



عزل وتشخيص بكتريا منتجة للمضادات الحيوية من ترب مدينة الرمادي

مثنى حامد حسن

كلية العلوم / جامعة الأنبار

الخلاصة:

تضمنت الدراسة انتخاب عزلتين من البكتريا المحلية الأكفاء من بين سبعة عزلات تم عزلها من تربة مدينة الرمادي من خلال جمع ٢٠ نموذج تربة من ٦ مواقع مختلفة ، على أساس امتلاكها لفعالية تثبيطية ذات طيف واسع تجاه بكتريا الاختبار وتم تشخيصها باستخدام العديد من الاختبارات المظهرية وبايوكيميائية حيث تم تشخيص العزلتين على إنهما *Bacillus subtilius* وأعطيت الرمز M1 و *Bacillus polymyxa* وأعطيت الرمز M3 حيث امتلكتا فعالية تثبيطية عالية ضد *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa* وكانت بحدود ٢٣ - ٣٠ ملم وأقل منها ضد *Escherichia coli* ، *Klebsiella ssp* وتميزت العزلة M1 بفعالية تثبيطية أكبر كذلك درس تأثير درجات الحرارة على نمو العزلتين M1 ، M3 وتبين بأنهما تتماوان بشكل جيد في الدرجة الحرارية ٤٠ و ٤٥ م° وان العزلة M1 تستطيع النمو في درجة حرارة ٥٠ م° أما عند الدرجات الحرارية المنخفضة فلم تستطيع كلا العزلتين المنتخبتين من النمو في درجة حرارة ٥ م° ودرس تأثير الملوحة على نمو العزلتين وتبين بأنها تتماوان بشكل جيد في التركيز ٣% NaCl أما في التركيز ٧% فقط استطاعت العزلة M1 من النمو وتحمل هذا التركيز في حين لم تستطيع كلا العزلتين من النمو في التركيز ١٠% من كلوريد الصوديوم.

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: ٢٠٠٨/٤/١٠
تاريخ القبول: ٢٠٠٨/٩/١٥
تاريخ النشر: ٢٠١٢ / ٦/١٤

DOI: 10.37652/juaps.2008.15547

الكلمات المفتاحية:

عزل ،
تشخيص بكتريا ،
مضادات الحيوية ،
الرمادي.

المقدمة

اعتمد الإنسان منذ القدم على طرائق العلاج البدائي اذ استخدم المواد بشكلها الخام مثل المواد النباتية أو الحيوانية والتي يكون لها تأثير على الأحياء المجهرية الممرضة، فقد استخدم الاغريقيون الراتنجات النباتية وأملاح معدنية مختلفة لعلاج بعض الأمراض الشائعة، كما استخدم الصينيون فول الصويا لعلاج البثور والدمامل وغيرها من الإصابات (١).

اشتق مصطلح مضاد الحيوية (Antibiotic) من مصطلح

التضاد الحيوي (Antibiosis) الذي استعمله لأول مرة العالم

Vuillemin في عام 1889 (٢). تنتشر الاحياء المجهرية المنتجة

للمضادات الحيوية بصورة واسعة في الطبيعة حيث وجدت في التربة والماء وبقايا النباتات والحيوانات المتفسخة وتعتبر التربة المصدر الرئيسي لعزل الكثير منها لذلك اتجه الكثير من الباحثين الى التربة لغرض الحصول على سلالات من الاحياء المجهرية منتجة لمضادات حيوية جديدة (٣). ظهرت ادلة علمية على كفاءة الاحياء العلاجية في التأثير وأنها شملت انواع عديدة من جنس العصيات وانواعا من البكتيريا الاخرى (٤).

