



انتشار وتوزيع صفة المقاومة للمضادات الحيوية في عزلات بكتريا *Escherichia coli* المعزولة من مصادر مختلفة وإمكانية انتقال هذه الصفة

محمد امير عبدالله**

محسن ايوب عيسى*

*قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل **قسم الاحياء المجهرية / كلية طب نينوى / جامعة
نينوى

Mohammed_ameer16@yahoo.com

Drmuhsin68@yahoo.com

الملخص

تم في هذا البحث دراسة انتشار وتوزيع صفة المقاومة للمضادات الحيوية في عزلات بكتريا *Escherichia coli* المعزولة من مصادر مختلفة. حيث عزلت وشخصت ١٥ عزلة من بكتريا *E.coli* (خمس عزلات من بيئة المستشفيات وخمس عزلات من بيئة مياه المجاري وخمس عزلات من عينات مرضية) ، واعتمدت الاختبارات الشكلية والزرعية والكيموحيوية الملائمة في عزلها وتشخيصها .

أظهرت نتائج اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية تباينا واضحا في انتشار صفة المقاومة تجاه هذه المضادات سواء في عزلات المصدر الواحد أو ضمن مصادر العزل المختلفة لبكتريا *E.coli*. كما أن معظم العزلات أظهرت صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية وان صفة مقاومة المضادات Amoxicillin و Ampicillin و Erythromycin كانت الأكثر شيوعا بين العزلات المدروسة.

أظهرت نتائج تجارب الاقتران إمكانية حصول الاقتران البكتيري بين عزلة *E.coli* وبين سلالة السالمونيلا القياسية . فعند استخدام بكتريا *E.coli* كسلالة واهبة حصل الاقتران بتردد مقداره (٠.١١ × ١٠^{-٤}) ، وان مجموعة من صفات المقاومة للمضادات الحيوية قد انتقلت الى العزلات المقترنة.

الكلمات الدالة: المضادات الحيوية ، الاقتران البكتيري ، البلازميدات



The spread and the distribution of the characteristic of resisting the antibiotics in *Escherichia coli* isolated from various sources and the possibility of transfer this characteristic

Abdulah**

*Department of Biology /College of Science / University of Mousl

**Department of Microbiology /Nineveh College of Medicine /University of Nineveh

Mohammed_ameer16@yahoo.com Muhsin Ayoub Essa* Mohammed Ameer drmuhsin68@yahoo.com

Abstract:

In this paper to study the spread and the distribution of the characteristic of resisting the medications of the *Escherichia coli* isolated from various sources. Therefore, Fifteen bacterial isolates were isolated and diagnosed for the *E.coli* (five isolates from the hospitals, five isolates from the wastewater and five isolates from clinical samples). The culture characteristics and biochemistry tests was certified in isolating and diagnosing these isolates.

The results of the tests of sensitivity against the antibiotics showed a variation in the distribution and the spread of the resistance against these antibiotics whether in the isolates from one source or within the different isolates sources for both the *E.coli*. Moreover, most of the isolates showed the multiple resistance against the antibiotics and the feature of resisting the Amoxicillin, Ampicillin and Erythromycin antibiotics was the most common amongst the isolates studies.

The results of the conjugation experiments showed that the bacterial conjugation it is possible to take place between the *E. coli* isolate and the



standard Salmonella strain. When using the *E. coli* as a donor strain the conjugation took place with a frequency of (0.11×10^{-4}) , and that the group of resistance against the antibiotics transferred to the conjugative isolate

Key Words: antibiotics, Bacterial conjugation, Plasmids

المقدمة

تعد المقاومة العلاجية في الجراثيم من المشاكل الكبيرة والهامة التي تواجهها مجتمعاتنا. إذ أن الاستعمال الواسع العشوائي، وغير المنتظم أحيانا للمضادات الحيوية في الطب البشري والبيطري وغيرها من الاستخدامات أدى إلى تطور وانتشار صفة المقاومة ليس فقط في عزلات الإنسان والحيوان ولكن أيضا في البيئة [١]. وقد تكون مقاومة العلاجات الطبيعية (جوهريّة) أو مكتسبة وتعتمد المقاومة الطبيعية على الفسلجة الطبيعية والخواص الوراثية للبكتريا أو على التركيب الكيميائي للمضاد والية عمله [٢]. بينما تظهر المقاومة المكتسبة للمضادات الحيوية إما



بسبب طفرات وراثية تؤدي لظهور جينات مقاومة للمضادات وتنتقل عبر الأجيال والسلالات من نفس النوع أو بين أنواع مختلفة ضمن نفس العائلة أو عن طريق اكتساب جينات المقاومة من بكتريا إلى أخرى [٣].

