P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703
2008 ,(2), (3) :45-53

(*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة

Open Access

دور البلازميدات في ضراوة بكتريا العنقوديات الذهبية ومقاومتها للمضادات الحيوية

خلف جاسم محمد

جامعة الانبار–كلية العلوم

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: 2008/1/21
تاريخ القبول: 2008/8/20
تاريخ النشر: / / 2022
DOI: http://dx.doi.org/10.37652/JUAPS.....

الكلمات المفتاحية:

بلازميدات ،
ضراوة ،
العنقوديات الذهبية ،
مقاومة ،
مضادات الحيوية.

الخلاصة:

عزلت بكتريا staphylococcus aureus من خراج تحت جلدي باستخدام الوسط الزرعي staphylococcal medium No.110 وشخصت اعتماداً على خصائصها الزرعية والمجهرية وتفاعلاتها الكيموحيوية وانتاجها لخميرة التجلط . أجري لها اختبار الحساسية تجاه المضادات الحيوية وأظهرت النتائج حساسية البكتريا للمضادات الحيوية cephlothin، Ampicillin، Ampiclox , Rifampicin ، Tetrayclin ، cloxamcillin ، Fusidic acid ، chloramphenicol ، Nitrofurontion ومقاومة للمضادات الحيوية cefotaxin ، Bacitracin ، Neomycin ، Gentamamycin ، Nalidixic a cid ، Penicillin ، Erythromycin ، Cloxacillin .

اجريت تجربة تحييد للبلازميدات باستخدام درجة حرارة نمو مرتفعة لدراسة دور البلازميدات في انتاج عوامل الضراوة ، خميرة التجلط والذيفانات المحللة للدم والمقاومة للمضادات الحيوية وقد اظهرت نتائج هذه التجربة الفقدان الجزئي لأنتاج خميرة التجلط من خلال التاثير على انزيم بلمرة الحامض النووي الرايبي RNA المسؤول عن استنساخ عدد من الجينات التركيبية المرتبطة والمشتركة بحفاز واحد وفاصل واحد تنتج خميرة التجلط ولم تكن الطريقة ملائمة لتحييد البلازميدات المسؤولة عن انتاج الذيفانات المحللة للدم . أكدت نتائج تحييد البلازميدات المسؤولة عن المقاومة للمضادات الحيوية دور البلازميدات في المقاومة للمضادت الحيوية Penicillin ، Erythromycin ، Cloxacillin بعد الفقدان الفيزيائي للبلازميد الحامل لها كما أثبتته عملية الترحيل الكهربائي.

المقدمة

ان قدرة البكتريا على إصابة الأنسان تعتمد على الجرعة وطور النمو فضلاً عن عوامل الضراوة virulence factors . تعبر الضراوة عن شدة اصابة البكتريا للأنسان وخير وسيلة لقياسها هو حقنها في اجسام الحيوانات المختبرية كالفئران أو خنازير غينيا [1] .

تتمثل عوامل ضراوة بكتريا staphylococcus aureus بافرازها عدد من الخمائر enzymes والذيفانات Toxins ، منها خميرة التجلط coagulase التي تقوم بتعطيل مفعول المركبات المناعية المضادة للبكتريا في مصل دم الأنسان ويقوم بوقاية البكتريا من مهاجمة الخلايا البلعمية [2] ، والبروتينات السمية من النوع (أ) protein A والذي يرتبط ارتباطاً وثيقاً بالسلالات المنتجة لخميرة التجلط ولهذا النوع من البروتينات القدرة على ترسيب الكلوبيولين الممنع وذلك بارتباطه غير النوعي مع الجزء (FC) للكلوبيولين الممنع مكونا بذلك راسب أو معقدات ذائبة تسبب احمرار الجلد وتنشيط المتمم وتوليد مركبات كيميائية حياتية وتبثيط عمل الأضداد التي تسهل عملية البلعمة وتحرير الهستامين من كريات الدم البيضاء وتكاثر الخلايا اللمفاوية [3] وخميرة الفوسفاتيز الحامضي – Acid phosph atase [4] والخميرة المحللة للأحماض النووية Nuclease والتي لها القابلية في المحافظة على فعاليتها عند تواجدها في الغذاء بالرغم من غليه وتحفز عملية انتاجها بوجود الثيامين في الوسط [5] والذيفانات المحللة للدم