لقد استعمل مصطلح مضادات الحيوية (Antibiotics)

لاول مرة عام 1942 من قبل العالم Waksman الذي استطاع

تعريف مضادات الحيوية على أنها مواد أيضا تنتجها الأحياء المجهرية

* Corresponding author at: College of Science / University of Anbar, Iraq;
E-mail address: Muthanna_477_aliraqi@yahoo.com

Staphylococcus aureus
Pseudomonas aeruginosa
Salmonella typhi
Klebsiella ssp
Escherichia coli
Proteus mirabilis

من مستشفى النسائية والأطفال ومستشفى الرمادي العام في مدينة الرمادي/ محافظة الانبار، وتم إجراء التشخيص لها عن طريق عمل بعض الفحوصات المظهرية والكيمو حيوية إضافة لذلك تم إجراء بعض الفحوصات الخاصة للمكورات العنقودية مثل النمو على وسط المانيتول الملحي الصلب manitol salt agar ، وفحص إنزيم المخثر للبلازما coagulase test أما بكتريا الزوائف الزنجارية فتم زراعتها على وسط King A و King B.

تم استخدام طريقتان وهما أقراص الاكار لغرض الكشف عن قدرة الإحياء المهجريّة المعزولة على إنتاج المضادات الحيويّة Agar disk حيث وباستخدام تاقب فليبي قطرة ٦ ملم تم من خلاله نقل أقراص الاكار الحاوية على الإحياء المهجريّة (المراد اختبار قدرتها على إنتاج مضادات حيوية) والنامية على وسط الاكار المغذي إلى وسط المولر هنتون الصلب الحاوي على احد أنواع بكتريا الاختبار و حضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° ولمدة ٢٤ ساعة تم الكشف عن الكائن المجهري المنتج للمضادات الحيوية من خلال ظهور مناطق التثبيط حول الأقراص (٣) أما الطريقة الثانية فهي طريقة الخطوط المتعامدة cross streaks حيث زرعت الإحياء المهجريّة المراد الكشف عن قابليتها في إنتاج المضادات الحيوية بشكل خط مستقيم على طرف الطبق الحاوي على وسط مولر هنتون أكار وحضنت الإطباق بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة ٤٨ ساعة ، زرعت بعدها عزلات بكتريا الاختبار على شكل خطوط مفردة ومتعامدة على خط نمو الكائن المجهري (المراد اختبار فعاليته في إنتاج المضادات الحيوية) بحيث يبدأ الزرع من الطرف البعيد عن الكائن

تقوم بتثبيط نمو أحياء مجهرية أخرى ولا تؤثر على البكتريا المنتجة لها (٥). عرفت مضادات الحيوية بأنها إحدى نواتج الأيض الثانوية (Secondary metabolites) اذ تنتجها الأحياء المجهريّة بعد ان يصل نموها إلى طور الثبات (Stationary phase) والذي يعرف أيضا بطور الإنتاج (Production phase) أو Idio phase ، لذلك أشارت بعض المصادر إلى إمكانية تسمية هذه المواد Idiolithes (٦) من هنا جاءت هذه الدراسة.

من اجل عزل بكتريا محلية من تربة مدينة الرمادي والكشف عن عزلة كفوءة في أنتاجها للمواد المضادة للأحياء المهجريّة الاختبارية من بين تلك العزلات واختبار قدرتها لتحملها للظروف من درجة حرارة وتراكيز ملحية مختلفة .

المواد وطرائق العمل

جمعت ٢٠ عينة تربة من (٦) مواقع مختلفة في مدينة الرمادي ،وذلك بقشط ١ سم من سطح التربة وأخذت وبعمق يتراوح بين ١٠-٥ سم وقد كانت كمية العينة المأخوذة ١٠٠ غم من كل موقع من المواقع المشمولة بالدراسة ووضعت في كيس نايلون معقم وسجل عليه المعلومات (رقم النموذج،نوع التربة ،نوع المحصول المزروع، الموقع) وجلب إلى المختبر .

حضرت سلسلة من التخفيف العشريّة و ذلك بإضافة 0.1 مل من التخفيف العشري الثاني ١٠^{-٢}، إلى سطح الوسط المغذي الصلب Nutrient agar وحضنت الإطباق في درجات حرارية تراوحت ما بين (١٥-٤٥) لمدة ٢٤-٤٨ ساعة ثم نقلت كل مستعمرة بكتيرية نامية إلى نفس الوسط الذي عزلت عليه لغرض التنقية وحفظت على مائل الوسط المغذي الصلب في درجة حرارة ٤ م° لحين الاستعمال.