إن العديد من جينات المقاومة تقع على الكروموسوم البكتيري أو على البلازميدات أو العناصر القافزة أو الانتكرون وتلعب البلازميدات الدور الأهم في النقل الأفقي لجينات المقاومة فالبلازميد قد يحوي عددا من الجينات تشفر للمقاومة المتعددة للمضادات [٤]. و البلازميدات قطع حلقيّة مزدوجة من الـ DNA خارج كروموسومية لها القدرة على التضاعف بشكل مستقل عن كروموسوم الخلية المضيفة وتشفر لمدى واسع من الوظائف كإنتاج الـذيفانات الخارجية والمقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة [٥].

نقل الجين الأفقي يساهم في ظهور وتطور السلالات البكتيرية الضارية والمقاومة للمضادات الحيوية عن طريق عناصر وراثية متحركة مثل البلازميدات والعناصر القافزة والتي تنتقل عن طريق الآليات الرئيسية للنقل الأفقي والتي تشمل الاقتران البكتيري والتحول الوراثي والتوصيل والتي تساهم بمدى كبير في تطوير الجراثيم المقاومة ونشر جينات المقاومة ، ويعد الاقتران المسار الرئيس لانتقال المورثات أفقيا بين الجراثيم وان البلازميدات الاقترانية تقوم بنقل مورثات المقاومة [٦,٧].

تعد صفة مقاومة المضادات الحيوية وبشكل خاص بين أفراد البكتريا المعوية تشكل تهديدا على الصحة العامة ،خصوصا في الدول النامية ، إذ أن أفراد العائلة المعوية تتوزع حول العالم وتوجد في بيئات ومضاييف متنوعة مثل الماء والتربة والنباتات والإنسان والحيوانات وتسبب إصابات خطيرة للإنسان [٨].

المواد وطرائق العمل

العزل والتشخيص

جمعت (٥٠) عينة من مصادر مختلفة ، (شملت 15 عينة خروج من أشخاص مصابين بحالات إسهال و15 عينة من مياه المجاري فضلا عن 20 عينة من بيئة المستشفيات). شخصت بكتريا *E. coli* باستخدام الاختبارات الشكلية والزرعية والكيموحياتية ، واستنادا إلى أنظمة التشخيص المعتمدة [٩,١٠,١١].



أخضعت جميع العزلات البكتيرية لفحص الحساسية لمضادات الحياة وتم خلالها استعمال عشرة أنواع من المضادات لدراسة تأثيرها على نمو البكتريا المعزولة وتم تحديد حساسية أو مقاومة هذه العزلات للمضادات بالاعتماد على قياس قطر تثبيط النمو بالملم حول الأقراص المستعملة ، ولغرض إجراء الاختبار اعتمدت طريقة [١٢] المحورة . واستخدمت المضادات الحيوية Tetracycline(TE)10, Ciprofloxacin(CIP)10 ,Nalidixacid(NA)30, الحيوية Trimethprim(TMP)25 ، Amoxicillin(AX)25 ، Cefataxime(CTX)10 و Gentamycin(CN)10،Ampicilin(AMP)25 ,Erythromycin(E)30 و Amikacin(AK)30.

وحضر وسط المضادات الحيوية عن طريق اذابة المضاد Amoxicillin بتركيز خزين (٢٥ ملغم/مل) في الماء المقطر المعقم في درجة حرارة ٤م ، ثم اضيف الى وسط الاكار المغذي المعقم المبرد الى درجة (٤٥-٥٠) م و بتركيز نهائي مايكروغرام/مل [١٣].

الاقتران البكتيري

استخدمت طريقة الاقتران البكتيري حسب طريقة الباحث [١٤]، اذ تم إجراء عملية الاقتران بين سلالة *E.coli* المعزولة من عينات مرضية والتي تمثل خلايا واهبة (Donor cells) المقاومة لعدد من المضادات الحيوية وسلالة قياسية من *Salmonella typhimurium* التي تم الحصول عليها من بنك السلالات/قسم التقانات الحياتية/كلية العلوم/جامعة النهرين، والتي تمثل خلايا مستلمة (Recipient cells) والتي تكون حساسة لكل المضادات المستخدمة .

النتائج والمناقشة

تم الحصول على خمسة عزلات مشخصة من بكتريا *Escherichia coli* ولكل مصدر عزل . حيث تميزت عزلات بكتريا *E.coli* بكونها عصوية قصيرة سالبة لصبغة كرام غير مكونة للابواغ ، ذات مستعمرات ملساء وذات لون وردي مخمرة للاكتوز على وسط اكار الماكونكي MacConkey Agar، في حين تميزت هذه المستعمرات بلون اسود ذات بريق



معدني اخضر على وسط أكار الايوسين المثلين الأزرق (EMB)Eosin Methylene Blue Agar ، واعتمدت الفحوصات الكيموحيوية في التشخيص حيث كانت موجبة لفحص الاندول والمثيل الأحمر وسالبة لفحص الفوكس بروسكر والسترات في اختبارات IMVIC في حين كانت موجبة للكتاليز ،سالبة للاوكسديز ، متحركة ، غير منتجة لليوريز وغير محللة

المضادات الحيوية	مصدر العزل	ت
------------------	------------	---

للجيلتين [٩,١٠,١١].