* Corresponding author at: Anbar University - College of Science, Iraq;
ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5859-6212 .Mobil:777777
E-mail address: scicol@yahoo.com

Hemolysin مثل ذيفان الفا α–toxin الذي له القدرة على تحليل كريات الدم الحمراء فضلاً عن قابليته على قتل كريات الدم البيض العملاقة ومهاجمة خلايا الأنسجة الأخرى كنخر الخلايا الجلدية وتقليص العضلات الملساء مما يؤدي الى تضييق الأوردة الصغيرة وبالتالي يؤدي الى هدم هذه الأنسجة ونخرها نتيجة قلة ورود الدم اليها ، وذيفان بيتا B –toxin وله القدرة على تحليل كريات الدم الحمر في الحيوانات وذيفان دلتا Δ –toxin الذي يمتاز بقدرته على تحليل كريات الدم الحمر وقتله كريات الدم البيض فضلا عن تأثيره على خلايا جسمية أخرى فيؤدي الى تسممها [6] – كما تنتج البكتريا الذيفانات المحللة للكريات البيضاء Leucocidin التي لها القدرة على قتل كريات الدم البيضاء المتعددة اشكال الأنوية وكذلك قتل كريات الدم البلعمية وتغيير مظهرها الخارجي [7] ، والذيفانات المعوية Enterotoxin التي تؤثر على الأمعاء وتنتجه 30–50% من بكتريا S.aureus. لهذا الذيفان القدرة على تحمل درجات الحرارة العالية وقد يصل الى الأمعاء بدون دخول البكتريا المحررة له ويؤدي الى الغثيان والتقيؤ والأسهال بعد 6–12 ساعة من تناول الأغذية الحاوية عليه وتسمى الحالة هذه بالتسمم الغذائي العنقودي – staphylococcal food poisoning . [8]

يكون وجود بكتريا S.aureus. بشكل طبيعي في جسم الأنسان ، وتدخل الأنسجة عن طريق الخدوش أو الجروح أو عطب في الأغشية المخاطية وفي بعض الحالات تصل العظم المكسور مؤدية الى التهابة وللكثير من سلالات هذا النوع القدرة على انتاج عوامل الضراوة كالخمائر Lipase , coagulase , esterase والذيفانات التي تساعد جميعا على امراضيته وحمايته من مهاجمة الجهاز المناعي للأنسان [1]

تهدف هذه الدراسة الى معرفة دور البلازميدات في انتاج البكتريا لخميرة التجلط coagulase والذيفانات المحللة للدم hemolysin ومقاومة البكتريا للمضادات الحيوية .

المواد وطرق العمل

عزل وتشخيص البكتريا

عزلت البكتريا من خراجات تحت جلدية بزرعها على الأكار المغذي ومن ثم زرع البكتريا وتنميتها على الوسط الأنتخابي staphylococcal medium No-110 وشخصت اعتماداً على خصائصها الزرعية والمجهرية وتفاعلاتها الكيموحيوية [2] ، [9] .

الكشف عن انتاج خميرة التجلط :

استعملت طريقة الأنبوب في الكشف عن خميرة التجلط حيث حضرت انابيب حاوية على بلازما دم الأنسان مضاف له سترات الصوديوم المخفف بنسبة 1 : 10 بمحلول الملح الفسلجي المعقم واضيف الى البلازما بضعة قطرات من المزروع البكتيري في المرق المغذي وحضنت بدرجة حرارة 37 C لمدة ساعة واحدة واستخدمت معاملة سيطرة باستخدام بلازما مضاف لها بضعة قطرات من المرق المغذي غير المزروع بالبكتريا [2]، [9] .

الكشف عن انتاج الذيفانات المحللة للدم

تم الكشف عن قدرة البكتريا على انتاج الذيفانات المحللة للدم بزرعها على الأكار المغذي الحاوي على الدم بنسبة 5% وتنميتها بدرجة حرارة 37 C لمدة 24 ساعة [6] .

اختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية

استخدمت طريقة الأقراص لأختبار حساسية البكتريا للمضادات الحيوية [7]

تحييد البلازميدات

استعملت درجة حرارة نمو مرتفعة elevated growth temperature في تحييد اللازميدات بتنمية البكتريا تحت الدراسة بدرجة حرارة 5-7 C اعلى من درجة حرارة النمو المثالية حيث زرعت البكتريا على المرق المغذي وحضنت بدرجة حرارة 43 C . انتخبت عدد من المستعمرات النامية واجري لها اختبار الكشف عن انتاج خميرة التجلط والذيقانات المحللة للدم للتحري عن الخلايا المحيدة من خلال فقدان صفة تجليط البلازما وتحلل الدم وكررت المستعمرات ايضاً على الأكار المغذي الحاوي على المضادات الحيوية cefotaxin ، Bacitracin ، Neomycin ، Gentamycin ، Nalidixic acid ، Penicillin ، Erythromycin ، Cloxacillin . للتحري عن الخلايا المحيدة من خلال فقدان صفة المقاومة للمضاد الحيوي وعن طريق عزل البلازميدات وترحيلها كهربائيا كما اجريت نفس المعاملات على بكتريا منماة على المرق المغذي بدرجة 37 C للتحري عن التحييد التلقائي للبلازميدات [10] .

عزل البلازميدات

اعتمدت طريقة المسخ القاعدي للـ DNA الكروموسومي في مدى ضيق من الأس الهيدروجيني قدره 5-12- 12.00 باضافة هيدروكسيد الصوديوم في عزل البلازميدات حيث لقح 5 مللتر من الوسط الزرعي السائل Luria (L-broth) (15 غرام Tryptone ، 5 غرام yeast extract ، 5 غرام Nacl ، 5 غرام D-glucose في لتر من الماء عند اس هيدروجين قدره (7.5) بمستعمرة بكترية مفردة وحضن الوسط الملقح بالبكتريا عند درجة حرارة 37 C 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 ب 100 مايكروليتر من محلول مبرد بالثلج يتكون من (50 mm glocose , 10mm EDTA, 25 MM Tris clpH 8-0) – وحفظ عند درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق ثم اضيف 25 مايكروليتر من محلول محضر آنيا من Tris-cl يحتوي على الأنزيم الحال lysozyme بتركيز 10 ملغرام/مللتر ومزجت محتويات الأنبوبة جيداً .

اضيف 200 مايكروليتر من محلول محضر آنيا من (1%SDS), NaoH(o -2N) ومزجت محتويات الأنبوبة جيدا . وضعت الأنبوبة في الثلج لمدة 5 دقائق ثم اضيف 150 مايكروليتر من محلول مبرد بالثلج من خلال الصوديوم عند اس هيدروجيني بقرب من 4.8(11.5 مللتر من حامض الخليك الثلجي ، 28.5مللتر ماء تضاف الى 60 مللتر من خلال الصودوم (5M) . مزجت محتويات الأنبوبة جيدا لمدة 1o/ثواني وحفظت بالثلج لمدة 5 دقائق ثم نبذت عند درجة حرارة 4 C لمدة 5 دقائق . تم التخلص من الراسب وأضيف الى المحلول الرائق حجمان من الأيثانول ومزجت المحتويات جيدا وحفظت الانبوبة عند درجة حرارة الغرفة لمدة دقيقتين ثم نبذت عند درجة حرارة الغرفة لمدة 5 دقائق وتم التخلص من المحلول الرائق وجفف الراسب واضيف له 50 مايكروليتر من محلول TE و (10mm Tris – clpH8.0 lmmEDTA (pH8.0) وحضن عند درجة حرارة 37 C لبضعة دقائق ثم حفظ ناتج التحضير عند درجة حرارة 4C لحين اجراء عملية الترحيل الكهربائي (11) .