تم الحصول على العزلات البكتيرية المشخصة الآتية:

استخدمت أنابيب اختبار تحتوي على مائل المغذي الصلب حيث لقت بمزروع البكتريا وحضنت في مجموعتين الأولى بدرجات حرارية ٤٠ و ٤٥ و ٥٠م لمدة يومان والثانية بدرجات حرارية ٥ و ١٠ و ٢٠م لمدة من ٢-٧ أيام.

أضيف ٣%، ٧%، ١٠% من كلوريد الصوديوم إلى الوسط المغذي السائل ولقت الأنابيب بالمزروع البكتيري ثم حضنت لمدة ٢-٤ أيام وتعتبر النتيجة موجبة بظهور عكورة في الوسط (١١).

المناقشة

أظهرت نتائج العزل الحصول على ٧ عزلات بكتيرية منتجة للمواد المضادة من مجموع ٢٠ نموذجا من التربة استعملت في عملية العزل وقد تباينت هذه العزلات في قدرتها على إنتاج المواد المضادة اعتمادا على قطر التثبيت تجاه بكتريا الاختبار وانتخبت أكفاء العزلات البكتيرية ولوحظت أنها تنتشر في بيئة التربة المزروعة بمحاصيل الخضر والفواكه.

وتميزت عزلتان محليتان اعطينا الرقمين المحليين M3, M1 في قابليتهما العالية لإنتاج المواد المضادة من بين بقية العزلات وكانت من مواقع مختلفة من المدينة وكما موضح في جدول (٣) واختيرت هاتان العزلتان لإجراء الاختبارات الزرعية والكيمو حيوية لغرض تشخيصها بالشكل النهائي وتحديد الجنس والنوع.

أظهرت نتائج الفحوصات الزرعية والمهجرية والكيموحيوية للعزلات البكتيرية المنتجة واعتمادا على (١٢) بأنها تحمل صفات الجنس *Bacillus* وكما موضح في جدول (٤) لقد تم الحصول على عزلة تحمل صفات بكتيريا *Bacillus subtilius* والتي أعطيت الرمز المحلي M1 وعزلت من تربة منطقة الجزيرة بالرمادي والمزروعة بالحمضيات أشجار البرتقال.

وأظهرت نتائج الفحوصات على هذه العزلة بأنها عصيات موجبة

المجهرية وينتهي عند خط نموه حضنت الأطباق بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة واعتبر الكائن ألمجهرى منتجا للمضاد الحيوي من خلال وجود تثبيط لنمو واحد أو أكثر من بكتريا الاختبار في المناطق القريبة من خط الكائن الحي ألمجهرى (٣).

استعملت لهذا الغرض ١٠ مضادات حيوية كما في جدول (١) حيث نقلت مستعمرتان إلى أنابيب اختبار تحتوي كل منها على ٥ مل من الوسط المغذي السائل وحضنت بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة وتمت مقارنة النمو في الأنابيب مع أنبوبة ماكفرلاند التي تساوي تقريبا 1.5×10^8 خلية / ملم حيث أضيف المحلول الملحي لهذه الأنابيب حتى تساوت العكورة مع أنبوبة ماكفرلاند وبواسطة ماسحة قطنية swab نشرت البكتريا المراد اختبار حساسيتها (البكتيريا المعزولة M1, M3) على وسط مولر هنتون الصلب (بالتساوي وتم وضع ٥-٧ أفراس للمضادات على سطح الوسط الأزري بمعدل ثلاث مكررات لكل تجربة وحضنت بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة وتم قياس قطر منطقة التثبيت لتحديد مقاومة وحساسية البكتريا للمضاد الحيوي (٧) وكما في جدول(٢).

