# دراسة تأثيربعض المضادات الحيوية وملح NaCl على نمو بكتريا *Serratia marcescens* وانتاجها لصبغة البروديجيوسين prodigiosin

أحمد عيدان غمد ـ جامعة واسط / كلية العلوم /قسم علوم الحياة

# A study of some antibiotics and NaCl affecting *Serratia marcescens* growth and product prodigiosin pigment.

AHMED EDAN DHAMAD - Wassit University / Sciences College / Biology Dept.

**Summary :**

Serratia marcescens is a bacteria which is sensitive to some antibiotics(trimethoprime, Ciprofloxacin, Cefotaxime, Cephoxitin, Neomycin, Gentamycin, Nalidixic acid, Amikacin) and the Ciprofloxacin has higher capability to inhibit its growth, but it is resistante to(Augmentin, Erythromycin, Cephalothin, Clarithomycin, Tetracycline, Vancomycin, Ampicillin) ,and it produces *B*-lactamases .

The prodigiosin is a pigment that is produced from *S. marcescens* and may be defense agent against antibiotics so it increases its production with 85.71%, from antibiotics that affect bacteria growth, while it is not produced with (Tetracycline، Cephoxitin، Clarithomycin ) , while, Ampicillin، Vancomycin، Cephalothin، Erythromycin don't affect bacteria growth and pigment production .

The components media such as NaCl affect *S. marcescens* growth and pigment production, the growth decrease gradually at2% concentration and stop growth at 10% concentration to both period (24-48) hr.,while the pigment shows high product at 2% concentration and then decreases gradually to stop at 10% concen.to both period (24-48) hr.

**الخلاصة:**
ان بكتريا *Serratia marcescens* حساسة للمضادات الحيوية (trimethoprime، Gentamycin، Neomycin، Cephoxitin، Cefotaxime،Ciprofloxacin ، Amikacin،Nalidixic acid ) وكان المضاد Ciprofloxacin هو الاكفاء بتثبيط نمو البكتريا، في حين كانت مقاومة للمضادات (Erythromycin،Augmentin ، Ampicillin، Vancomycin، Tetracycline، Clarithomycin،Cephalothin ) ،كما انها كانت منتجة لأنزيمات البيتالاكتاميز *B*-lactamases .
يمكن عدّ صبغة البرديجيوسين المنتجة من بكتريا *S. marcescens* وسيلة دفاعية ضد المضادات الحيوية ،إذ يزداد انتاجها لأغلب المضادات المؤثرة على نمو البكتريا، فكانت نسبة تأثيرها ٨٥.٧١% من المجموع الكلي لتلك المضادات ، في حين تنتج الصبغة مع المضادات (Tetracycline، Cephoxitin، Clarithomycin ) ، ولم يلحظ اي تأثير للمضادات (Ampicillin، Vancomycin، Cephalothin، Erythromycin ) على نمو البكتريا وانتاجها للصبغة.
يتأثر نمو بكتريا *S. marcescens* وانتاجها للصبغة بمكونات الوسط التي منها ملح كلوريد الصوديوم NaCl ،إذ وجد ان نمو البكتريا يقل بشكل تدريجي وواضح عند تركيز ٢% حتى ينعدم النمو عند تركيز ١٠% وللمدتين (٢٤-٤٨)ساعة ،بينما كان اعلى انتاج للصبغة عند تركيز ٢% ويقل الانتاج تدريجياً حتى يتوقف عند تركيز ١٠% وللمدتين (٢٤-٤٨)ساعة.

**المقدمة:**
تنتج بكتريا *Serratia marcescens* طيفاً واسعاً من الانزيمات المحللة للمضادات الحيوية التي منها انزيمات البيتالاكتاميز *B*-lactamases وبذلك يكسبها قابلية عالية لمقاومة تلك المضادات جدول (١) مما يشكل خطراً كبيراً على السيطرة وعلاج الامراض التي تسببها تلك البكتريا،إذ انها ممرض انتهازي ( opportunistic pathogen ) تسبب التهاب السحايا وذات الرئة واصابة القناتين التنفسية والبولية وقرنية العين(Conjuctivitis) والاذن الوسطى (٢،١)