الترحيل الكهربائي الهلامي

حضر قالب من هلام الأكاروز بتركيز 1% بأذابة الأكاروز في محلول الترحيل الكهربائي TBE بتركيز (1×) وحضر المحلول TBE بتركيز (5×) باذابة 54 غرام من Tris . base ، 27.5

غرام من حامض البوريك Boric acid ، 20 مللتر من (0.5MEDTA CPH8.0) في لتر من الماء) وصبة قبل أن يتصلب في قالب يحتوي على مشط بارتفاع 0.5-1 ملمتر عن القاعدة لصنع حفر بالقرب من احدى حافتي الهلام تعبأ فيها النماذج ثم ترك الأكاروز يتصلب بدرجة حرارة الغرفة لفترة زمنية ثم رفع المشط من القالب لتتكون الحفر . مزجت عينة ال DNA البلازميدي مع محلول التحميل Loading buffer بتركيز (×1) (حضر محلول التحميل بتركيز (×6) باذابة 0.25% , 40 % sucrose (w/v) bromophenol blue في الماء) ثم رحلت عينة الـ DNA البلازميدي كهربائيا لمدة 6 ساعات بسرعة 4 فولت / سنتمتر ثم صبغ هلام الأكاروز بصبغة بروميد الاثيديوم بغمر الهلام في ماء مقطر حاوي على الصبغة بتركيز نهائي مقداره 0.5 مايكرو غرام / مللتر لمدة 45 دقيقة ثم شخصت حزم الـ DNA البلازميدي باستخدام

الأشعة فوق البنفسجية عند طول موجي مقداره 320 تانوميتر بعد ذلك تم ازالة الصبغة الزائدة بغمر الهلام في الماء المقطر لمدة 30 دقيقة ثم اخذت صورة للهلام باستخدام كاميرا نوع polaroid (11) .

النتائج

أسفرت عملية زرع البكتريا على وسط staphylococcal medium No-110 عن ظهور مستعمرات دائرية لماعة ذات لون اصفر ذهبي محاطة بهالة صفراء (صورة 1) واظهرت الفحوصات المجهرية عن كون البكتريا مكورات موجبة لصبغة كرام ، غير متحركة وغير مكونة للأبواغ تنتظم على شكل عناقيد العنب ، اما التفاعلات الكيموحيوية فيوضحا جدول 1 .

اظهرت البكتريا وكما هو مبين في صورة 2 قابليتها على انتاج خميرة التجلط حيث أدى امتلاك البكتريا الى هذه الخميرة الى تجمع مصل الدم في اسفل الأنبوبة .

اظهرت البكتريا وكما توضحها صورة 3 قدرتها على تحليل كريات الدم الحمر من خلال ظهور هالة شفافة حول المستعمرات البكتيرية المزروعة على اكار الدم .

أظهرت البكتريا حساسية لقسم من المضادات الحيوية ومقاومة للقسم الأخر منها (صورة 4) (جدول 2)

اظهرت هذه الدراسة ان الطريقة التي استخدمت في تحييد البلازميدات كانت ملائمة بشكل جزئي لتحييد البلازميدات المسؤولة عن انتاج خميرة التجلط (صورة 5) وكانت فعالة في تحييد البلازميدات المسؤولة عن مقاومة المضادات , cloxacillin penicillin , Erythromycin مع حصول تحييد تلقائي لجين المقاومة للمضاد Erythromycin ولم تكن الطريقة ملائمة لتحييد البلازميدات المسؤولة عن انتاج الذيقانات المحللة للدم . اسفرت عملية عزل البلازميدات عن ظهور البلازميدات المسؤولة عن مقاومة المضادات cloxacillin , Erythromycin , penicillin (صورة 6) ولم تكن طريقة عزل البلازميدات والترحيل الكهربائي كفوءة في الحصول على بلازميدات خميرة التجلط والذيقانات المحللة للدم .

المناقشة

يعزى اللون والهالة الصفراء للمستعمرات البكتيرية على وسط staphylococcal med ium No – 110 الى قدرة البكتريا على تخمير سكر المانيتول الموجود في الوسط ، وهي صفة تميز المستعمرات المرضية العائدة الى النوع S. aureus عن المستعمرات الأخرى التابعة لنفس الجنس والتي تكون محاطة بهالة وردية لعدم

تخميرها للسكر تلجأ البكتريا الى التفاعلات الكيموحيوية لتهيئة المغذيات لتحرير الطاقة اللازمة للقيام بفعالياتها الحيوية [1] ، [3] ، [9].

يعزى تجمع مصل الدم بفعل خميرة التجلط في بكتريا *S.aureus* الى قدرة الخميرة على تحويل المركب fibrinogen الى fibrin في البلازما وهي دليل أولي على امراضية البكتريا [1] ، [2].

