رشا عبد علي الخالدي
Saturday, December 25, 2010
4:33 PM

مجلة بغداد للعلوم مجلد 7(1) 2010

دراسة وراثية لبكتريا *Salmonella spp.* المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف ESBLs

رشا عبد علي الخالدي* عبد الكريم القزاز* محمد سعد*

تاريخ قبول النشر 1 /3 /2010

الخلاصة

جمعت (10) عزلات من مصادر سريرية من المختبرات التعليمية بمدينة الطب تم التاكد من عائديتها لجنس *Salmonella spp.* اعتمادا على الفحوصات المظهرية والكيموحيوية . ان نتائج فحص الحساسية الدوائية تجاه 10 مضادات حيوية اشارت الى امتلاك (60%) من العزلات لنمط المقاومة المتعددة ، اذ كانت (70%) من العزلات مقاومة للامبسيلين، و (50%) منها مقاومة الاوكمنتين ، و(40%) مقاومة للسفترياكسون ، و(20%) مقاومة للسيفوتاكسيم , و(10%) فقط مقاومة للسبروفلوكساسين والتتراسايكلين , بينما كانت العزلات حساسة لمضادات البراسيلين والامبينيم والاميكايسين والارثرومايسين . ، اظهرت العزلات جميعها قدرتها على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز باستخدام طريقة اليود القياسية .كما اختبرت قابلية العزلات على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف باستخدام طريقة الاقراص المزدوجة , وبينت النتائج قابلية 5 عزلات فقط على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة لطيف . تمت دراسة النسق البلازميدي للعزلات المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف, ودلت نتائج الترحيل الكهربائي في هلام الاكاروز ان العزلات تملك حزم بلازميدية صغيرة. اظهرت نتائج تجارب التحول ان البلازميدات الصغيرة انتقلت الى بكتريا *E.coli*MM294 ، مما يشير الى قابلية هذه البلازميدات على التعبير المظهري في اكثر من مضيف.

الكلمات المفتاحية:*Salmonella* ، البيتالاكتاميز ،

المقدمة

اكتشفت بكتريا *Salmonella spp.* من قبل العالم Eberth عام 1980 ,وهي بكتريا سالبة لصبغة غرام , تنمو بظروف لاهوائية اختيارية , تصنف ضمن العائلة المعوية Enterobacteriacea [1].تسبب بكتريا *Salmonella* نوعين من الأمراض للإنسان : الأول التهاب الامعاء المعدي الذي يصيب الانسان عن طريق الغذاء الملوث مثل لحوم الابقار والدجاج , اذ تعتبر الحيوانات الخازن الطبيعي لجنس *Salmonella* . اما النوع الثاني فهو الحمى التايفوئيدية التي تصل الى الانسان عن طريق الاتصال المباشر من شخص للأخر وايضا عن طريق المياه الملوثة بالبكتريا[2]. هذه الامراض ذاتية الشفاء , الا انها قد تتضاعف الى امراض جهازية مثل تجرثم الدم ,السحايا ,التهاب العظام, تليف الكبد ,عندها تحتاج الى العلاج بالمضادات الحيوية خاصة الاشخاص المصابين بالامراض المناعية [3]. ان الاستعمال الواسع للمضادات الحيوية في علاج الامراض التي تسببها بكتريا *Salmonella* للانسان فضلا عن استخدام المضادات في مزارع الحيوانات بوصفها إضافات علفية أدى الى ظهور سلالات *Salmonella* تملك صفة المقاومة المتعددة , مما جعل علاج الإصابات الناتجة عن *Salmonella* عملية صعبة , الامر الذي يزيد من خطورتها من الناحية السريرية [4]. ان المقاومة للمضادات الحيوية ناتجة عن طفرات وراثية في تسلسل الاحماض الامينية مؤدية الى تغير الموقع الهدف , او ناتجة عن حدوث طفرات في الجينات المشفرة للنقل الفعال, كما تتميز هذه البكتريا بانتاجها للعديد من انزيمات البيتالاكتاميز[3]. تحمل الموروثات المسؤولة عن المقاومة للمضادات الحيوية على بلازميدات غالبا ما تكون بلازميدات اقترانية ,كما تعزى مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية الى وجود عناصر وراثية (انتكرون) مغروسة في الكروموسوم او البلازميد او الترانسبوزون [5]. لذا كان هدف البحث هو دراسة قابلية البكتريا المعزولة محليا على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز و معرفة مواقع جينات المسئولة عن انتاج هذه الانزيمات سواء اكانت كروموسومية ام بلازميدية لاختيار العلاج المناسب لها .