| ت | أسم الانزيم | منشأه | الفعالية التحليلية للمضادات الحياتية |
|---|---|---|---|
| ١ | TEM[٣]* | Plasmid | Ceftazidime , Cefotaxime , Aztroenam , Ampicillin |
| ٢ | IMP-1 [٤،٥]* | Chromosomal &plasmid | Carbapenam , |
| ٣ | AmpC enzyme [٦]* | Chromosomal | Cefotaxime, |
| ٤ | CTXM [٧]* | Large plasmid | Chlormphinicol, Celphonamide,Tetracycline ,aminoglycocide, |
| ٥ | 16$Rrna mathylase [٨]* | plasmid | Aminoglycocide (Gentamycin,Amikacin) |
| ٦ | AAC6 Acetyl transfetase [٩]* | plasmid | Amikacin |
| ٧ | SME-1, SME-2 [٥]* | Chromosomal | Azteronam, Imipenem, pencillin , Cephalosporin , Carbapenam , |
| ٨ | B-lactamase type 1 [١٠]* | - | Cephalothin , Cephaloridin , Cephazolin |
| ٩ | B-lactamase type C [١١]* | Chromosomal | Cephalothin, Cephaloridin |

**جدول(١) الأنزيمات المحللة لمجموعة من المضادات الحيوية المنتجة من بكتريا *S. marcescens***

*المصادر

كما تنتج بكتريا *S. marcescens* صبغة حمراء- البروديجيوسين- تقسم على اساسها الى نوعين رئيسين الاول بكتريا ملونة(Pigmented bacteria ) والثاني بكتريا غير ملونة(non-Pigmented bacteria) ، وهي مركب كيميائي خطي ثلاثي حلقات البايرول تنتج كناتج ايضي ثانوي ،يتم تخليقها عن طريق مسارين ايضيين ينتهي الأول بتكوين البايرول الاحادي MAP (2- methyal-3-amyl–pyrrol) وينتهي الاخر بتكوين البايرول الثنائي methoxy MBC( biopyrrole-5-carboxaladyhyde -2,2-- ٤ ) ، يتحد هذان المركبان العديما اللون عند جدار الخلية بمساعدة الانزيم المكثف (PCE ) Prodigiosin condensing enzyme ليكونا صبغة البروديجيوسين الحمراء [١٣].

يتأثر انتاج الصبغة بعوامل عدة منها : درجة الحرارة ، والرقم الهيدروجيني ( pH ) ، ونوع وتركيز الايونات اللاعضوية (Inorganic ions) مثل ملح كلوريد الصوديوم NaCl ،ووجود بعض المواد في الوسط الزرعي مثل المضادات الحيوية ، ونوع وتركيزالمصدر الكاربوني والنتروجيني[٢٤] .

تهدف هذه الدراسة لمعرفة مدى تأثير مجموعة من المضادات الحيوية على نمو بكتريا *S. marcescens*وانتاجها لصبغة البروديجيوسين وامكانية انتاجها لأنزيمات *B*-lactamases ،كما تهدف لمعرفة تأثيرالتراكيز المختلفة من ملحNaCl على النمو وانتاج الصبغة.

## المواد وطرائق العمل:

### * اختبار حساسية بكتريا *S. marcescens* للمضادات الحيوية وتأثيرها على انتاج صبغة البروديجيوسين:

اتبعت طريقة الانتشار باستخدام الاقراص( The Disc Diffusion Method )في اختبار حساسية العزلة قيد الدراسة تجاه المضادات الحيوية المذكورة في جدول (٢) ، وتأثير تلك المضادات على انتاج الصبغة [١٥،١٦].

سجلت النتائج بقياس قطر منطقة التثبيط بالمليمترات حول كل قرص ومقارنة النتائج مع الجداول القياسية الخاصة ،حيث تم معرفة كون العزلة حساسة أو مقاومة لذلك المضاد الحيوي ،كما لوحظ مدى تأثير تلك المضادات على انتاج الصبغة من خلال فقدان قابلية العزلات على الانتاج وظهورها بلون ابيض.

### *** اختبارقابلية انتاج أنزيمات البيتالاكتاميز من بكتريا S. marcescens :**

استخدمت طريقة اليود القياسية السريعة (Rapid Iodometric Method) للكشف عن انتاج العزلات لانزيمات البيتالاكتاميز وبحسب ماورد في Collee وجماعته (١٩٩٦) كالآتي:

- ***محاليل الكشف عن انزيمات البيتالاكتاميز:***

- **محلول اليود:** حضر بإذابة ٢.٠٣ غم من اليود و٥.٣٢ غم من يوديد البوتاسيوم في ٩٠ مل من الماء المقطر واكمل الحجم إلى ١٠٠ مل، حفظ المحلول في قنينة معقمة معتمة.

