج دراستنا بالنسبة لعزلة بكتريا *K. pneumonia* كثيرا مع نتائج [39] لكون عزلة الدراسة الحالية انتجت حزمة واحدة فقط من البلازميدات بينما نتائج البحث المذكور اظهرت حزمتين وربما يعود السبب لكون دراستنا اقتصرت على عزلة واحدة بينما الدراسة الاخرى شملت عددا اكبر من العزلات.

المصادر

1. Carroll, K.C. (2002), Laboratory diagnosis of lower respiratory tract infections: Controversy and conundrums. *J Clin Microbiol.*, 40(9):3115-20.
2. Jacobs, E.; Dalhoff, A. and Korfmann, G. (2009), Susceptibility patterns of bacterial isolates from hospitalised patients with respiratory tract infections. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, 33: 52-57.
3. Imani, R. ; Rouhi, H. and Ganji, F., (2007), Prevalence of antibiotic resistance among bacteria isolates of lower respiratory tract infections in COPD Shahrekord, Iran. *Pakistan. J. Med. Sci.*, 23(3): 438-440.
4. Gauchan, P. ; Lekhak, B. and Sherchand, JB., (2006), The Prevalence of lower respiratory tract infection in adults visiting Tribhuvan University Teaching Hospital. *Journal of Institute of Medicine.*, 28(2):10-14.

5. Veloo, A.C. ; Seme, K. ; Raangs, E. ; Rurenga, P. ; Singadji, Z. ; Wekema-Mulder, G. and vanWinkelhoff, A.J.(2012), Antibiotic susceptibility profiles of oral pathogens. *Int J Antimicrob Agents*. Nov., 40(5):450-4.
6. Murray, P. R. ; Rosenthal, K. S. ; Kobayashi, G. S. and Pfaller, M. A.(1998), Microbial Flora in health and disease: In Medical Microbiology 3rd ed. Section 1 pp 70. Mosby, Inc. St Louis Missouri.
7. Rudan, I. ; Boschi-Pinto, C. ; Biloglav, Z. ; Mulholland, K. and Campbell, H. (2008) ,Epidemiology and etiology of childhood pneumonia. *Bulletin of the World Health.*, org86: 408-416
8. El-Mahmood, A. M. ; Isa, H. ; Mohammed, A. and Tirmidhi, A.B. (2010), Antimicrobial susceptibility of some respiratory tract pathogens to commonly used antibiotics at the Specialist Hospital, Yola, Adamawa State, Nigeria. *Journal of Clinical Medicine and Research.*, 2(8): 135-142.
9. Taura, D.W. ; Hassan, A. ; Yayo, A.M. and Takalmawa, H. (2013), Bacterial isolates of the respiratory tract infection and their current sensitivity pattern among patients attending Aminu Kano Teaching Hospital Kano-Nigeria. *International Research Journal of Microbiology.*, 4(9): 226-231.
10. Imani, R. ; Rouchi, H. and Ganji, F.(2007), Prevalence of antibiotic resistance among bacteria isolates of lower respiratory tract infection in COPD Shahrekord – Iran, 2005. *Pak. J. Med. Sc.*, 23(3): 438-440.
11. Tenever, F.C. and McGowan, J.E Jr. (1996), Reasons for the emergence of antibiotic resistance. *Am. J. Med. Sci.*, 311(1): 9-16.
12. Grenet, K.D. ; Guillemot, V. ; Jadier, B. ; Moteau, S. ; Dubourdier, R. ; Ruiny, B. ; Armand, B.P.; Bau, B. and Andreumont, A. (2004), Antibacterial resistance, Wagen, Amerindians, French Guyana. *Emerg. Infect. Dis.*, 10(6):1150-1153.
13. Kapil, A., (2005), The challenge of antibiotic resistance: need to contemplate. *Indian J. Med. Res.*, 121(2): 83-91.
14. Ajao, A. T. and Yakubu, S. E. (2014), Identification, Characterization and Plasmid Profiling of Multi Drug Resistant Nocomial Pathogens Isolated from Selected Hospitals in Ilorin Metropolis. *British Microbiology Research Journal* . 5(1): 33- 43.
15. Al-Hamdani, M. H. I.(2012), Study of plasmid profile, susceptibility patterns of clinical *Staphylococcus aureus* isolated from patients with otitis media in Basrah. *Journal of Basrah Researches ((Sciences))*, 38(1): 79-89.