يوضح الجدول (١) نتائج فحص الحساسية للمضادات الحيوية المدروسة لعزلات بكتريا *E.coli* المعزولة من مصادر مختلفة إذ يلاحظ تباين واضح في نمط حساسية أو مقاومة العزلات المعزولة من مصدر واحد أو مصادر العزل المختلفة مما يعكس تنوعا كبيرا في توزيع صفة المقاومة للمضادات في هذه العزلات .

الجدول (١): نتائج فحوصات الحساسية لعزلات بكتريا *E.coli* تجاه المضادات الحيوية المدروسة.

Sensitive = S (حساسة) **Resistance = R (مقاومة)**

Web Site: www.kujss.com Email: kirkukjournsci@yahoo.com,
kirkukjournsci@gmail.com



CTX	AK	NA	CN	AM	CIP	Ery	TMP	AX	TE		
S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	بيئة المستشفيات	١
S	S	S	S	R	S	R	R	R	S		٢
S	R	S	R	S	S	R	S	R	S		٣
S	S	S	R	R	S	S	R	R	S		٤
S	S	S	S	R	S	R	R	R	S		٥
٠	٢٠	٠	٤٠	٨٠	٠	٦٠	٨٠	١٠٠	٠	% للمقاومة المنفردة	
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%		
R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	عينات المرضى	٦
S	S	R	R	R	S	R	R	R	S		٧
S	R	S	S	R	S	R	R	R	S		٨
S	S	R	S	R	S	R	S	R	S		٩
S	R	S	S	R	S	R	S	R	R		١٠
٢٠	٦٠	٦٠	٤٠	١٠٠	٠	١٠٠	٤٠	١٠٠	٢٠	% للمقاومة المنفردة	
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%		
R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	مياه الصرف الصحي	١١
S	S	R	S	R	S	R	S	R	R		١٢
R	R	S	S	R	S	R	R	R	S		١٣
S	R	S	S	R	S	R	S	R	S		١٤
S	S	S	R	R	S	R	R	S	R		١٥
٤٠	٤٠	٤٠	٢٠	١٠٠	٠	١٠٠	٤٠	٨٠	٤٠	% للمقاومة المنفردة	
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%		
٢٠	٤٠	٣٣.٣	٣٣.٣	٩٣.٣	٠	٨٦.٦	٥٣.٣	٩٣.٣	٢٠	% للمقاومة المنفردة الكلية	
%	%	%	%	%	%	%	%	%	%		

إن وجود نسب مقاومة عالية في البكتريا المعزولة وضد عدد كبير من المضادات الحيوية قد يعود إلى الاستعمال العشوائي وغير المسيطر عليه في الإنسان والطب البيطري والزراعة الذي كان له تأثيرا في ظهور الجراثيم المقاومة للمضادات ونشر محددات مقاومة المضادات في المجتمعات البكتيرية ، وتعد صفة مقاومة المضادات من المشاكل الخطيرة من الناحية الطبية لما تسببه من صعوبة في العلاج. وإن الاستعمال الشامل للمضادات في إنتاج الغذاء الحيواني أدى إلى إنتاج مخزن للبكتريا المتعايشة والممرضة المقاومة للعلاج في القناة المعوية للحيوانات والتي يمكن أن تنتقل إلى الإنسان عن طريق السلسلة الغذائية [١٦, ١٥].



بالنسبة لنمط المقاومة المنفردة الذي يمثل مقاومة العزلات المختلفة للمضاد الواحد ، يلاحظ من خلال الجدول (١) الذي يوضح المقاومة المنفردة للمضادات المدروسة في حالة عزلات بيئة المستشفى لبكتريا *E. coli* ، إن جميع عزلات *E. coli* كانت حساسة بشكل مطلق (١٠٠%) للمضادات الحيوية Tetracycline و Ciprofloxacin و Nalidixacid و Cefataxime ، بينما كانت مقاومة بشكل مطلق (١٠٠%) للمضاد الحيوي Amoxicillin ، وتباين نمط مقاومتها للمضادات الأخرى حيث أظهرت مقاومة عالية بنسبة ٨٠% للمضادين Ampicilin و Trimethprim ، أما مضادات Erythromycin و Gentamycin و Amikacin فكانت نسبة مقاومتها ٦٠% و ٤٠% و ٢٠% على التوالي. إن التطابق في صفة المقاومة المنفردة المطلقة تجاه مضاد معين في عزلات المصدر الواحد وفي هذه الحالة بيئة المستشفى ، قد يعكس التشابه في توزيع هذه الصفة ضمن هذه البيئة وقد يستفاد منها لأغراض تشخيصية في ما يسمى بالتنميط بالمقاومة Resistotyping لغرض التحري عن السلالات المسببة للموجات الوبائية لبعض الأمراض والتحري عن مصادرها.