انتخبت العزلات المميزة بفعاليتها في إنتاج مضادات حيوية بالاعتماد على طريقة الخطوط المتعامدة، وتم تشخيص هذه العزلات باستخدام الفحوصات المظهرية والكيمو حيوية واعتمادا على المصادر العلمية المتبعة عالميا لتشخيص البكتيريا (٨). وقد شمل التشخيص الفحوصات الآتية: الفحص ألمجهرى والصفات الزرعية وفحص الحركة (٩). واختبار الكاتاليز واختبار الاوكسديز (٨). واختبار الاندول واختبار المثيل الأحمر واختبار فوكس بروسكاور واختبار استهلاك السنرات واختبار اليوريا واختبار اختزال النترات وفحص تكوين السبور واختبار أنزيم التحلط والقدرة على تحليل الدم واختبار تميع الجيلاتين واختبار تخمر السكريات(١٠).

M3 وتميزت بأنها تخمر السكريات الكلوكوز وإنها لا تستطيع تحليل الدم واعتبرت بأنها الأكفاء في إنتاج المواد المضادة عن غيرهما من العزلات.

تم عزل ٧ عزلات من البكتريا المحلية على أساس الصفات المظهرية وكذلك الزرعية والفحص المجهرى وحددت الفعالية التثبيطية لجميع العزلات المحلية تجاه بكتريا الاختبار وكما موضحة في جدول (٥) وتبين من خلال الفعالية بان العزلة M1، M3 تمتلك فعالية تثبيطية ذات طيف واسع تجاه بكتريا الاختبار الموجبة والسالبة لملون كرام واعتبرت الأكفاء في إنتاج مواد مضادة ضد بكتريا الاختبار .

حيث لوحظ بان كلا العزلتين تمتلكان أعلى فعالية تثبيطية تجاه المكورات العنقودية والزوائف الزنجارية وكانت بحدود (٣٠-٢٣ ملم) كما في صورة (١ و ٢ و ٣) وان *Bacillus subtilius* تمتلك فعالية اكبر من *Bacillus Polymyxa* في تثبيطها الاشريشية القولونية حيث كان قطر أعلى تثبيط *Bacillus subtilius* بحدود (٣٠-٢٣ ملم) أما *Bacillus polymyxa* كان أعلى قطر تثبيط بحدود (٢٢-١٥ ملم) كما في صورة (٤)، وكذلك الحال نفسه في تثبيطها للمتقلبات *proteus mirabilis*.

حيث أن *Bacillus subtilius* تمتلك فعالية مضادة للمتقلبات بحدود (٢٢-١٥ ملم) في حين كانت *Bacillus polymyxa* تمتلك فعالية مضادة للمتقلبات بحدود (١٤-١٠ ملم).

يعد تثبيط بكتريا الاختبار *Staphylococcus aureus* ، *Pseudomonas aeruginosa* ذو أهمية خاصة إذا تعد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* من أكثر الأنواع المنتجة للمقاومة الطبيعية والمقاومة الناتجة عن العديد من الطفرات التي تحدثها باستمرار تجاه مضادات الحيوية (١٥).

كذلك بكتيريا *Staphylococcus aureus* التي تعد احد أهم

لملون كرام وتوجد في سلاسل أو بهيئة أزواج مكونة للسبورات ، هوائية إجبارية مستعمراتها دائرية بلون اصفر فاتح مسننة الحواف على الأكار المغذي سالبة للاوكسديز والاندول وموجبة للكاتاليز والحركة واحمر المثيل وسالبة للاختبار اليوريا وتحتزل النترات إلى نترت منتجة الحامض ومنتجة H_2S وتميع الجيلاتين وتخمر السكريات (الكلوكوز) ومحللة للدم (١٣) وكذلك تم الحصول على عزلة من تربة الجزيرة بالرمادي لمزرعة الحمضيات أشجار اللانكي وإنها تحمل صفات *Bacillus polymyx*.