ان تحلل الدم بفعل البكتريا يعزى الى الذيفانات نوع الفا ودلتا والذيقانات المحللة للكريات البيضاء [6]، [7]. هناك انماط مختلفة من تحلل الدم تقوم بها مكورات مرضية اخرى تعود الى الجنس *streptococcus* منها التحلل الجزئي للدم ويرمز لها الفا (&) حيث يتكون حزام اخضر اللون يحيط بالمستعمرة وتنتجها مكورات النوع (S. viridians) والتحلل الكامل للدم ويرمز لها بيتا (B) حيث يتكون حزام شفاف غير ملون يحيط بالمستعمرة وتنتجها مكورات النوع (*S. pyogenes*) اما في النمط كاما (Y) فلا يوجد حزام التحلل لعدم قدرة البكتريا على تحليل كريات الدم الحمر وتعود مكوراتها الى النوع (*S . faecalis*) [12] .

تعزى حساسية البكتريا للمضادات الحيوية الى ان قسما منها يعمل على تثبيط بناء جدار الخلية وقسم آخر يعمل على تثبيط عملية تمثيل الأحماض النووية وتثبيط عملية بناء البروتين في حين يعمل القسم الآخر على الغشاء البلازمي ، اما مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية فهي اما ان تكون موروثة او غير موروثة منها أما أن تكون كروموسومية أو محمولة بواسطة البلازميدات والمقاومة الكروموسومية يكون سببها طفرات مقاومة . اما غير الموروثة تكون مصحوبة ببكتريا غير متكاثرة (اي انها لا تنتقل من بكتريا الى أخرى) علاوة على ان التعرض المستمر للبكتريا للمضادات الحيوية قد يسبب ما يعرف بظاهرة الضغط الأنتخابي selective pressure يضاف الى ذلك الى ان الحث الوراثي قد يؤدي الى حصول مقاومة للبكتريا لهذه المضادات [1] .

ان طرق مقاومة البكتريا للمضادات تكون من خلال صنع الأنزيمات المسؤولة عن تهديم المضاد وتغيير الجدار الخلوي بطريقة يصبح من خلالها غير نفاذ للمضاد الحيوي أو حدوث عملية تحوير للمركب من خلال عملية اضافة مجموعة اسيتايل Acetylation حيث تتحول الجزيئات الى جزيئات منتشرة كما يحدث للمضاد Chloramphenicol وتغيير الجزيئات الكبيرة التي يرتبط بها المضاد الحيوي [1]

تعزى صفة ضراوة البكتريا الى جينات تركيبية مرتبطة تشترك بحفاز promoter واحد وفاصل terminator واحد أو ما يعرف بالعامل operon وهذا يؤكده التأثير الطفيف للبلازميدات المسؤولة عن انتاج خميرة التجلط حيث كان مصل الدم المتجمع في اسفل الأنبوبة بعد عملية التحييد أقل بكثير منها قبل عملية التحييد وان حالة التأثير الطفيف للبلازميد يعزى الى الوزن الجزيئي العالي لها ويتمثل بتأثر انزيم بلمرة الحامض النوي الرايبي RNA RAN polymerase المسؤول عن عملية استنساخ الجينات [10] .

اثبتت دراسة حديثة اجريت على بكتريا Escherichia coli التي تصيب الطيور *Escherichia coli* Avian (APEC) pathogenic والتي تسبب التهاب القولون العصوي colibacillosis مسببة خسائر اقتصادية كبيرة في الدواجن ، اثبتت ان صفة الضراوة في هذه البكتريا تعود الى جينات بلازميدية مرتبطة بقدر حجمها بـ 94 كيلو زوج قاعدي مرتبطة ببلازميد انتاج الكولسين col v اشير لها بالبلازميد pAPEC-O2-COIV وكذلك الى بلازميدات بقدر حجمها بـ 174 كيلو زوج قاعدي مرتبطة ببلازميد انتاج الكولسين col BM اشير لها بالبلازميد pAPEC-O1-

ColBM [13] . وقد اشارت دراسات اخرى في هذا المجال ان بكتريا *E coli* المسببة لألتهاب المجاري البولية في الأنسان *E coli* nic Uropathoge (U PEC) تحتوي على جينات البلازميد PAPEC-O2-COLV تكون ايضا مرتبطة ومشتركة بحفاز واحد تعرف بالعامل operon[14]. اشار Binns وآخرون [15] الى ان بلازميدات الضراوة مسؤولة عن انتاج خميرة التجلط وزيادة تجمع مصل الدم كما اشار Morales وآخرون [16] الى ان بلازميدات الضراوة في بكتريا E *coli* التي تصيب الطيور تحتوي على الجين *hly* F المسؤول عن انتاج الذيفانات المحللة للدم .