أظهرت بكتريا *E. coli* المعزولة من بيئة المستشفيات مقاومة متعددة للعلاج ، إذ أن الإصابة الأولية بسبب البكتريا المقاومة للمضادات الحيوية تحدث بشكل رئيس في أماكن المستشفيات حيث المضادات تستعمل بشكل واسع جدا ، وهذه البكتريا تحمل جينات مقاومة المضادات والتي تساعد في البقاء وتسهل نشر البكتريا [١٧] .

يلعب الانتخاب دورا مهما بظهور سلالات بكتيرية مقاومة للمضادات الحيوية في المستشفيات ، حيث أن المضادات تلعب دورا مهما بوصفها عامل انتخاب الذي يغير الفلورا الطبيعية في بيئة المستشفى والتي تؤدي إلى انتشار المقاومة بين السلالات البكتيرية ، ان وجود البكتريا المعوية في بيئة المستشفيات يمكن أن تسبب إصابات خاصة بالمستشفيات ، إذ تساعد هذه البيئة على استملاك المقاومة ضد المضادات الحيوية وبذلك تتعقد الإصابة بسبب البكتريا المقاومة للعلاج [١٨] .

بالعودة الى الجدول (١) يلاحظ أن نمط المقاومة المنفردة لعزلات بيئة المستشفيات قد تباين مع العزلات المرضية وعزلات مياه المجاري ، فبالنسبة للمضاد الحيوي Tetracycline نجد إن نسبة مقاومته كانت (٢٠%) في العزلات المرضية لبكتريا *E. coli* وكانت نسبة المقاومة لهذا المضاد في عزلات مياه المجاري لبكتريا *E. coli* هي (٤٠%) في حين لم تبد



بكتريا *E.coli* المعزولة من بيئة المستشفيات اي مقاومة تجاه هذا المضاد ، كما قيا بين نسبة المقاومة فيما يتعلق بالمضادات الأخرى . وهذا الأمر يعكس التباين في توزيع صفة المقاومة لهذه المضادات باختلاف مصدر العزل .

معدة الإنسان هي بيئة طبيعية لمجتمعات بكتيرية كبيرة والتي لها تأثير على الصحة العامة [١٩] ، وإن استخدام المضادات الحيوية تكون عديمة الفائدة لعلاج الأمراض التي تسببها الفيروسات والتي تشمل نزلات البرد والأنفلونزا والعديد من الإصابات الأخرى للجهاز التنفسي العلوي ، بعض إصابات الأذن والجيوب الأنفية لا تسبب عن طريق البكتريا ولكن عن طريق الفيروسات ، يعتبر استعمال المضادات لعلاج الالتهابات الفيروسية له تأثير ضار أكثر مما هو نافع لأنها تشجع على تطوير المقاومة ويمكن أن تخل بالتوازن الجرثومي في القناة المعدية المعوية [٢٠].

إن التنوع الضخم لجينات مقاومة المضادات في جراثيم امعاء الإنسان يقترح بان البكتريا المقاومة للمضادات في GIT تعمل بوصفها خزاناً لجينات مقاومة المضادات الحيوية، حيث أثبتت دراسة الباحث [٢١] بان معدة الإنسان يمكن أن تعد مصدراً مهماً لجينات مقاومة المضادات حتى في حالة عدم التعرض المسبق للمضادات. إذ عندما تدخل سلالات بكتيرية مرضية إلى امعاء الإنسان عن طريق الغذاء والماء الملوثين ، يحدث تفاعل مع جراثيم امعاء الإنسان ونقل الجين قد يحدث ، آليات نقل الجين الأفقي قد تساهم في نقل جينات مقاومة المضادات إلى البكتريا المتعايشة الموجودة في GIT الإنسان [٢٢]. إن وجود العدد الكبير من جينات المقاومة القابلة للنقل بين جراثيم الأمعاء تكون غير مرغوبة ، بسبب الخطر المحتمل لانتقال الجينات التي تشفر مقاومة المضادات من البكتريا المتعايشة الموجودة في GIT إلى البكتريا المرضية والتي تسبب لاحقاً فشل العلاج بالمضادات [٢٣].