المواد وطرائق العمل :

ا- العزلات البكتيرية :

جمعت 10 عزلات مشخصة من مصادر سريرية (S1,S2,S3,S4,S5,S6,S7,S9) عزلت من غائط اما العزلات (S8)

*كلية العلوم /قسم التقنيات الاحيائية /جامعة بغداد

S10,عزلت من الدم , تم التاكد من تشخيصها لجنس *Salmonella* اعتمادا على الصفات المظهرية والاختبارات الكيموحيوية حسب ما وصفه Macfaddin [6].

ب- اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

اختبرت حساسية العزلات البكتيرية تجاه 10 مضادات حيوية والتي استخدمت بشكل أقراص وفقا للطريقة المذكورة من قبل Vandepitte[7] , تم قياس أقطار مناطق التثبيط حول كل قرص من أقراص المضادات الحيوية بوساطة المسطرة، ومقارنتهما مع الجداول القياسية الخاصة بتقرير National Committee for Clinical Laboratrry Standards (NCCLs) [8] .

ت- الكشف عن انزيمات البيتالاكتاميز

اجري هذا الكشف على العزلات البكتيرية التي اظهرت مقاومة واضحة للمضادات الحيوية باستخدام طريقة اليود القياسية السريعة المذكورة من قبل WHO [9] .

ث-الكشف عن انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف

اتبعت طريقة الاقراص المزدوجة للكشف عن قابلية العزلات على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف ,باتباع الطريقة المذكورة من قبل Bendenic[10]

استخلاص الدنا البلازميدي

عزل الدنا البلازميدي من العزلات البكتيرية قيد الدراسة, وذلك بأتباع الطريقة المذكورة من قبل (Kiser) والمحورة من قبل Pospiech and Neuman [11]

ج- الترحيل الكهربائي في هلام الاكاروز

تم الكشف عن النمط البلازميدي للعزلات بعملية الترحيل الكهربائي في هلام الاكاروز حسب ما وصفه Maniatis[12] , و فحص الهلام باستخدام مصدر للأشعة الفوق البنفسجية(Transilluminator) بطول موجي 354 نانوميتر ، و صور الهلام لغرض تحليل النتائج.

ح- التحول البكتيري Bacterial Transformation

استخدم الدنا البلازميدي المستخلص من العزلة رقم (S9) لتحويل السلالة القياسية *E.coli* MM294 المقاومة للريفامبسين وذلك بأتباع الطريقة المذكورة من قبل Maniatis [12]

النتائج والمناقشة

أ**-تشخيص العزلات:** اظهرت 10 عزلات عائديتها لجنس *Salmonella* اعتمادا على الصفات المظهرية والاختبارات الكيموحيوية , و اختبرت قابلية العزلات جميعا على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز وانزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف.