اظهرت هذه الدراسة فعالية درجة الحرارة في تحييد جينات المقاومة للمضادات الحيوية penicillin , Erythromycin , cloxacillin بعد الفقدان الفيزيائي للبلازميد الحامل لها . وأوجدت دراسة التحييد التلقائي ان الجين المسؤول عن مقاومة المضاد الحيوي Erythromycinهو اكثر عرضة للتحيد التلقائي وقد يكون هذا الجين من الجينات الأكثر عرضة للتحييد التلقائي اسوة بالجينات الطافرة Mutaor genesالتي تكون اكثرعرضة للطفرات التلقائية حيث تعاني البكتريا التي تحتويها من زيادة فجائية في معدل الطفرات التلقائية والتي هي جينات مرتبطة بتصنيع انزيمات بلمرة الحامض النووي الرابي منقوص الأوكسجين DNA(DNA polymerse) أو اي انزيمات اخرى مسؤولة عن تضاعف الحامض النووي DNA اضافة الى وجود تتابعات ضمن الجينات المحيدة اكثر عرضة لعملية التحييد اسوة بتتابعات الجينات الطافرة التي تكون اكثر عرضة لعملية التطفير والتي تعرف بمناطق الطفرات الحارة Mutation hot spots كما في اوبرون اللاكتوز Lac operon وابيرون التربتوفان trp operon [17] و[18] اشار Trevors [10] الى احتواء بكتريا *S.aureus* على البلازميد I com مسؤول عن مقاومة المضادات penicillin , Erythromycin وايونات الكادميوم وان المادة المحيدة rifampicin لها دور مهم في تحييد هذا البلازميد ، كما اشار الى ان درجة الحرارة فعالة في تحييد البلازميدات المسؤولة عن مقاومة المضاد الحيوي Tetracyclin وانتاج انزيم penicillinase في بكتريا *S.aureus*.

المصادر

[1] الجبوري ، محيميد مدالله . 1990 . علم البكتريا الطبية .مطبعة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة الموصل .

[2] Burns , J.and D.F Holt man . 1960. Biochemical properties of virulent and non virnlent staphylococci- Ann,N.Y.Acad. Sci.88:1115 .

[3] العاني ، فاروق – الشبيب . اسفار شهاب . 1989. المكورات المرضية الرئيسية . مطبعة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي . جامعة بغداد . بيت الحكمة .

[4] Drummend , A.and M. Tager – 1962 . separation of acid phosphatase from tributyrinase –Dlhsok .

[5] Miller, w.r.and A-R-Jay-1962- staphylococciand influenzaArch- Internal med . 109:276

[6]Yotis , W. 1979 . Recent advance in staphylococci Research . Ann.N.Y.Acad.Sci. 236,S.

[7] Cruickshank , R.O.; Duguid , J-p.; Marmion , B.p. and Swain R.H.A. Medica Microbiology vol .II.churchill Living stone .

[8]Dack , G.W.E.;Cary ,O. Wool pork and wiggers . 1930-An out break of food poisoning proved to be due to anew hemolytic staphylococci – (Dack-1956)

[9] الزيدي ، حامد –ابراهيم ، ضمياء ابراهيم –عبد الكريم ، الهام سعيد . 1987. علم الأحياء المجهرية العملي . مطبعة وزارة التعليم العالي والبحث العلمي –جامعة بغداد

[10] Trevors ,J.T. 1986 – plasmid curing in bacteria –FEMS Microbiology Reviews 32 : 149 -157

[11]Maniatis , T. : Fritsch , E.F.and sam brook , J. 1982 . Molecular cloning (a loboratory manual) . cold spring harbor laboratory .