16. Tula, M.Y. ; Azih, A.V. and Okojie, R.O. (2013), Antimicrobial susceptibility pattern and plasmid-mediated antibacterial resistance in Staphylococcus aureus and Coagulase-negative Staphylococci (CoNS). American Journal of Research Communication., 1(9).
17. Baron, E. J. ; Pezzlo, M. T. and Delamaza, L. M. (1997), Color Atlas of Diagnostic Microbiology. Mosby-Year Book, United States of America, PP(25-92).
18. Koneman, E. W. ; Allen, S. D. ; Janda, W. M. ; Schreckenberge, P. C. and Winn, W. C., (1997), Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology. 5th ed., J. B. Lippincott Company, Philadelphia, U.S. A.
19. Harley, J. P. and Prescott, L. M., (2002), Laboratory Exercises in Microbiology. 5th ed., WCB/ McGraw-Hill Companies, Inc.
20. Atlas, R.M. (1995), Principles of Microbiology. 1st ed., Mosby-Year Book, Inc., St-Louis, USA.
21. Benson, H. J. (2002), Microbiological, 8th ed, McGraw Hill Companies, Inc; PP(130-155).
22. Timmis, K. N. and Puhler, A. (1979), Plasmids of Medical, Environmental and Commercial Importance. Developments in Genetics, 1, Elsevier / North- Holland Biomedical press, Amsterdam, Netherlands.
23. Birnboim, H. C. and Doly, J. (1979), A rapid alkaline extraction procedure for screening recombination plasmid DNA. *Nucleic Acids Res.*, 7(6): 1513-1523.
24. Timmis, N. K. and Puhler, A. (1984), Advanced in Molecular Genetics. Springer-Verlag, New York, U. S. A.
25. Watanabe, A. ; Oizumi, K. ; Matsuno, K. ; Nishino, T. ; Motomiya, M. and Nukiwa, T., (1995), Antibiotic susceptibility of the sputum pathogens and throat swab pathogens isolated from the patients undergoing treatment in twenty-one private clinics in Japan. *Tohoku J Exp Med.*, 175(4):235-247
26. Manikandan, C. and Amsath, A. (2013), Antibiotic Susceptibility of bacterial strains isolated from patients with respiratory tract infections. *Int. J. Pure Appl. Zool.*, 1(1): 61-69.
27. Kousalya, K. ; Thirumuruqu, S. ; Arumainayaqam, D.C. ; Manavalan, R. ; Vasantha, J. and Reddy, C.U. (2010), Antimicrobial resistance of bacterial agents of the upper respiratory tract in South Indian population. *J Adv Pharm Technol Res.*, 1(2):207-215.
28. Ozyilmaz, E. ; Akan, O.A. ; Gulhan, M. ; Ahmed, K. and Nagatake, T. (2005), Major bacteria of community- acquired respiratory tract infections in Turkey. *Jpn. J. Infect. Dis.*, 58(1):50- 52.

29. Srifuengfung, S. ; Tribuddharat, C. ; Yung Yuen, T. and Wensentia, T. (2005), Respiratory tract infection caused by bacteria (Non-Mycobacterium) and their antibiogram in HIV- positive patients. *South east Asian J. Trop.Med. Public Health.* 36(3): 709-712.
30. Mohiuddin, M.D. ; AshrafulHaq, J. ; MozammelHoq, M.D. and Farida, H.,(2010),Microbiology of nosocomial infection in Tertiary Hospitals of Dhaka city and its impact. *Bangladesh.J. Med Microbiol.*,4(2):32-38.
31. Pitout, J.D.D. ; Thomson, K.S. ; Hanson, N.D. ; Ehrhardt, A.F.; Moland, E.S. and Sanders, C.C.(1998), Beta Lactamase responsible for resistant to expanded-spectrum cephalosporium in *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* and *Proteus mirabilis* isolates recovered in south Africa. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.*,42(6):1350-54.
32. Liu, C. and Chambers, H. F. (2003), *Staphylococcus aureus* with heterogenous resistance to vancomycin epidemiology, clinical significant and critical assessment of diagnostic methods. *J. Antimicrobchemother.* 47 (10) : 3040 – 3045.
33. Qureshi, A. ; Rafi, S. ; Qureshi, S. M. and Ali, A. M. (2004), The current susceptibility patterns of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* to conventional antimicrobials at rawalpindi. *Pak. J. Med. Sci.*, 20 (4) : 361 – 464.
34. Ndip, R. N. ; Ntiege, E. A. ; Ndip, L. M. ; Nkwelang, G. ; Akoachere, J-F. T.K. and NkuoAkenji, T.(2008), Antimicrobial Resistance of Bacterial Agents of the Upper Respiratory Tract of School Children in Buea, Cameroon. *J Health Popul Nutr.*, 26(4): 397-404.
35. Jayaraman, S. ; Manoharan, M. ; Illanchezian, S. ; Sekher, R. and Sathyamurthi, P.,(2008), Plasmid Analysis and Prevalence of Multidrug Resistant *Staphylococcus aureus* Reservoirs in Chennai City, India. *The Internet Journal of Microbiology.*, 7(1): p23.
36. Daini, O. A. and Akano, S. A. (2009),Plasmid-mediated antibiotic resistance *Staphylococcus aureus* from patients and non patients. *Scientific Research and Essay.*, 4(4):346-350.
37. Ugbogu, O.C. ; Akinsade, A. K. ; Nwokocha, K. O. and Ahuama, O.C. (2011), Plasmid Profile of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Isolates from University Students. *Nigerian of Journal of Microbiology.* 25: 2363 – 2368.
38. Jan, N. ; Meshram, S.U. and Kulkarni, A. (2009), Plasmid profile analysis of multidrug resistant *E. coli* isolated from UTI patients of Nagpur City, India. *Romanian Biotechnological Letters.*, 14(5): 4635-4640.