ب-مقاومة بكتريا *Salmonella* لمضادات الحيوية

فحصت قابلية عزلات بكتريا *Salmonella* على مقاومة المضادات الحيوية وذلك باستخدام 10مضادات حيوية ، وتم تحديد مقاومتهما للمضادات الحيوية اعتمادا على قياس قطر منطقة التثبيط (بالمليمتر)، أظهرت النتائج المبينة في الجدول1 إن العزلات البكتيرية كانت مقاومة لمضاد البنسيلين وبنسبة 70% ، و تعد هذه النتيجة طبيعية نتيجة للاستخدام الواسع لهذا المضاد في العلاج وايضا في اعلاف الحيوانات , كما يعزى سبب المقاومة لهذا المضاد الى وجود بلازميدات تحمل الموروثات المسؤولة عن المقاومة لمضاد الامبسيلين في اغلب انواع بكتريا *Salmonella* [14,13]كما اظهرت الانواع جميعا حساسية تجاه مضاد الببراسلين بينما اشارت احدى الدراسات الى ان بكتريا *Salmonella* اظهرت مقاومة عالية لمضاد الببراسلين[15]. أثبتت النتائج مقاومة بكتريا *Salmonella* لمضاد السفترياكسون وبنسبة 40% بينما اظهرت مقاومة لمضاد السيفوتاكسيم وبنسبة 20% وتعود هذه المقاومة الى قدرة البكتريا على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف من نوع CTX-m و CMY التي تحمل مؤشراتها لوراثية على البلازميدات او عناصر وراثية(IS) [17,16], اذ وجدت بلازميدات بحجم 140 Kb تحمل صفة المقاومة لهذه المضادات [3] . اما فيما يخص لمقاومة لمضاد الامبنيم وهو من مجموعة الكاربابنيم , فقد تميزت جميع العزلات بحساسيتها تجاه مضاد الامبنيم , وجاءت هذه النتائج مطابقة لما ورد في احد الادبيات العلمية , اذ ذكر العالم Dimitrov وجماعته ان بكتريا *Salmonella* حساسة للامبنيم[15] . يتضح من النتائج ان الانواع البكتيرية المعزولة قيد الدراسة قد اظهرت مقاومة لمضاد الاوكمنتين وبنسبة 50% . اما فيما يخص التترايكلين فقد بينت النتائج الموضحة في جدول 1 ان بكتريا *Salmonella* كانت مقاومة وبنسبة 10% فقط لهذا المضاد . اشارت العديد من الدراسات الى قابلية البكتريا لمقاومة مضاد التترايكلين وقد تعود هذه المقاومة الى وجود موروثات المقاومة محمولة على البلازميدات او عناصر قافزة او انتكرون [19,18]. اما فيما يتعلق بمجموعة الامينوكلايكوسيدات فقد اظهرت النتائج جدول 1 ان العزلات حساسة لمضاد الاميكايسين , ان صفة المقاومة لهذه المضادات غالبا ما يكون سببها حدوث طفرات كروموسومية تعمل على

Unfiled Notes Page 2

تحوير المستلم الرايبوسومي او الموقع الهدف (30s) [20],او نتيجة لوجود بلازميدات تحمل الموروثات المسؤلة عن المقاومة لهذا المضاد [5]. اظهرت بكتريا *Salmonella* نسبة مقاومة ضئيلة لمضاد السبروفلوكساسين وبنسبة (10%) وهو من مجموعة الفلوروكينولون , ان النسبة الضئيلة قد تعود الى استخدام هذا المضاد حديثا في علاج اصابات البكتريا خصوصا في الاطفال[17] .اكد العالم Holt ان صفة المقاومة لمضادات الفلوروكينولون تعود الى وجود موروثات المقاومة على الكروموسوم البكتيري واحيانا على بلازميدات كبيرة الحجم [21] . اما مضاد الارثرومايسين فقد اظهرت العزلات البكتيرية حساسية تجاه هذا المضاد وبنسبة 100% وتعزى المقاومة الى هذا المضاد الى حدوث طفرات كروموسومية تؤدي الى تغير الموقع الهدف الذي يعمل عليه المضاد وهو الرايبوسوم البكتيري (50s)[20].

جدول 1 : نتائج فحص الحساسية الدوائية لبكتريا *Salmonella*

اسم المضاد	S1	S2	S3	S4	S5	S6	S7	S8	S9	S10
Ampicillin	R	S	S	R	S	R	R	S	R	R
Pipracillin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Ceftriaxon	R	R	S	S	S	R	S	S	R	S
Cefotaxime	R	S	S	S	S	R	S	S	S	S
Imipenem	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Augmentin	R	R	S	S	R	R	S	S	R	S
Tetracyclin	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S
Amikacin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Erythromicin	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
Ciprofloxacin	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S

(R) مقاومة،(S)حساسة

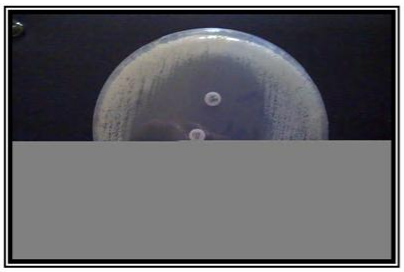
شكل (1) فحص إنتاج إنزيمات البيتالاكتاميز بطريقة اليود القياسية
A- النتيجة الموجبة لاحدى عزلات *Salmonella*
B- النتيجة السالبة للسلالة القياسية
***E.coli*ATCC25922 .**