- **محلول النشأ:** حضر بتركيز ١% بإذابة ١ غم من مادة النشأ الذائبة في ١٠٠ مل ماء مقطر، وضعت القنينة في حمام مائي بدرجة ١٠٠°م مع الرج لحين ذوبانه تماماً.

- **محلول المضاد الحيوي بنسلين-ج (Pencillin-G)** .

أذيب ٠.٦ غم من مسحوق البنسلين-ج في ٦٠ مل من محلول دارئ الفوسفات واكمل الحجم إلى ١٠٠ مل ثم عقم بالترشيح ووزع على عبوات صغيرة وخزن لحين الاستعمال بحرارة (٢٠-)مئوية.

حضرت مزارع بكتيرية بعمر ٢٤ ساعة منماة على وسط الاكار المغذي. نقل عدد من المستعمرات بوساطة ناقل معقم إلى أنابيب أبندروف الحاوية على ١٠٠ مايكرولتر بنسلين-ج ، رجت الانابيب ثم حضنت بدرجة ٣٧ مئوية لمدة ساعة ، أضيف ٥٠ مايكرولتر من محلول النشأ ومزج جيداً مع محتويات الانبوبة، أضيف ٢٠ مايكرولتر من محلول اليود حيث نتج لون أزرق غامق من تفاعل اليود مع النشأ، رجت الانابيب جيداً لمدة دقيقة واحدة، لوحظ التغير في اللون من الأزرق إلى الأبيض الذي يحدث خلال عشر دقائق وعدّ نتيجة موجبة، وتمت اعادة الفحص عند ظهور نتيجة موجبة متأخرة (أكثر من عشر دقائق).

*** اختبار تأثير التراكيز المختلفة من ملح كلوريد الصوديوم NaCl على نمو بكتريا *S. marcescens* وانتاجها لصبغة البروديجيوسين[١٨]:-**

نشطت البكتريا بزرعها في وسط المرق المغذي لمدة ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة ٢٨ مئوية ، خفف المزروع بنسبة ١:١ بالماء المقطر، حضرت تراكيز مختلفة من ملح كلوريد الصوديوم NaCl وكما يلي ( ٠%، ٢% ، ٤% ،٦% ،٨% ، ١٠% ) وبأس هيدروجيني PH=7.5 ، وبواقع مكررين لكل تركيز،لقحت المكررات بالمزروع البكتيري وبحجم ٠.٥ مل ،حضنت المكررات وللمدتين (٢٤-٤٨)ساعة ، إخذ حجم ٣ مل من كل مكرروللفترتين وقيس نمو البكتريا على طول موجي ٦٢٠nm وكثافة الصبغة على طول موجي ٤٩٩nm باستخدام جهاز المطياف الضوئي (Spectrophotometer).

**النتائج والمناقشة:**

*** حساسية بكتريا *S. marcescens* لمجموعة من المضادات الحيوية وتأثيرها على انتاج صبغة البروديجيوسين:**

ظهران بكتريا *S. marcescens* حساسة لمجموعة من المضادات الحيوية التي تضمنت (trimethoprime، Ciprofloxacin، Cefotaxime، Cephoxitin، Neomycin ، Gentamycin، Nalidixic acid، Amikacin ) وقد يعود السبب في ذلك الى عدم امتلاك البكتريا القدرة على انتاج انزيمات مقاومة لتلك المضادات أو قلة في انتاجها أو نتيجة حصول خلل وراثي أو فسلجي في الخلية البكتيرية ادى بالنتيجة الى فقدان قابليتها على انتاج الانزيمات المحللة لتلك المضادات كما هو الحال عند فقدان البكتريا البلازميدان 16$Rrna mathylase و

AAC6 Acetyl transfetase المسؤولان عن انتاج الانزيمات المقاومة لمضادات Aminoglycocide (Gentamycin,Amikacin)نتيجة لطفرة وراثية [٨،٩]. كما ان المضادCiprofloxacin كان الاكثر فعالية ضد البكتريا فهو يعد احد المضادات الحديثة التي تمتلك القدرة العالية لتثبيط نمو طيف واسع من البكتريا لما يمتلكه من خصائص اذ انه يعمل على تثبيط تخليق انزيم DNA gyrase الذي يؤدي الى تثبيط تصنيع DNA وبالتالي الى موت البكتريا Bactericidal.