يعتبر وجود المضادات الحيوية في مياه المجاري يمكن أن تؤدي إلى ظهور بكتريا مقاومة للمضادات الحيوية من خلال الضغط الانتخابي [٢٤] ، حيث أن المضادات الحيوية لا تؤيض بشكل كامل في جسم الإنسان أو الحيوان الذي عولج بالمضادات ، حيث إن ٣٠% و ٩٠% من الجرعة التي تعطى للإنسان والحيوان تطرح مع البول والخروج كمواد فعالة ، مركبات المضادات الفعالة تدخل مياه المجاري من خلال فضلات الإنسان أو الحيوان وتعمل كعامل انتخابي يسمح بنمو البكتريا المقاومة وتنشط البكتريا الحساسة [٢٥] ، كذلك آليات نقل الجين



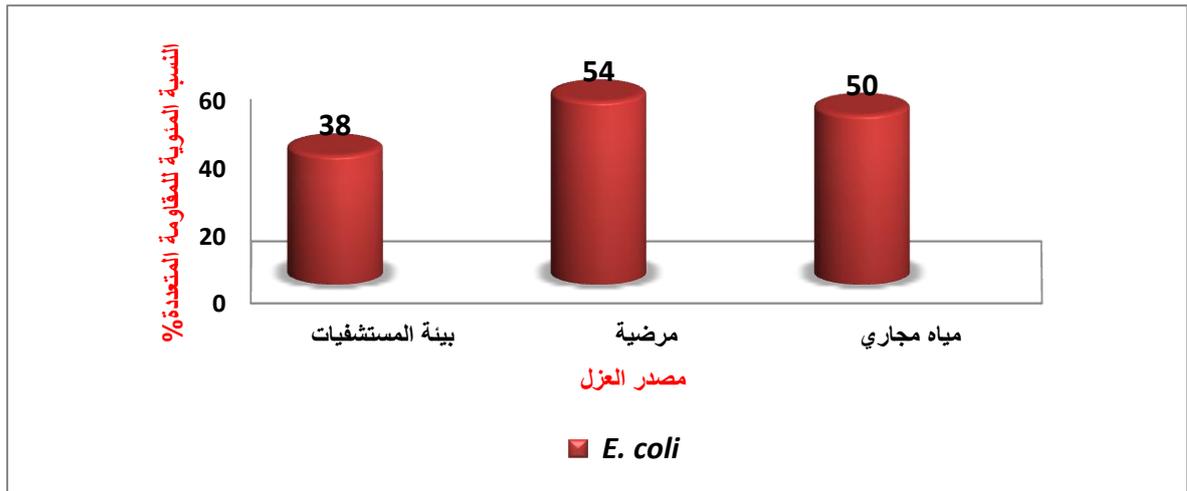
الأفقي تسمح بوفرة وتنوع عالي للبكتريا المقاومة للمضادات الحيوية في البيئات المائية التي تتعرض إلى تلوث متكرر بالبكتريا المقاومة للمضادات الحيوية أو مركبات المضادات [٤]، مثل هذه البيئات تعد خزانا أو حاضنات للبكتريا المقاومة للمضادات الحيوية ، لذا تعد مياه المجاري مستلما رئيسا للبكتريا المقاومة للعلاج المتعدد وموقع مهم لنقل الجين لتوفر المواد الغذائية والتجمعات العالية للبكتريا [٢٦].

بالعودة الى الجدول (١) وملاحظة نسبة المقاومة المتعددة وانتشارها بين عزلات بكتريا *E.coli* المدروسة من المصادر المختلفة، لوحظ إن جميع هذه العزلات امتلكت صفة المقاومة المتعددة للمضادات وان الاختلاف كان في عدد المضادات ونوعها. حيث أظهرت عزلات *E.coli* نسبة مقاومة عالية، وهذا قد يعود إلى أن بكتريا *E.coli* تتواجد بكثرة في أمعاء الإنسان وحيوانات ذوات الدم الحار ولها القدرة على التأقلم مع درجات الحرارة وقيم PH المختلفة وتمتاز بجينوم معروف بمرونته وقدرته على التطور باستمرار من قبل الطفرات والاقتران والتوصيل هذه الخصائص منحت البكتريا ألفة عالية تمكنها من مقاومة الظروف الصعبة والازدهار في بيئات مختلفة [٢٧].

إن المستويات المختلفة للمقاومة المتعددة قد تنسب إلى تشكيلة من العوامل منها اختلاف مصدر ونوع العينة والظروف البيئية والتعرض المسبق للمضادات ،وقد يؤدي تعرض العزلات البكتيرية إلى تشكيلة متنوعة من المضادات وضغط انتخابي عالٍ وكذلك فرص حصول آليات نقل الجين الأفقي لجينات مقاومة المضادات عالية وهذا قد يفسر زيادة انتشار البكتريا ذات المقاومة المتعددة ، حيث إن هذا النوع من البكتريا أكثر تكيفا ومقاومة من نظائهم غير المقاومين لذا تكون قادرة على البقاء تحت الظروف القاسية [٢٨,٢٩]. وان سبب المقاومة المتعددة قد تكون ناشئة من الطفرات التلقائية أو عن طريق انتقال بلازميدات أو جينات قافزة أو انتكرون والتي لها أهمية كبيرة في نشر المقاومة التي قد تنتقل من كروموسوم إلى بلازميد وهذا قد يفسر انتقال بعض الأنزيمات الكروموسومية المسؤولة عن مقاومة المضادات إلى البلازميدات وبالتالي نشرها بين الأنواع الجرثومية عن طريق آليات نقل الجين الأفقي التي تشمل الاقتران البكتيري والتحول الوراثي والتوصيل [٣٠].