الكشف عن انزيمات البتالاكتاميز

استخدمت طريقة اليود القياسية للتحري عن قدرة عزلات بكتريا *Salmonella* المختلفة على انتاج انزيمات البتالاكتاميز .اعطت العزلات جميعها نتيجة موجبة سريعة (10-20)ثانية باستخدام طريقة اليود القياسية التي تمثلت بالتغير اللوني السريع من الازرق الى الابيض (شكل 1) ,مما يدل على قابلية العزلات على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز[22] ,ان الجينات المشفرة عن انتاج هذه الانزيمات تكون محمولة على بلازميدات اقترانية او محمولة على جينات قافزة او انتكرون[21,17,5]

ت-الكشف عن انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف

تم الكشف عن قابلية بكتريا *Salmonella* على انتاج انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف باستخدام طريقة الاقراص المزدوجة,اعتمدت هذه الطريقة على اتساع منطقة التثبيط بين قرص السيفوتاكسيم وبين القرص الحاوي على المثبط الانزيمي (الاموكسيسلسن- حامض الكلافيولانك(10- 20)) مايكروغرام لكل مليليتر). استطاعت 5 عزلات من مجموع 10 (50%) منتجة لانزيمات البتالاكتاميز ان تظهر اتساعا بمنطقة التثبيط باتجاه القرص الحاوي على المثبط الانزيمي (شكل2). اشارت العديد من الدراسات الى قدرة بكتريا *Salmonella* على انتاج انواع مختلفة من انزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف ومنها انزيمات مشتقة من CTX-M فضلا عن انزيمات مشتقة من SHV-1 و TEM- [24,23]مما يؤهلها لمقاومة مجموعة البيتالاكتام المختلفة , وبالتالي صعوبة علاج الحالات المرضية التي تسببها هذه البكتريا [25,14].

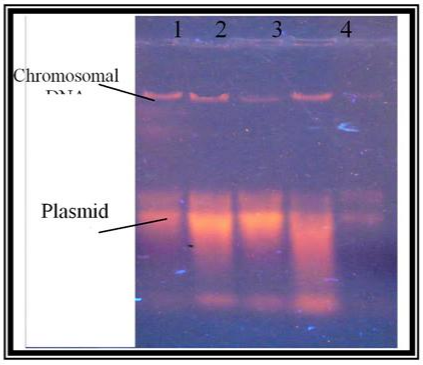


شكل (2) فحص التحري عن إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز واسعة الطيف بطريقة الاقراص المزدوجة باستعمال وسط مولر هنتون وبمدة حضانة 24 ساعة.
تظهر النتيجة الموجبة باتساع منطقة التثبيط لقرص مضادالسيفوتاكسيم (CTX) باتجاه قرص (الاموكسيسيلين-حامض الكلافيولانك)(AMC)

Unfiled Notes Page 3

ث-النسق البلازميدي

تم التحري عن المحتوى البلازميدي لعزلات *Salmonella* المنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف ، وذلك لغرض التعرف على دور هذه البلازميدات في إنتاج هذه ألانزيمات . اعتمدت طريقة التمليح الخارجي (Salting out) المحورة من قبل Pospiech and Neuman, [11].لامكانية الحصول على بلازميدات مختلفة الأحجام وجودتها في تحضير تراكيز عالية من الدنا البكتيري. أظهرت نتائج الترحيل الكهربائي لمستخلص الدنا الكلي للعزلات البكتيرية على هلام الاكاروز (شكل 3) احتواء العزلات على حزمتين بلازميديتين صغيرتين وذات أوزان جزيئية مقاربة للوزن الجزيئي للبلازميد pBR 322 (4.3) /كيلو زوج قاعدي/ و الذي استخدم دليلا حجمياً .ان صفة إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز في بكتريا *Salmonella* قد تكون محمولة على البلازميدات أو ربما تكون صفة كروموسومية او محمولة على قافز جيني او انتكرون. كما تتباين هذه البلازميدات في أوزانها الجزيئية اذ تتراوح بين kb 2-212 [21]، والتي لها دور مهم في إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز المختلفة والمقاومة المتعددة للمضادات الحيوية[26].