يتضح من الجدول(٢) ان بكتريا *S. marcescens* كانت مقاومة لمجموعة من المضادات الحيوية المستخدمة في هذه التجربة وقد يعود ذلك الى قدرتها على انتاج عدد كبير من الانزيمات المحللة للمضادات الحيوية وكما هو واضح من الجدول (١) ، أو نتجت لطفرات اكسبت البكتريا المقاومة ، إذ وجد ان عزلات من بكتريا *S. marcescens* تنتج انزيماً محوراً يجعل السلالة مقاومة جدا لل Ceftazidime وCefotaxime ، أو لاكتساب البكتريا بلازميدات حاملة لصفة المقاومة للمضادات الحيوية كما هو الحال مع جين*bla* CTX-M المسؤول عن انتاج انزيمات **CTX-M** واسعة الطيف و المحمولة على بلازميد اقتراني كبير الحجم ينتقل بين الاجناس المختلفة لبكتيريا العائلة المعوية Enterobacteraceae [٧]

*** انتاج أنزيمات البيتالاكتاميز *B*-lactamases:**

يتضح من النتائج التي تم الحصول عليها ان بكتريا *S. marcescens* لها القابلية على انتاج أنزيمات البيتالاكتاميز التي تكسبها مقاومة واسعة لمضادات البنسلين والسيفالوسبورين مما يزيد من ظراوتها وخطورتها الامراضية على الانسان والحيوان وهذا يتفق مع نتائج لدراسات حديثة والتي تشير الى أن بكتريا*S. marcescens* تمتلك المقاومة الطبيعية للسيفالوسبورينات لقابليتها على انتاج أنزيمات البيتالاكتاميز الكروموسومية المنشأ ،كما وجد ان لها مقاومة عالية باتجاه البنسلينات [٣،٥].

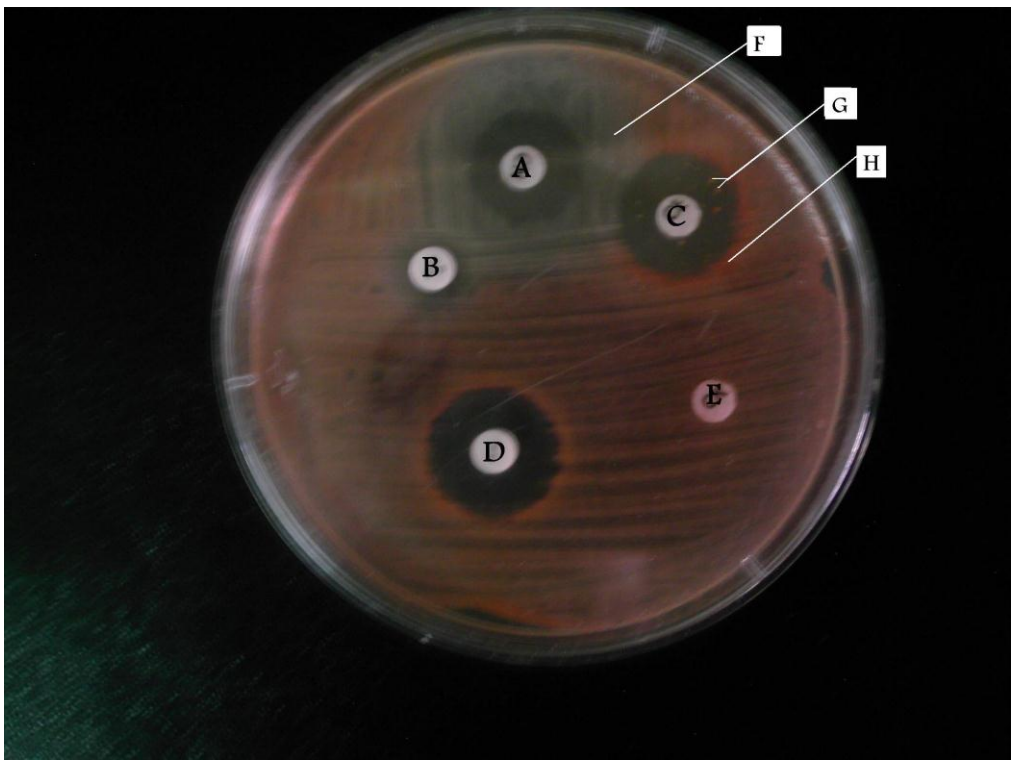
**جدول ٢: حساسية بكتريا *S. marcescens* لبعض المضادات الحيوية وتأثيرها على أنتاج صبغة البروديجيوسين**