وأظهرت النتائج إن عزلات بكتريا *E.coli* المعزولة من حالات مرضية ومياه مجاري كانت نسبة مقاومتها المتعددة عالية حيث كانت ٥٤% و ٥٠% على التوالي، في حين كانت نسبة

المقاومة المتعددة لعزلات *E.coli* المعزولة من بيئة المستشفيات ٣٨% شكل (١) وهذا قد يعود إلى تعرض *E.coli* المرضية إلى تشكيلة متنوعة من العلاجات وضغط انتخابي عالي وكذلك فرص حصول آليات نقل الجين الأفقي لجينات مقاومة المضادات عالية مع البكتريا المتعايشة ضمن القناة المعوية للإنسان والتي تطرح إلى مياه المجاري .



الشكل (١) النسب المئوية للمقاومة المتعددة لعزلات بكتريا *E.coli* تجاه عدد من المضادات الحيوية المدروسة.

الاقتران البكتيري

أجري الاقتران بين عزلة *E.coli* وسلالة السالمونيلا القياسية وذلك لاختبار قابلية العزلات البكتيرية على نقل مادتها الوراثية إلى السلالة المستلمة فضلا عن تبيان الدور الذي تلعبه البلازميدات وخصوصا الاقترانية منها في نقل صفة المقاومة للمضادات الحيوية ، كما



أجريت الاختبارات الشكلية والزرعية والكيموحياتية على المستعمرات المقترنة بعد التنقية وتبين إنها تعود إلى سلالة السالمونيلا القياسية.

يوضح الجدول (٢) إمكانية حصول الاقتران البكتيري بين عزلة *E.coli* وبين سلالة السالمونيلا القياسية، إذ تبين بان العزلة الواهبة *E.coli* استطاعت أن تنقل صفة المقاومة للمضاد الحيوي Amoxicillin إلى سلالة السالمونيلا بعد أن كانت الأخيرة حساسة لهذا المضاد وبتردد اقتران (٠.١١ × ١٠^{-٤}) وللتأكد من إن عملية الاقتران البكتيري بين *E.coli* و *S.typhimurium* قد تضمنت انتقال مقاومة لمضادات أخرى تم إجراء فحص الحساسية للمضادات الحيوية للمستعمرات المقترنة.

الجدول (٢) : الاقتران البكتيري للعزلات البكتيرية مع السلالة القياسية .

السلالة الواهبة	السلالة المستلمة	عدد المستعمرات المقترنة بعد التنقية	تردد الاقتران
<i>E.coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	٩	٠.١١ × ١٠ ^{-٤}

وقد يرجع حصول الاقتران إلى توفر الشروط المطلوبة لحدوثه ومنها التماس بين البكتريا الواهبة والمستلمة وتكوين جسر سايتوبلازمي بينها وكذلك وجود مايسمى (mobgene) في البلازميد والذي يشفر بروتين يمكن أن يقطع احد شريطي الـDNA البلازميدي في تسلسل (bom) على نفس الجزيئة وبذلك ينتقل شريط الـDNA البلازميدي المقطوع من الخلية الواهبة إلى الخلية المستلمة [٣١] .

وتعد عملية الاقتران البكتيري الطريقة الأسهل والأكثر شيوعا لاستملاك جينات مقاومة المضادات التي في اغلب الأحيان ترتبط بالبلازميدات والعناصر القافزة والانتكروونات ، وتلعب بلازميدات المقاومة R-plasmids الدور الأهم لنشر المقاومة بين الجراثيم [٣٢] . إن ثبوت الصفات الجديدة في المستعمرات المقترنة بعد عملية التنقية يشير إلى أن هذه البلازميدات هي بلازميدات متوافقة تستطيع أن تتواجد سوية في نفس الخلية وهذا يتفق مع ما توصل إليه الباحثين



[٣٣] إذ بينا إن سبب ظهور الصفات الجديدة في المستعمرات المقترنة وعدم فقدانها بعد عمليات التنقية يعود إلى صفة التوافق بين هذه البلازميدات .

إن وجود مقاومة المضاد الحيوي Amoxicillin بين العزلات البكتيرية دليل على قابلية نقل جينات مقاومة المضاد بين الأنواع والأجناس البكتيرية تحت الظروف المناسبة . والنقل الاقتراني لبلازميدات المقاومة يمكن أن يحدث داخل الجسم *invivo* وإمكانية نقله إلى الجراثيم المعوية والجراثيم المرضية الأخرى [٣٤] .