حيث اظهر الفحص المظهري للمستعمرات النامية على الوسط المغذي الصلب أنها عديمة اللون مخاطية القوام دائرية حوافها ملساء واظهر الفحص المجهرى إن خلاياها هي عبارة عن عصيات مفردة أو مزدوجة تعطي تفاعلا ايجابيا لملون كرام متحركة ومكونة للسبورات التي تكون اهليجية وتقع إلى الطرف قليلا subterminal بحيث تؤدي إلى انتفاخ الخلية العسوية وأظهرت الفحوصات الكيمو حياتيه قدره هذه العزله البكتيرية في إنتاج أنزيم الاوكسديز والكاتاليز وتحليل الجيلاتين والنشاء ومن المميزات المهمة لهذه العزله قدرتها على إنتاج حامض وغاز من معظم السكريات كما أنها موجبه لفحص الفوكس بروسكاور ومن الملاحظ أنها تنمو في الأوساط الزر عيه أسائله ويكون بشكل عكره مخاطية أثبتت تلك الفحوصات إن هذه العزله تعود إلى جنس *Bacillus* استنادا إلى (١٢)، وإنها يمكن لها إن تنتج العديد من الأنواع ويمكن تمييز *Bacillus polymyxa* , ويمكن تمييزها عن غيرها من خلال قدره النوع على إنتاج حامض وغاز من سكر الكلوكوز . إن العزلة البكتيرية قد تمكنت من إنتاج حامض وغاز من سكر الكلوكوز بشكل واضح وعلى هذا الأساس شخصت العزلة على انه *B. polymyxa* . يؤيد ذلك قيام (١٤) بعزل ثلاث سلالات تابعه لهذا النوع تطابقت خواص التشخيصية مع عزلتنا المحلية وقد أعطيت الرمز

المصادر

- 1-Talaro, K. and Talaro , A. (1996). Foundations in microbiology, basic principles, Times mirror higher education group, Wm. C. Brown Publishers. Chicago.
- 2- Arnold, R. M. (1982). Antibiotics. In; R. F. Doerge (ed.) .Wilson and Gisvolds, Textbook of organic medical and pharmaceutical chemistry. J. B. Lippincott Co., U.S.A. P. 225 – 289.
- 3-Egorov, N. S. (1985). Antibiotics ascientific approach. Mir publishers, Moscow.
- 4-الخفاجي ،زهرة محمود (٢٠٠٨) الاحياء المجهرية جامعة بغداد ،وزارة التعليم العالي والبحث العلمي .العراق ص٧٧
- 5-Waksman, S. A. (1967). The actinomycetes : a summary of current knowledge . The Ronald press Co. New york .
- 6-Hopwood, D. A. (1988). Extracromosomally determined antibiotic production. Ann. Rev. Microbiol. 32: 373 – 392 .
- 7-Bauer,A.W.;Kirby ,W.M.M.; aherris.J.C.; and Turek,m.(1966) Antibiotic susceptibility testing by astandardized single disk method .J. clin .path,44: 493-496
- 8-Baron, E.J; and Finegold, S.M. and Baily Scott. (1990). Diagnostic Microbiology C.V Mosby Company Toronto.
- 9-Cruickshank, R.Daguid, j,marmion and Swain ,R.(1975). Medical microbiology 12ed churrchill living stone London.
- 10- جاد الله. نزار فؤاد ، العزلم عقاب ، الشاعر .عبد المجيد ، المنسي عرسان (١٩٩٤) الأحياء الدقيقة العملية . سلسلة الطرائق الأساسية، عمان.
- 11-Claus, D. and Berkeley, R. C. W. (1984). Genus Bacillus. In P. H. A. Senath; N. S. Mair; M. E. Sharpe, and J. G. Holt (eds.) Bergy`s manual of

الأنواع المسببة لتسمم الدم إضافة إلى قدرتها على إنتاج سموم داخل خلوية وقدرتها على إنتاج مقاومة سريعة للعديد من المضادات الحيوية وتسبب مشاكل مختلفة نتيجة لهذه المقاومة (١٦).