شكل (3) الترحيل الكهربائي الهلامي
1- الدنا الكلي للسلالة القياسية *E.coli* HB101 الحاوية على البلازميد pBR322.
2-5 الدنا الكلي لبعض عزلات *Salmonella*
3-الدنا الكلي لبكتريا *Aeromonas sobria* .

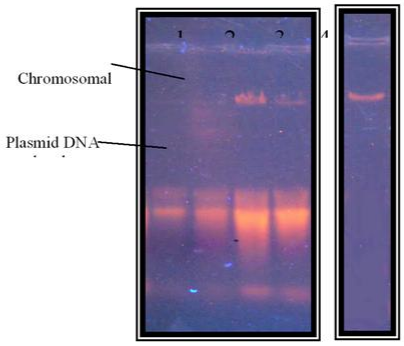
ج- التحول الوراثي

حدد دور البلازميدات في إنتاج أنزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف في عزلات بكتريا *Salmonella* من خلال إجراء تجربة لتحويل السلالة القياسية *E.coli*MM294 المقاومة للريفامبسين . استخدم الدنا الكلي المستخلص من العزلة رقم (S9) المقاومة للامبسلين والاوكمنتين والنتراسايكلين والسفترياكسون . كما حولت السلالة القياسية نفسها بدنا البلازميد pBR 322 الذي يحمل مؤشرات المقاومة للامبسيلين والنتراسايكلين بوصفها سيطرة موجبة للتأكد من نجاح تجارب التحول المستخدمة. توضح النتائج المبينة في الجدول (2) الحصول على تردد تحول جيد من التجربتين قياساً مع تردد التحول باستخدام السيطرة الموجبة ، وكانت الخلايا المتحولة بدنا العزلة رقم(S9) مقاومة للتراساكلين والسفترياكسون والامبسيلين ومنتجة لانزيمات البيتالاكتاميز الا انها غير منتجة لانزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف . اشارت نتائج احدى الدراسات التي استطاعت الحصول على خلايا متحولة مقاومة لمضادات الامبسلين والتراسايكلين والجنتامايسين والسفترياكسون الى ان هذه الصفات محمولة على بلازميدات صغيرة تتراوح احجامها بينkb 2.5-5 [13]. يتضح من نتائج الترحيل الكهربائي بهلام الاكاروز الشكل (4) امتلاك المتحولات المسار 2و 4 على النسق البلازميدي نفسه الذي تملكه العزلة (رقم S9) والسلالة*E.coli*HB101 الحاوية على بلازميد pBR322 المسار3و1على التوالي . وهذا يشير الى ان صفة المقاومة لمضادات الامبسلين والتراسايكلين والسفترياكسون محمولة على بلازميدات صغيرة مشابهة بحجمها للبلازميد pBR322 ,وان هذه البلازميدات قادرة على التعبير المظهري في اكثر من مضيف . اما انزيمات البيتالاكتاميز الواسعة الطيف فلم يتم انتقالها الى السلالة القياسية وهذا ما تم تاكيده عند اجراء اختبار الكشف عن هذه الانزيمات , وقد يعود السبب الى وجود المؤشرات الوراثية على الكروموسوم او الانتكرون او الترانسبوزون [21,16,3], .

جدول 2 : نتائج تحول السلالة القياسية*Ecoli*MM 294 بالدنا الكلي المستخلص من العزلة رقم (S9) . والدنا الكلي المستخلص من السلالة القياسية *E.coli*HB101الحاوية على البلازميد pBR322.

مصدر الدنا البلازميدي المستخدم في التحول	المؤشرات الوراثية المنتقلة بالتحول	تكرار التحول
Salmonella (S9)	المقاومة لمضاد النتراسايكلين المقاومة لمضاد الامبسيلين المقاومة لمضاد السفترياكسون	$1.4x10^{-5}$ $1.1x10^{-4}$ $0.9x10^{-5}$
*E.coli*HB101 الحاوية على pBR322	المقاومة لمضاد الامبسيلين المقاومة لمضاد النتراسايكلين	$1.5x10^{-3}$ $1.4x10^{-3}$

Unfiled Notes Page 4



شكل (4) الترحيل الكهربائي الهلامي .