يتبين من الجدول (٣) إن عزلة *E.coli* الواهبة تمتلك بلازميدات تحمل جينات تشفر صفة المقاومة للمضادات الحيوية Amoxicillin و Ampicillin و Erythromycin و Gentamycin و Nalidixic acid و Cefotaxime وان هذه البلازميدات لها القابلية على الحركة والانتقال وقد تكون من نوع البلازميدات الاقترانية ، وإن مقاومة المضاد الحيوي Amikacin التي لم تنتقل إلى سلالة السالمونيلا القياسية من المحتمل إن جيناتها تقع على بلازميدات غير اقترانية أو تقع على الكروموسوم.

الجدول (٣) : انتقال مقاومة المضادات بين بكتريا *E.coli* مع السلالة القياسية .

CTX	AK	NA	CN	Ery	CIP	AM	TMP	AX	TE	العزلة
R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	<i>E.coli</i>
S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	<i>S. typhimurium</i>
R	S	R	R	R	S	R	S	R	S	<i>M.E.coli</i>

الاستنتاج : هنالك تباين واضح في نمط حساسية أو مقاومة عزلات *E.coli* المعزولة من مصدر واحد أو مصادر العزل المختلفة مما يعكس تنوعا كبيرا في توزيع صفة المقاومة للمضادات في هذه العزلات . وامكانية انتقال مجموعة من صفات المقاومة للمضادات الحيوية من بكتريا مقاومة الى بكتريا حساسة نتيجة الاقتران البكتيري، والتي سوف تؤثر على المجتمع البكتيري وتشكل تهديدا وخطرا على الصحة العامة.



المصادر

[١] L.Tollefson,W.T.Flynn,M.L.Headrick , Regulatory activities of the U.S. Food and Drug Administration designed to control antimicrobial resistance in foodborne pathogens, in microbial food safety in animal agriculture: current topics (eds M. E. Torrence and R. E. Isaacson),(2008), Blackwell Publishing, Oxford, UK.

[٢] H.Yoneyama and R.Katsumata , Antibiotic resistance in bacteria and its future for novel antibiotic development, Bioscience Biotechnology and Biochemistry,70,(2006),pp.(1060-1075).

[٣] S.Rachakonda and L.Cartee , Challenges in antimicrobial drug discovery and the potential of nucleoside antibiotics, Current Medical Chemistry journal, 11,(2004),pp.(775-793).

[٤] F.Baquero,J.L.Martinez and R.Canton. Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. Current Opinion in Biotechnology Science,19(2008): 260-265.

[٥] M.J.Barnett,R.F.Fisher,T.Jones,C.Komp,A.P.Abola,F.Barloy-Hubler,L.Bowser, D.Capela,F.Galibert,J.Gouzy,M.Gurjal,A.Hong,L.Huizar,RW.Hyman,ML.Kahn,S.Kalman,DH.Keating,C.Palm,MC.Peck,R.Surzycki,DH.Wells,KC.Yeh,RW.Davis,NA.Federspiel and SR.Long, Nucleotide sequence and predicted functions of the entire *Sinorhizobium meliloti* pSymA megaplasmid,Proceeding of the National Academy of Science, USA ,98,(2001),pp.(9883 –9888).



- [١] L.S.Frost,R.Leplae,A.O.Summers and A.Toussaint , Mobile genetic elements: the agents of open source evolution ,National Review Microbiology, 3,(2005),pp.(722- 732).
- [٢] A.Carattoli ,"Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae" , Antimicrobial Agents Chemotherapy, 53 (6),(2009),pp.(2227-2238).
- [٣]P.Andres,A.Petroni,D.Faccone,F.Pasterán,R.Melano,M.Rapoport,M.Martínez,C.Culasso,A.Di Bella,B.Irigoyen,J.Mulki,A.Procopio,M. von Specht,M.Galas , Extended-spectrum β -lactamases in *Shigella flexneri* from Argentina: first report of TOHO-1 outside Japan, International Journal Antimicrobial Agents, 25,(2005),pp.(501-507).
- [٤] J.G.Collee,A.G.Fraser,B.P.Marmion and A.Simmons, Mackie and McCartney Partial Medical Microbiology, 14th.Ed.,(1996), Churchill Living Stone Inc., New York.
- [٥] E.W.Koneman,S.P.Allen and W.C.Janda, Color Atlas and Text Book of Diagnostic Microbiology, 6th.ed.,(2006), Lippincott-Williams& Wilkins publishers, Philadelphia, USA.
- [٦] G.F.Brooks,J.S.Butel,N.Ornston,E. Jawetz, J.L. Melnick and E.A.Adelberg,Jawetz, Melnick and Adelberg's MedicalMicrobiology, 25th ed,(2010), Appleton & Lange, McGraw- Hill.
- [٧] AW.Bauer, M.M.Kirby,J.C.Sherris,M.Turck, Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method,American JournalClinicalPathology,45(4),(1966),pp.(493-496).
- [٨] A.Puhler and N.K.Timmis , Advanced in Molecular genetics ,(1984),Springer-Verlarn,New York.