[12] Hirsch , J-c- ; A.W. bern humer and c.weissman-1963 . Motion picture study of the toxic action of stre ptoly sin on leucocytes . J. EXP.Med- 118:223

[13] Johnson , T.J.; Johnson ,S.J. and Nolan ,L.K.2006 .complete DNA sequence of a col BM plasmid from Avian pathogenic Escherichia coli suggeste that it evolved from closely related col v . Journal of Bacteriology. vol.188, No.16, p.5975-5983 .

[14]Oelschlaeger , T.A; U.Dob rindt , and J.Hacker . 2002 pathogenicity islands of uropathogenic E.coli and the evolution of virulence . Int . J.Antimicrob . agents 19:517-521.

[15]Binns , M.M.; D.L.Davies , and K . G. Hardy . 1979. cloned fragments of the plasmids colv , I.K94 specifying virulence and serum resistance - Nature 279:778-781

[16] Morales , C.; M.D-Lee; C.Hofacre and J.J. Maurer. 2004 . Detection of anovel virulence gene and a salmonella virulence homologue among Escherichia coli isolated from broiler chickens food borne pathog .Dis .1:160-165 .

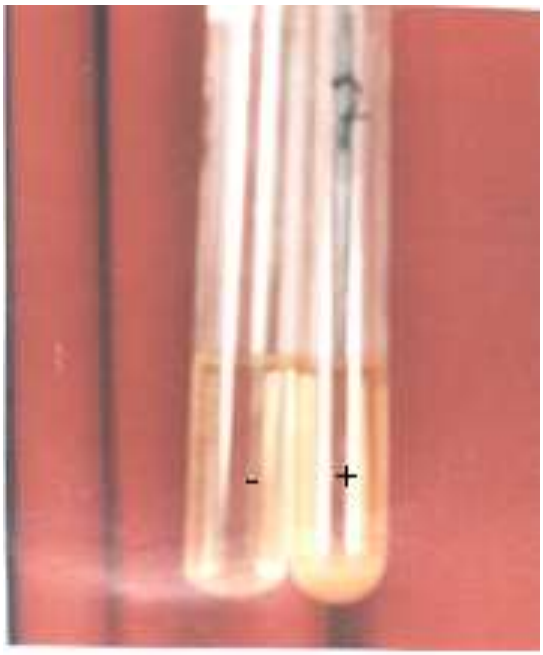
[17] العاني ، فاروق ياس. 1992 . وراثة الأحياء المجهرية . مطبعة وزارة التعليم العاليوالبحث العلمي ، جامعة بغداد .

[18]Freifelder , P.1987 . molecular biology . 2nd (ed.) Jones and bar tlett .

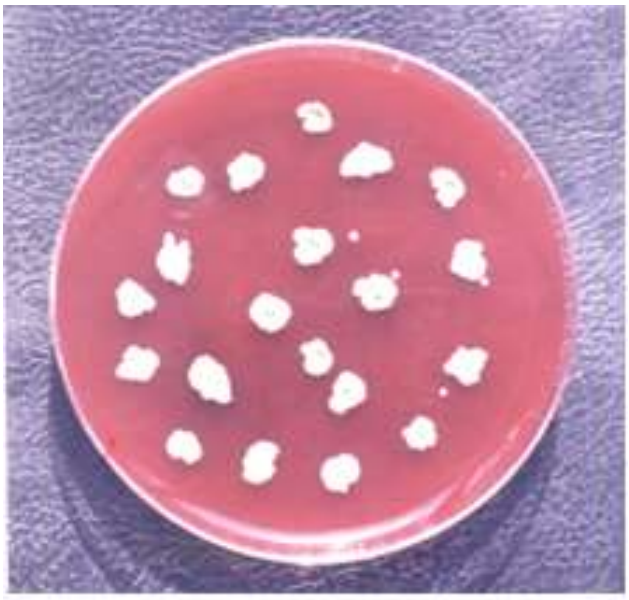
صورة 1: بكتريا S. aureus على الوسط الزرعي Staphylococcal medium No .110