1- الدنا الكلي للسلالة القياسية *E.coli*HB101 الحاوية على pBR 322

2- الدنا الكلي للسلالة القياسية *E.coli*MM294 المتحولة بدنا السلالة القياسية *E.coli*HB101 الحاوية على pBR 322

3- الدنا الكلي للعزلة (S9)

4- الدنا الكلي للسلالة القياسية *E.coli*MM294 المتحولة بدنا العزلة (S9).

5- الدنا الكلي للسلالة القياسية *E.coli*MM294.

6- الدنا الكلي للسلالة القياسية *E.coli*MM294 المتحولة بدنا العزلة *A..sobria*.

7- الدنا الكلي للسلالة القياسية *E.coli*MM294

المصادر:

1. Giannella R.A.1979. Importance of the intestinal inflammatory reaction in *Salmonella* –mediated intestinal secretion. Infection Immunity 23:140.
2. R.otger, R. and Casadesus, J.1999. The virulence plasmids of *salmonella*. Internatal Microbiology. 2:177-184.
3. Chiu, C.H.and Chu, C.2004. *Salmonella enterica* Serotype choleraesuis: epidemiology,pathogenesis, clinical disease ,and treatment .Clinical Microbiology Reviews 17(2):311-322.
4. Martin,J.2008. Salmonella Strains in Humans Distinct from Animals.United states department of Agriculture. (202) :720-8188.
5. Carattoli,A.2003.plasmid mediated antimicrobial resistance in *Salmonella enterica*.curr, issues Molecular Biology.5:113-122.
6. Macfaddin ,J.F.2000.Biochemical tests for identification of medical bacteria. 3ed Lippincott Williams and Wilkins.
7. Vandepitte , J.; Engba , K.K.; Piot , P.; and Heuck , C.C.1991.Basic laboratory producers in clinical bacteriology. World Health Organization Geneva .
8. National Committee for Clinical Laboratrry Standards (NCCLs). 2002 .Preformance standards for antimicrobial susceptibility testing :twelfth informational supplement (m100-s12).National Committee for clinical laboratory Standerd .Wayne.
9. WHO,1978.Techniques for the detection of β-lactamase producing strains of *Neisseria gonorroeae*. 616:137-143.
10. Bedenic, B.;Randegger,C.: Boras,A.: and Haechler, H.2001. Comparison of five different method for detection of SHV extended spectrum β-Lactamases. Journal Chemotherapy 13(1):24-33.
11. Pospiech, J.; and Neuman , T.1995. Preperation and analysis of genomic and plasmid DNA (ed Kieser ,T) Norwich , u.k.
12. Maniatis, T.; Fritsch, E.F.; and Sambrook, J.1982.Molecular cloning : a laboratory manual. Cold spring harbour laboratory .Cold spring harbour , Newyourk
13. Suh,Y. C.and Odeh,E.N.2008. Plasmids: A, Vehicle for rapid transfer of antibiotic resistance markers of *Salmonella species* in animals. International Journal of Integrative Biology 2(1):55-61.
14. Mandal,S.:Mandal,M.D. and Pall,M.K. 2004.Plasmid-encoded multidrug resistance of *Salmonella typhi* and some interic bacteria in and around kolkata ,India :A Preliminary study . Issue .3:1-7.
15. Dimitrov,T.S.;Udo, E.E.; Verghese,T. ;Emara,M. and Al-Saleh, A.2006. Plasmid – mediated

enterica serovar paratyphi a harbors IncHI1 plasmids similar to those found in serovar typhi . Journal of Bacteriology . 189(11):4257-4264.

22. White,D.G.; Zhao,S.; Sudler,R.; Ayers,S.; Friedman,S.; Chen, SMcDermott, P.F.; McDermott,S. Wagner, D.D.; and Meng J.2001. The Isolation of Antibiotic-Resistant *Salmonella* from Retail Ground Meats. The New England Journal 0f Medicine .345(16):1147-1154.

23. Prabhakar,p.1999. Extended-Spectrum Beta- Lactamase-Producing *Salmonella enteritidis* in Trinidad and Tobago. Emerging Infectious Diseases.5:811-835.