39. Al-Muhanna, A. and Jasim, M., (2012), Detection of Plasmid Profile coding Antibiotic Resistance of *Klebsiella* spp. Isolated From Different Infection. *Al-Kufa Journal for Biology.*, 4 (1):275-281.

جدول (1) تراكيز المحاليل الخزينة والنهائية والسوائل المذيبة للمضادات الحيوية

ت	المضادات الحيوية	الرمز	التركيز الخيرين mg/ml	التركيز النهائي µg/ml	المذيب
1	Ampicillin	Ap	5	50	ايثانول 70%
2	Cephalexin	Cf	5	60	ماء مقطر معقم
3	Chloramphenicol	Cm	5	30	ايثانول مطلق
4	Erythromycin	Er	5	50	ايثانول 70%
5	Gentamycin	Gen	40	60	سائل
6	Methicillin	Met		10	disc
7	Nalidixic acid	Nx	5	100	0.1N NaOH
8	Novobiocin	Nov		30	disc
9	Rifampicin	Rf	5	50	ميثانول
10	Streptomycin	Sm	5	100	ماء مقطر معقم
11	Tetracycline	Tc	5	10	ايثانول 50%
12	Trimethprim	Tri	5	50	ايثانول 70%

جدول (2) الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة لتشخيص الانواع البكتيرية المعزولة قيد الدراسة

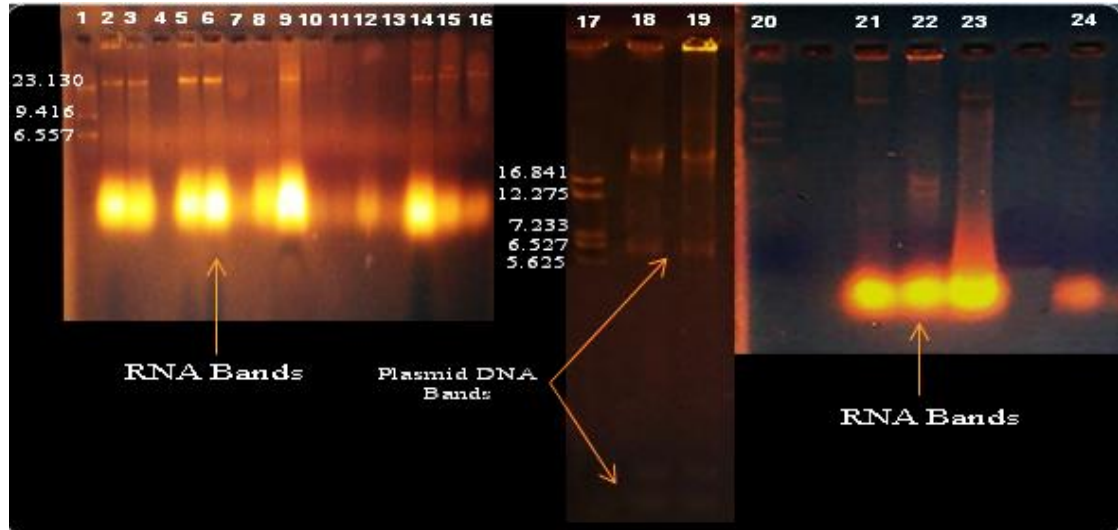
العزلات البكتيرية	العدد	اختبارات IMViC										تخمير السكريات			
		الانزيم اللاكتاز	الانزيم الكاتالاز	اختبار الاوكسيديز	اختبار التجلط	اختبار تحلل الدم	اختبار الحركة	اختبار البوريز	اختبار تميع الجيلاتين	اختبار القيليل الاين	ميثانول	مالتوز	ارابينوز	كلوكوز	
<i>S. aureus</i>	16	ND	ND	ND	ND	+	+	+	+	-	+	+	+	+	
<i>St. pneumonia</i>	3	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-	-	-	+	-	+	
<i>M. cattarhalis</i>	2	ND	ND	ND	ND	+	+	-	-	-	-	-	-	-	
<i>E. coli</i>	2	-	-	+	ND	+	+	+	+	-	+	-	+	+	
<i>K. pneumoniae</i>	1	+	+	-	ND	-	+	-	-	-	+	+	+	+	
<i>P. aeruginosa</i>	1	+	-	-	ND	+	+	+	+	-	-	-	-	+	