| ت | أسم المضاد الحيوي | تأثير المضاد | صبغة البروديجيوسين | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | فعّالية المضاد | زيادة الانتاج | توقف الانتاج |
| ١ | Ampicillin | R | - | - | - |
| ٢ | trimethoprime | S | + | + | - |
| ٣ | Ciprofloxacin | S | + | + | - |
| ٤ | Vancomycin | R | - | - | - |
| ٥ | Cefotaxime | S | + | + | - |

| | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| ٦ | Tetracycline | R | + | - | + |
| ٧ | Cephoxitin | S | + | - | + |
| ٨ | Clarithomycin | R | + | - | + |
| ٩ | Cephalothin | R | - | - | - |
| ١٠ | Neomycin | S | + | + | - |
| ١١ | Gentamycin | S | + | + | - |
| ١٢ | Nalidixic acid | S | + | + | - |
| ١٣ | Amikacin | S | + | + | - |
| ١٤ | Erythromycin | R | - | - | - |
| ١٥ | Augmentin | R | - | - | - |

(R): بكتريا مقاومة للمضاد الحيوي (+):نتيجة موجبة
(S): بكتريا حساسة للمضاد الحيوي (-):نتيجة سالبة

يتبين من الجدول(٢) والشكل (١) ان معظم المضادات الحيوية كانت مؤثرة على انتاج صبغة البروديجيوسين عدا (Ampicillin،Vancomycin ،Cephalothin ، Erythromycin ) والتي هي في نفس الوقت غير مؤثرة على نمو البكتريا ،قد يعود السبب الى ان امتلاك البكتريا مقاومة عالية ضد هذه الانواع من المضادات جعلها لاتؤثر على انتاج الصبغة اضافة الى النمو فمثلا امتلاكها المقاومة العالية للمضاد الحيوي Cephalothin من خلال انتاجها انزيمين محللين له هما B-lactamase type 1وB-lactamase type C [١٠،١١].



**الشكل ١: حساسية بكتريا *S. marcescens* لمجموعة من المضادات الحيوية وتأثيرها على انتاج صبغة البروديجيوسين:**

Cephoxitin:A Cefotaxime:C Cephalothin: E
Clarithomycin:B Neomycin:D
F:توقف انتاج صبغة البروديجيوسين
G:عزلات طافرة من بكتريا S. marcescens مقاومة للمضاد الحيويCefotaxime ومنتجة لصبغة البروديجيوسين
H:زيادة انتاج صبغة البروديجيوسين