استعمل الوسط المغذي الصلب في اختبار قابلية عزلتي البكتيريا M1, M3 في النمو بدرجات حرارية مختلفة و شملت (٥ و ١٠ و ٢٠ و ٤٠ و ٤٥ و ٥٠ م) وبينت النتائج وكما موضحة في جدول (٦) إن العزلتين المحلّيتين تمكنت من النمو بشكل جيد في درجات الحرارة العالية ٤٠ ، ٤٥ م ولكلا العزلتين في حين كان النمو متوسط في درجة حرارة ٥٠ م بالنسبة للعزلة M1 في حين لم تبدي العزلة M3 القدرة على النمو بتلك الدرجة ، كذلك لم تبدي كلا العزلتين القدرة على النمو في الدرجة الحرارية المنخفضة ٥ م وكان هنالك نمو وبدرجات متباينة بين الدرجات الحرارية المحصورة بين أعلى واوطاء درجة ،إن التغيير في درجات الحرارة له تأثير على الصفات المظهرية والفسلجية وان أي تغيير في قيم الدرجات عن القيم المثلى لنمو العزلات الإحياء المهجريّة يؤثر في النمو ويقلل من إنتاجها للمركبات الايضية الثانوية من خلال التأثير على فعالية الإنزيمات وهذا ينطبق مع ما توصل إليه James.,1990 (١٧).

استعمل الوسط المغذي السائل مع إضافة ملح كلوريد الصوديوم NaCl في اختبار قابلية عزلتي البكتيريا M1, M3 في النمو بتركيز ملحية مختلفة وشملت (٣% ، ٧% ، ١٠%) وقد بينت النتائج وكما موضحة في جدول (٧) إن كلا العزلتين تنمو وبشكل جيد ومن خلال ظهور العكورة في التركيز الأدنى ٣% ومن خلال تقديرها بجهاز المطيافية، في حين لم تبدي كلا العزلتين القدرة على النمو في التركيز الأعلى ١٠ % أما في التركيز ٧% فد أظهرت العزلة M1 القدرة على النمو المتوسط في حين لم تستطع العزلة M3 من النمو في هذا التركيز .

مركز الازاي	30	STX	Co-trimoxazol	10	30	30	Oxoid
Oxoid	10	FD	Fusidic acid	9	30	30	Oxoid
مركز الازاي	30	CTX	Cefotaxime	8	30	30	Oxoid
Oxoid	30	RD	Refampicin	7	30	30	Oxoid
مركز الازاي	30	C	Chloramphenicol	6	30	30	Oxoid
Oxoid	10	AMP	Ampicillin	5	30	30	Oxoid
Oxoid	30	CN	Gentamicin	4	*10	30	Oxoid
Oxoid	30	NA	Nalidixic acid	2			

*IU وحدة دولية (تركيز البنسلين)

systematic Bacteriology. Vol. 11 P. 105 – 139. Williams and Wilkins Co., Baltimore.

12- Holt , J. C. ; Krieg , N. R. ; Sueath , P. H. ; Staley , J. T. ; and Williams , S. T. (1994) . Bergy`s manual of determinative bacteriology, 9th ed. Williams and Wilkins Co. Baltimor. U.S.A.

١٣- الجبوري ، محميد مدا الله . (١٩٩٠) البكتيريا الطبية . مطابع التعليم العالي . جامعة الموصل . العراق

14- Chater , K. F. and Hopwood , D. A. (1993) . In A. L. Sanenshein ; J. A. Hoch , and R. Losich . (eds.), Bacillus Subtilis and other gram positive bacteria, Biochem . physiol , and Mol . Genet. American Society for Microbiology, Washington D. C.

15- Moor, R. A.; Bates, N.C. and hancock, R.E.W (1986) interaction of polycationic antibiotics With Pseudomonas aeruginosa lipopoly saccharide and lipid astudied by using dansyl. polymyxin .Antimicrobial Agents ,chemoth .29: 496-500

16- Jawets,M.; Adeiberg: E.A.; Brooks, G.f; Butel, J.S; melinck, J. and ornston ,L.N (1995) .Medical microbiology .zoed Appleton and Lange .

17- James, P.D.A. and Edwards, C. (1990). The effects of temprature on growth and production of antibiotic granaticin by athermotolerant bacteria. J. Gen. Microbiol. 135: 1997 – 2003.