+ النتيجة الموجبة للاختبار - النتيجة السالبة للاختبار V متباينة في نتيجة الاختبار ND عدم اجراء الاختبار
 α التحلل الجزئي للدم β التحلل الكامل للدم γ عدم وجود تحلل للدم

جدول (3) مقاومة البكتيريا المعزولة من التهابات القناة التنفسية للمضادات الحيوية معبراً عنها بالعدد والنسبة المئوية (%)

العزلة	و	Ap العدد (%)	Cf العدد (%)	Cm العدد (%)	Er العدد (%)	Gen العدد (%)	Met العدد (%)	Nx العدد (%)	Nov العدد (%)	Rf العدد (%)	Sm العدد (%)	Tc العدد (%)	Tri العدد (%)
<i>S.aureus</i>	1 6	10 (62.5)	2 (12.5)	5 (31.3)	13 (81.3)	0 (0)	12 (75)	16 (100)	3 (18.8)	6 (37.5)	4 (25)	10 (62.5)	3 (18.8)
<i>St. pneumonia</i>	3	2 (66.7)	2 (66.7)	0 (0)	2 (66.7)	0 (0)	-	3 (100)	-	1 (33.3)	0 (0)	2 (66.7)	3 (100)
<i>M. cattarhalis</i>	2	2 (100)	1 (50)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	-	2 (100)	-	1 (50)	2 (100)	0 (0)	2 (100)
<i>E. coli</i>	2	2 (100)	2 (100)	1 (50)	2 (100)	1 (50)	-	2 (100)	-	1 (50)	1 (50)	1 (50)	1 (50)
<i>K. pneumoniae</i>	1	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	-	1 (100)	-	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<i>P. aeruginosa</i>	1	1 (100)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	-	1 (100)	-	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)

- عدم اجراء الاختبار



شكل (1) الترحيل الكهربائي لمحتوى الـ DNA البلازميدي في هلام الاكاروز (0.7%) للعزلات البكتيرية قيد الدراسة.

اذ يشير العمود 1 و 20: DNA مهضومة بالانزيم القاطع Hind III

16-2: محتوى الـ DNA البلازميدي لـ 15 عزلة من بكتريا *S. aureus*

17: DNA مهضومة بالانزيم القاطع BamH I

18 و 19: محتوى الـ DNA البلازميدي مكرر لعزلة بكتريا *S. aureus* رقم (16)

22-21: محتوى الـ DNA البلازميدي لعزلات بكتريا *E. coli*

23: محتوى الـ DNA البلازميدي لعزلة بكتريا *P. aeruginosa*

24: محتوى الـ DNA البلازميدي لعزلة بكتريا *K. pneumonia*



Isolation and Diagnosis of Aerobic Bacteria from Patients with Respiratory Tract Infection and Partial Characterization of Their Plasmid Profile

Khalid Daham Ahmed

Rawaa Jaji Salim

Dept. of Biology, College of Education for Pure Science ,
University of Mosul

Received in :3 September 2016 ,Accepted in: 12 June 2016

Abstract

In this study, the bacteria from sputum specimens of patients with respiratory tract infections were isolated in IbnSina Teaching Hospital, Mosul city, Iraq. The bacteria were subjected to phenotypic and biochemical tests necessary for identification. Twenty five isolates of six different bacterial species were obtained, they are : *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumonia*, *Moraxella cattarhalis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomona saeruginosa* with ratios (64%, 12%, 8%, 8%, 4% and 4%) respectively. The sensitivity and resistance of these isolates to 12 antibiotic were studied, where the Gentamycin appear to be more effective on most of the isolates while all the isolates showed resistance to Nalidixic acid with 100% percent . Also, Plasmid DNA content showed different sizes of DNA bands in four types of these isolates.

Keywords: Bacteria, Respiratory tract infection and Plasmid profile