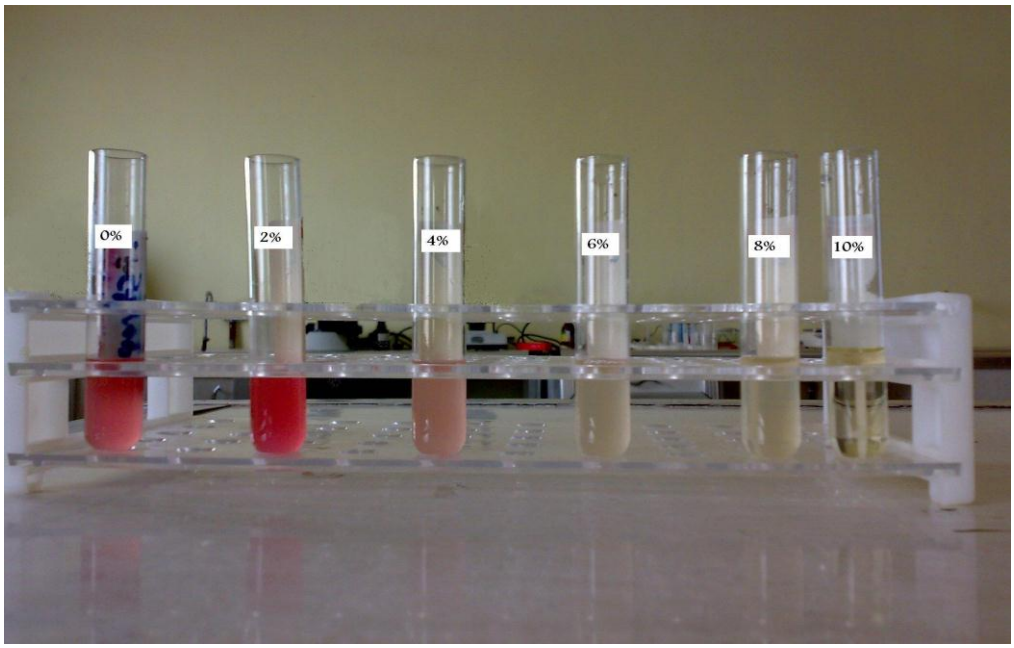
ان زيادة انتاج الصبغة مع اغلب المضادات الحيوية المثبطة لنموالبكتريا التي كانت النسبة ٨٥.٧١% من المجموع الكلي للمضادات المؤثرة على نمو البكتريا يدل على انها وسيلة دفاعية ضد تلك المضادات ، وما يؤكد ذلك ان زيادة الانتاج يكون عند الحافات القريبة من تاثير المضاد الحيوي كما في الشكل (١) ، لوحظ ان العزلات الطافرة والمقاومة للمضاد الحيويCefotaxime تمتلك القدرة على انتاج الصبغة بل زيادة في انتاجها كما هو واضح من الشكل (١-G ) ، في حين كان يعتقد سابقا ان صبغة البروديحيوسين ناتج ايضي ثانوي ليس له فائدة في مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية ، بل تفقد القدرة على انتاجها كوسيلة لزيادة المقاومة، حيث اشارت البحوث السابقة الى ان بكتريا S. marcescense غير الملونة هي الاكثر انتشاراً في احداث الامراض والاعلى مقأومة للمضادات الحيوية من الملونة [١٤، ١٩].
في حين قد يعود السبب في ذلك الى ان البكتريا غير المنتجة للصبغة تمتلك جدارا خلويا له طبقات من الدهون والدهون المفسفرة( phospholipids) اكثر بثلاثة اضعاف ما تمتلكه البكترية المنتجة للصبغة ، إذ تعمل تلك الطبقات كجدار واق يعرقل دخول المضادات الى داخل الخلية وعدم وصوله للهدف الذي يعمل عليه وبالتالي يقل تأثيره على البكتريا ،كما تعمل الدهون المفسفرة كعامل مساعد cofactor لتنشيط اي انزيم هاضم للمضادات الحيوية [٢٠].اما توقف انتاج الصبغة دون تثبيط لنمو البكتريا للمضادات (Cephoxitin،Tetracycline ، Clarithomycin) فقد يعود ذلك الى ان تلك المضادات لها القابلية على احداث خلل في احد أو كلا المسارين الايضيين ( MBC, MAP ) اللذين يؤديان الى انتاج الصبغة ، أو لحدوث طفرة أو عطب في الجينات المسؤولة عن انتاج انزيم تكثيف الصبغة (PEC ) ،أو نتيجة

ضررفي المواقع الخاصة لتكثيف الصبغة عند جدار الخلية مما يمنع من تكوينها ، وجد ان polymyxin B يقلل من انتاج الصبغة نتيجة لارتباطه بمركبات في جدار الخلية تعتبر مواقع تنافس لواحد أو اكثر من الجزيئات الكبيرة التي يعتقد بأنها تشترك في صناعة أو تكثيف الصبغة،كما وجد ان SDS يزيد من انتاج الصبغة من خلال زيادة مواقع الربط السالبة (negative sites ) الناتجة من ارتباط SDS مع مكونات الجدار الخلوي للبكتريا اذ يعتقد ان هذه الروابط ضرورية لصناعة الصبغة [١٦]

لوحظ ان اضافة تراكيز واطئة من مضاد Erythromycin او مضاد Chloromphenicol الى مزارع بكتريا *S. marcescens* يثبط أنتاج الصبغة دون تأثير ملحوظ على نموها،وقد يعود السبب في ذلك الى تثبيط بعض البروتينات المرتبطة بتخليق الصبغة [٢١]

*** تأثير التراكيز المختلفة لملح كلوريد الصوديوم NaCl على نمو بكتريا *S. marcescens* وانتاجها لصبغة البروديجيوسين:-**

يتأثر نمو بكتريا *S. marcescens* وانتاجها لصبغة البروديجيوسين بمكونات الوسط الزرعي ومن هذه المكونات تركيز ملح كلوريد الصوديوم NaCl إذ وجد ان نمو البكتريا يتناقص وبشكل تدريجي ملحوظ من تركيز ٢% الى ان ينعدم النمو بتركيز ١٠% للمدتين (٢٤و٤٨) ساعة وكما هو واضح من الشكلين(٣-AوB) والشكل (٢)