جدول (١) مضادات الحيوية المستعملة في الدراسة

ت	مضادات الحيوية	الرمز	التركيز/ميكرو غرام	الشركة المصنعة
١	Tetracyclin	TE	30	Oxoid

جدول (٢) حساسية العزلات المحلية M1,M3 لمضادات الحيوية

النتيجة	التركيز/ميكرو غرام / قرص	الرمز	مضادات الحيوية
+	30	CTX	Cefotaxime

مزروعة حمضيات (برتقال)	مزروعة جت	مزروعة حمضيات (اللكي)	مزروعة باننجان	مزروعة بامياء	مزروعة طماطة	مزروعة فلفل
رمادي / الجزيرة	رمادي / الصوفية	رمادي الجزيرة	رمادي / الغابات	رمادي / الصوفية	رمادي / تأميم	رمادي / تأميم
M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
١	٢	٣	٤	٥	٦	٧

-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
١٠	٢٠	٣٠	٢٠	٣٠	٢٠	٣٠	١٠	٣٠	١٠	٣٠	١٠	٣٠
AMP	RD	NA	C	TE	STX	CN	FD	AMP	AMP	AMP	AMP	AMP
Penicillin	Rifampicin	Nalidixic acid	Chloramphenicol	Tetracycline	Co-trimoxazol	Gentamicin	Fusidic acid	Ampicillin	Ampicillin	Ampicillin	Ampicillin	Ampicillin

(+) حساسة (-) مقاومة

جدول (٤) نتائج الاختبارات الكيمو حيوية للعزلتين المحلية الأكفاء في القدرة التشبثية

العزلة M3	العزلة M1	الاختبارات
+	+	Gram stain

جدول (٣) مواقع العزلات البكتيرية المنتجة للمواد المضادة والمحصول المزروع

استغلال الحقل	الموقع	رعر العزلة	ت
---------------	--------	------------	---

-	+	Manitol
+	+	Spore stain

M3= *Bacillus polymyxa*, M1=*Bacillus subtilius*

جدول (٥) الفعالية التثبيطية للعزلات المحلية ضد بكتريا الاختبار

اقتارمنطقة التثبيط ضد عزلات الاختبار مفاة(مليمتر)						العزلات
<i>salmonella typhi</i>	<i>proteus mirabilis</i>	<i>Staph aureus</i>	<i>klebsiella ssp</i>	<i>Ps. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	
+	++	+++	++	+++	+++	M1
+	+	++	+	+	++	M2
+	+	+++	++	+++	++	M3
+	+	++	+	+	-	M4
-	-	++	-	+	++	M5
+	-	+	-	+	+	M6
+	+	+	-	-	+	M7

(-) لا توجد فعالية // (+) من ١٠-١٤ مليمتر قطر منطقة التثبيط // (++) من

١٥-٢٢ مليمتر قطر منطقة التثبيط // (+++) من ٢٣-٣٠ مليمتر قطر منطقة

التثبيط

+	+	Catalase
+	-	Oxidase
-	+	Citrate
-	-	Urea
+	+	Motility
+	+	H2S
+	+	Nitrate
-	-	Indol
+	+	MR
+	*	VP
+	+	Gelatinase
-	+	Heamolysis



صورة (١):التاثير التثبيطي للعزلة M1=*Bacillus subtilis* ضد

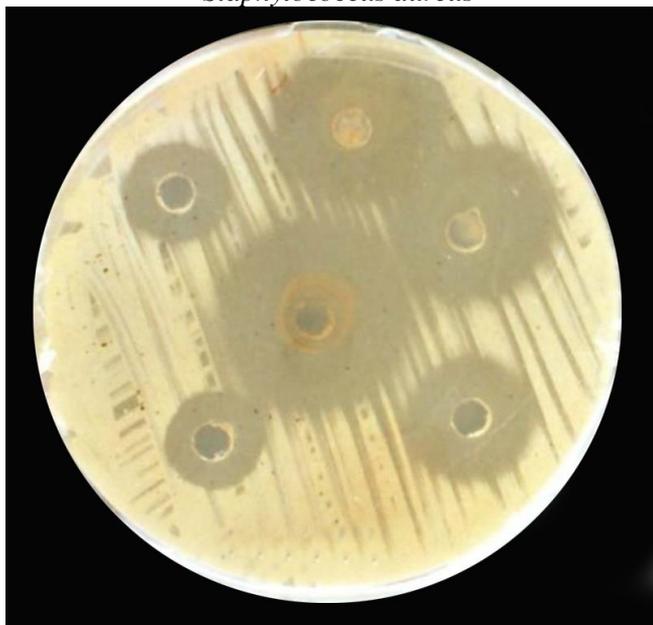
Staphylococcus aureus

جدول (٦) نتائج اختبار نمو العزلتين M1,M3 في درجات حرارة مختلفة

درجة حرارة						العزلة البكتيرية المحلية
٥م	١٥م	٢٠م	٢٥م	٣٥م	٤٥م	
+	+	+	+	+	-	M1
-	+	+	+	+	-	M3