جدول 1: التفاعلات الكيموحيوية لبكتريا S.aureus

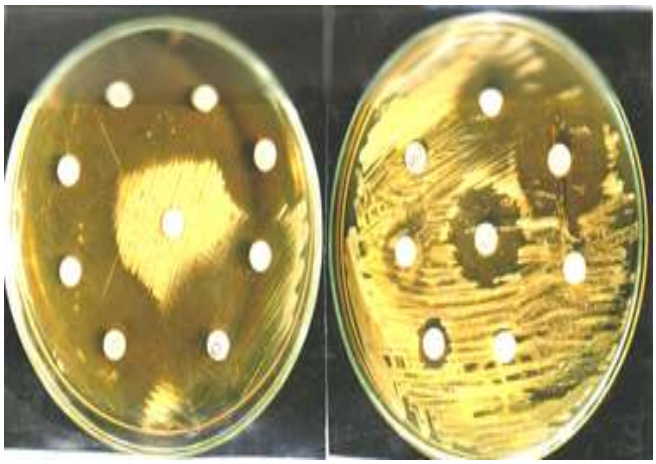
coagulase	oxidase	Catalase	Citrate Utilization	Voges proskauer	Methyl Red	Indole production	البكتريا
+	_	+	_	+	+	_	***S. aureus***



صورة 2: الكشف عن انتاج خميرة التجلط في بكتريا S.aureus تبين انبوبة الأختبار في الجهة اليمنى على ايجابية الفحص وتبين الأنبوبة على الجهة اليسرى على سلبية الفحص (عدم وجود تخثر).



صورة 3: البكتريا S.aureus على اكار الدم.



صورة 4: اختبار حساسية بكتريا S.aureus تجاه المضادات الحيوية.

صورة 5: الكشف عن انتاج خميرة التجلط في بكتريا S.aureus بعد عملية التحييد

جدول 2: اختبار حساسية بكتريا S.aureus تجاه المضادات الحيوية

المضاد الحيوي	الأستجابة	المضاد الحيوي	الأستجابة
Cephalothin	حساسة	Cefotaxin	مقاومة
Ampicillin	حساسة	Bacitracin	مقاومة

P- ISSN 1991-8941 , E-ISSN 2706-6703 (*JUAPS*) مجلة جامعة الانبار للعلوم الصرفة Open Access
2008 ,(2), (3) :45-53

صورة 6: الترحيل الكهربائي للبلازميدات على هلام الأكاروز بتركيز 1%وفولتية 5 فولت /سم لمدة 6 ساعات لبكتريا S.aureus

المسار 1: البلازميد المعزول من بكتريا S.aureus قبل عملية التحييد

المسار 2: البلازميد المعزول من بكتريا S.aureus بعد عملية التحييد

Ampiclox	حساسة	Neomycin	مقاومة
Tetracyclin	حساسة	Gentamycin	مقاومة
Rifampicin	حساسة	Nalidixic acid	مقاومة
Cloxamcillin	حساسة	Penicillin	مقاومة
Fusidic acid	حساسة	Erythromycin	مقاومة
Chloramphenicol	حساسة	Cloxacillin	مقاومة
Nitrofurontion	حساسة		

The role of plasmid in the virulence of *Staphylococcus aureus* and its resistance of antibiotics

Khalaf Jasim Mohammed

E.mail:scicol@yahoo.com

ABSTRACT

The bacterium staphylococcus aures was isolated from subcutaneous abcess by using staphylococcal medium No-110 and diagnosed according to its cultural and micro scopic characters , biochemical reactions and coagulase production . Sensitivity test of the bacterium against antimicrobial agents was performed and the result appeared that the bacterium was sensitive to cephlothin , ampicillin , ampiclox , tetracyclin , rifampicin , cloxamcillin ,fusidic acid , chloramphenicol and nitrofurontion , and resistant to cefotaxin , bacitracin neomycin, gentamycin , nalidixic aceid , penicllin , erythromycin and cloxacillin .

Curing experiment was accom plished using elevated growth temperature , to study the role of plasmids in coding for the virulence factors , coagulase and hemolysin and antibiotics resis tance , Result showed the partial loss of coogulase production through the effect on RNA polymerase responsible of transcription of cluster structural genes with single promoter and terminator produce coagulase and the method was not suitable for curing hemolysin plasmid . Results of curing of plasmids responsible of antibiotics resistance ensured the role of plasmids in resistance of the antibiotics penicillin , Erythromycin and cloxacillin after physical loss of plasmid as proofed by gel electrophoresis .