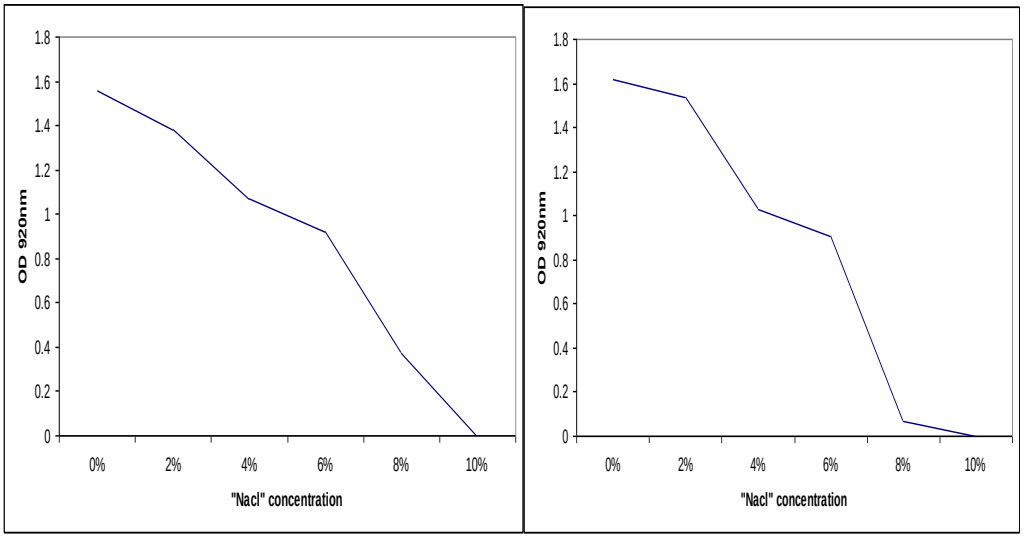



**الشكل ٢ : تأثير التراكيز المختلفة لملح كلوريد الصوديوم NaCl على نمو بكتريا *S. marcescens* وانتاجها لصبغة البروديجيوسين.**

يمكن ان يعزى ذلك اما لحدوث عملية البلزمة plasmolysis للخلايا أو مسخ denaturation للانزيمات الايضية أوالبروتينات البنائية الضرورية لنمو البكتريا . ذكرت

دراسات سابقة ان نمو بكتريا *S. marcescens* يحتاج الى وجود ملحNaCl وان افضل تركيز له هو ٢% [٢٢] .