++ نمو جيد ، + نمو متوسط ، - نمو ضعيف، - عدم النمو

M3= *Bacillus Polymyxa* ، M1=*Bacillus subtilis*



صورة (٢):التاثير التثبيطي للعزلة M3= *Bacillus Polymyxa* ضد

Staphylococcus aureus

جدول (٧) نتائج اختبار نمو العزلتين M1,M3 في ثلاثة تراكيز ملحية

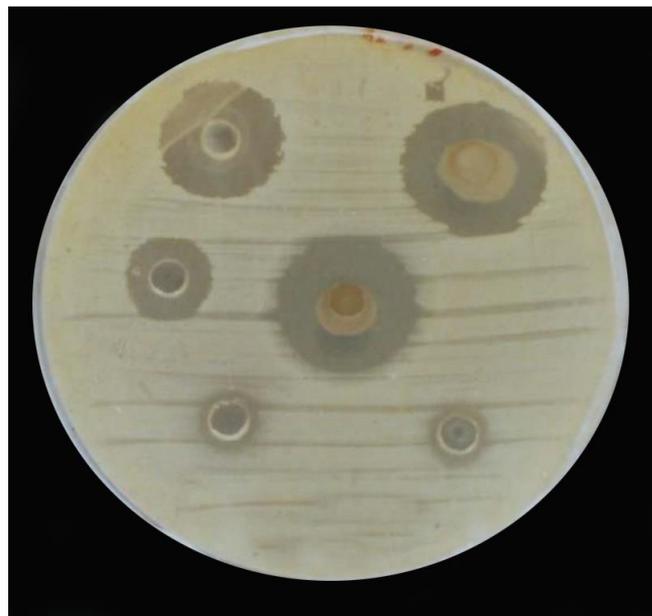
Nacl 10%	Nacl %٧	Nacl 3%	العزلة البكتيرية المحلية
-	+	++	M1
-	-	++	M3

++ نمو جيد ، + نمو متوسط ، - عدم النمو



صورة(٤): التأثير التثبيطي للعزلة M1=*Bacillus subtilius* ضد

Escherichia coli



صورة (٣): التأثير التثبيطي للعزلة M1=*Bacillus subtilius* ضد

Pseudomonas aeruginosa

Isolation and Identification for antibiotics producing bacteria from Ramadi soils.

Muthna hamid hassan

E.mail: Muthanna_477_aliraqi@yahoo.com

Abstract

Study included the selection of bacteria isolated from local is the most efficient among the seven isolates have been isolated from the soil of the city of Ramadi by collecting 20 sample soil from 6 different locations, based on possession of the effectiveness of inhibition a broad spectrum of bacteria toward the test was diagnosed with several tests and the appearance, biochemical

It was diagnosed as isolating *Bacillus subtilius* and was labeled M1, *Bacillus polymyxa* was labeled as M3 owned inhibition highly effective against *Staphylococcus aureus*, *pseudomonas aeruginosa* and the Limits of 23 -30 mm and less against *Escherichia coli*, *Klebsiella ssp* isolated and characterized the M1 more effectively inhibition further examined the effect of temperature The growth of isolates that grow well in 40 degree heat, both 45 and isolating and isolation alone can M1 growth in the 50 degree Celsius heat either at low temperatures can not isolate both Selected from the growth in the degree of heat 5c°. and studying the impact of salinity on the growth of isolates Shows that it grows well in focus 3% NaCl The focus was able only 7% of M1 growth and sustainability of this focus, while the focus of 10% was not able to isolate both of growth in .