24. Naas,T.;Lezzar,A.; Bentchouala,C.; Smati,F.;Scheftel,J. M.;Monteil,H.; and Nordmdnn, P. 2005. Multidrug resistant *Salmonella enterica* serotype senftenberg isolate producing CTX-M β-Lactemases fron Constantine , Algeria .Journal of Antimicrobial Chemotherapy . 10:1093.

25. Briggs,C.E.;and Fratamico,P.M. 1999. Molecular characterization of an antibiotic resistance gene clustr of *Salmonella typhimurium* DT-104. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 34(4):846-849.

26. Brien,O.; Hopkins, J.D Gilleece, E.S Medeiros ,A. AKent, R.L Blackburn , B. OHolmes, M.B Reardon, J.PVergeront , J.M Schell , W.L Christenson , E. Bissett, M.L and Morse E.V.1982. Molecular epidemiology of antibiotic resistance in *salmonella* from animals and human beings in the United States.the New England Journal of Medicine. 307(1):1-6.

high- level ceftriaxone resistance in a *Salmonella enterica serotype typhimurium* isolate. Medical Principles and Practice .15:145-148.

16. Rotimi,V.O.;Jamal,W.;Pal,T.;Sove nned,A. and Albert,M.J.2008. Emergence of CTX-15 type extended –spectrum β-Lactemase – producing *Salmonella spp*. In Kuwait and the united arab emirates. Journal of Medical Microbiology .57:881-886.

17. Chen,S.;Zhao,S.;White ,D.G.; Schroeder ,C. M.;Lu, R.;Yang,H. Mcdermott , P.F. ;Ayers, S. and Meng,J. 2004. Characterization of multiple- antimicrobial- resistant *Salmonella* cerovars isolated from retail meats.Applied and Environmental Microbiology. 70(1):1-7.

18. Brisabois, A.; Cazin, I.; Breuil, J.;and Collatz, E. 1997Surveillance of antibiotic resistance in *Salmonella***.** Eurosurveillance, 2(3): 1 81**.**

19. Daly,M. and Fanning ,S. 2000. Characterization and chromosomal mapping of antimicrobial resistance genes in *Salmonella enterica* serotype typhimurium. Applied and Environmental Microbiology. 66 (11) : 4842 - 4848.

20. Brooks,G.F.;Butel,J.S.;and Morse,S.A. 1998. Antimicrobial chemotherapy. In Medical Microbiology(21ed) typopress .

21. Holt,K.E. ; Thomson ,N.R.; Wain, G.; Phan, M.A.;N air, S.;Hassan,R.; Bhutta, Z.A.; Quail, M.A.; Norbertczak ,H.; Walker,D.; Dougan, G.; and Parkhill,J.2007. Multidrug resistant *Salmonella*

*Genetic study of Salmonella spp. Producting Betalatimase (*ESBLs*)*

R.A.ali al-kalidy* ***A. Al- kazaz**** ***M. Saad****

* Baghdad University/College of science Biotechnology Dept.

Abstract

Ten isolates were collected from different clinical sources from laboratory in medicine century . These isolates were belonging to the genus *Salmonella* depending on morphological and biochemical tests . The antibiotic scussptibility tests against 10 antibiotics were examined , and it was found that the 60% isolates have multiple resistant to antibiotic ,(70%) of isolates were resistant to ampicillin,(50%) were resistant to augmentin ,(40%) were resistant to ceftriaxone ,(20%) were resistant to cefotaxime and (10%) were resistant to ciprofloxacin and tetracycline while all isolates showed sensitivity to piperacillin, imipenem, amikacin and erythromycin .The ability of *Salmonela* isolates to produce β-lactamase enzymes were tested using iodometric method , and the results showed that all isolates produced this enzyme.The ability of these isolates to produce Extended-Spectrum β-lactamase (ESBLs)were also determined by double disc synergy test , only five isolates produced these enzyme. Agarose gel electrophoresis showed that *Salmonella* isolates β-lactamase producer have two small plasmid bands . Transformation experiments revealed that these plasmids were capable to transform *E. coli* MM294, an observation which indicates the ability of these plasmids to show their expression in more than one host.