[١٤] N.Data and ZM.E.Nugent, Characterization of plasmid in wild strains of Bacteria, in :Puhler, A. and Timmis, .N.(eds),(1984), Advanced in Molecular genetics, Springer-Verlag, New York.

[١٥] S.Mansouri and S. Shareifi , Antimicrobial resistance pattern of *Escherichia coli* causing UTLs: and that of human fecal flora in the southeast of Iran, Microbial drug resistance, 8,(2002),pp.(123-128).

[١٦] H-T.Cheong, W-Y. Ho, Q-C.Choo and C-H.Chew , β -lactamase gene *blaSHV* detected in bacteria isolated from retail sushi in Kampar, Malaysia, Biomedical Research, 25 (1),(2014),pp.(25-31).

[١٧] S.Dzidic and V.Bedekovic , Horizontal gene transfer emerging multidrug resistance in hospital bacteria, Acta Pharmacological Sinica Journal, 24(6),(2003),pp.(519-526).

[١٨] G.H.Karam , Understanding trends in antibiotic resistance : focus on the hospital environmental Advanced Student Medical Journal, 4(4),(2004),pp.(262-268).

[١٩] A.Spor, O.Koren and R.Ley , Unravelling the effects of the environment and host genotype on the gut microbiome. National Review Microbiology , 9 , (2011) , pp .(279-290).

[٢٠] S.Prasad and Ph.Smith , Meeting the threat of antibiotic resistance :building a new frontline defense ,(2013), office of the chief scientist, Australia.

[٢١] F.Fouhy, R.Paul Ross , G.F.Fitzgerald, C.Stanton and D.Paul; P.D. Cotter , A degenerate PCR-based strategy as a means of identifying homologues of aminoglycoside and β -lactam resistance genes in the gut microbiota, BMC Microbiology, 14,(2014),pp.(25).



[٢٢] M.SalimAmmor,A.BelenFlorezand B.Mayo ,Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria, Food Microbiology, 24,(2007),pp.(559-570).

[٢٣] TR.Lichtand A.Wilcks,Conjugative Gene Transfer in the Gastrointestinal Environment ,Advance Application Microbiology,58,(2005),pp.(77-95).

[٢٤] A.Alonso,P.Sánchez and J.L.Martinez , Environmental selection of antibiotic resistance genes, Environmental Microbiology, 3,(2001),pp.(1–9).

[٢٥] F.Matyar , Antibiotic and Heavy Metal Resistance in Bacteria Isolated from the Eastern Mediterranean Sea Coast, Bull, Environmental Contamination Toxicology, 89,(2012),pp.(551–556).

[٢٦] X.Vilanova,A.Manero,M.Cerdà-Cuéllarand A.R.Blanch , (2004). The composition and persistence of faecal coliforms and enterococcal populations in sewage treatment plants. Journal Application Microbiology, 96(2),(2004),pp.(279-288).

[٢٧] R.I.Aminov , Horizontal gene exchange in environmental microbiota, Frontiers in Microbiology, 2,(2011),pp.(1-19).

[٢٨] P.McGee , The relationship between antibiotic resistance and acid tolerance of *E. coli* O157:H7. *Escherichia coli* O157:H7 in cattle production systems a food safety perspective, PhD Thesis, University College Dublin,(2003), pp.(59–72).

[٢٩] C.Walsh,D.Duffy,J.J.Sheridan,S.Fanning,I.S.Blairand D.A.McDowell , Thermal resistance of antibiotic resistant and antibiotic sensitive *Salmonella spp.* on chicken meat, Journal Food Safety, 25,(2005),pp.(288–302).



- [٣٠] S.A.Selim and N.I.Hagag , Analysis of plasmids and Restriction Fragment Length Polymorphisms of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Hospitals - AL Jouf Region - KSA, World Academy of Science, Engineering and Technology,78,(2013),pp.(152-157).
- [٣١] A.Puhler and N.K.Timmis , Advanced in Molecular genetics,(1984) ,Springer-Verlag,New York.
- [٣٢] S.C.Yah,N.O.Eghafona and J.C.Forbi , Plasmid borne antibiotics resistance markers of *Serratia marcescens*: an increased prevalence in HIV/AIDS patients, Science Research Essay , 3 (1),(2008),pp.(28–34).
- [٣٣] F.Schofft and A.Puhler , the plasmid system of *Escherichia coli* strain UR12644,Genetic Research cambridge,34,(1979),pp.(287).
- [٣٤] M.Wang,M.F.Sahm, G.A. Jacoby and D.C.Hooper , Emerging plasmid mediated quinolones resistance associated with the *qnr* gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States, Antimicrobial Agents Chemotherapy, 48 (4),(2004),pp.(1295 – 1299).