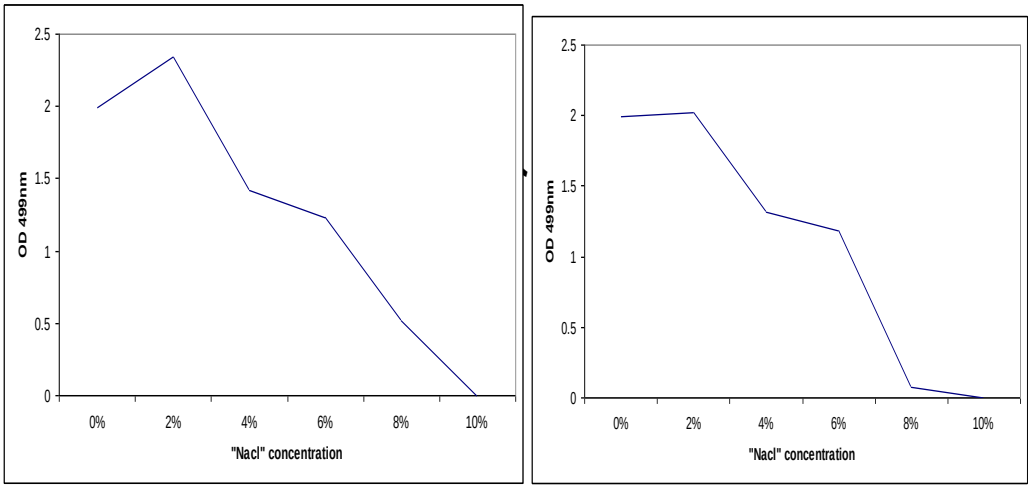
تبّين من التجربة ان تأثير NaCl على انتاج صبغة البروديجيوسين يختلف عن تأثيره على نمو البكتريا إذ ظهر ان اعلى انتاج للصبغة كان عند التركيز ٢% وبعدها يبدأالانتاج بالنقصان الى ان ينعدم عند تركيز ١٠% للمدتين (٢٤و٤٨) ساعة وكما هو واضح من الشكلين(٤- Aو B) والشكل ٢ ، اشارت دراسات سابقة الى أن التركيز(٤-٥%) من كلوريد الصوديوم يزيد من انتاج الصبغة من بكتريا *S. marcescens* ،في حين اظهرت دراسات اخرى ان تركيز (100mM NaCl) كان الامثل لنمو بكتريا *Vibrio gazogenes* في حين كان انتاجها لصبغة البرودجيوسين يزداد بزيادة تركيز $Na^+$ الى اعلى من(600mM ) [٢٣].ان هذا الاختلاف في تأثير تراكيزNaCl على نموالبكتريا وانتاجها للصبغة من الممكن ان يعود الى الاختلاف في نوع أو سلالة البكتريا المستخدمة في التجربة ،كما يلاحظ من الشكلين السابقين ان انتاج الصبغة كان وبشكل عام لمدة ٤٨ ساعة اكبرمن الانتاج لمدة ٢٤ ساعة وبخصوصةعند التركيز ٢% ، اذ أن لتركيزالبكتريا بالوسط تأثير على انتاج الصبغة فوجد ان التراكيز القليلة من الخلايا البكترية في الوسط تؤدي الى انخفاض انتاج الصبغة نتيجة قلة تركيز المنظم الموجب المسؤول عن تحفيز الجين المعبر للصبغة فان تركيزه يزداد بزيادة عدد الخلايا في الوسط مما يؤدي الى تحفيز الانتاج وزيادة كمية الصبغة ،او قد يعود السبب في ذلك الى دخول البكتريا في طور الثبات stationary phase الذي تزداد فيه نواتج الايض الثانوي والتي منها صبغة البروديجيوسين [١٦،٢٤].




**(B -٣)** **( A-٣)**

**الشكل(٣-A ): تأثيرالتراكيزالمختلفة من NaCl على نمو بكتريا *S. marcescens* ولمدة٢٤ ساعة**

**الشكل(٣- B): تأثيرالتراكيزالمختلفة من NaCl على نمو بكتريا *S. marcescens* ولمدة٤٨ ساعة**



(B -4) ( A -4)

**الشكل(٤-A ): تأثيرالتراكيزالمختلفة من NaCl على انتاج صبغة البروديجيوسين ولمدة ٢٤ ساعة .**

**الشكل(٤- B): تأثيرالتراكيزالمختلفة من NaCl على انتاج صبغة البروديجيوسين ولمدة ٤٨ ساعة .**

## References:-


**1-** Shigemura,K., Arakawa, S., Tanaka, K. and Fujisawa, M. (2009). Clinical investigation of isolated bacteria from urinary tracts of hospitalized patients and their susceptibilities to antibiotics.J.Infect.and Chemoth.15(1): 18-22

**2-** Lu,C., Lai, H., Hsieh, S. and Chen, J.(2008).Resveratrol ameliorates Serratia marcescens-induced acute pneumonia in rats. J.Leukoc. Biol. 83:1-10.

**3-** Perilli,M. , Felici, A. , Franceschini, N. ,Samtis, A. D.E , Pagani, L. , Luzzaro, F., Orator, A. , Rossolini, G.M. , Knox , J.R.and Amicosante, G.(1997).Characterization of a new TEM-derived B-lactamase produced in a *Serratis marcescens* strain . Antimicrob. Agents and Chemoth. 41(11):2374.

**4-** Yamasaki, K., Komatsu ,T., Yamashita, K., Ura, H. , Satoh, R., Kinoshita, S. and Aihara, M. (2003). Production of CTX-M3 Extended-spectrum *B*-lactamases & IMP-1 metallo- *B*-lactamases by five gram-ve bacilli.J. Antimicrob. Agent. Chemother., 51: 631-638.

**5-** Queenan,A.M, Torres-Viera, C., Gold, H.S., Carmeli, Y., Eliopoules, G.M., Moellering, R.C., Hindler, J.P., Medeiros, A.A. and Bush, K. (2000). SME-Type carbapenem –hydrolyzing class A *B*-lactamase from geographically diverse Serratis marcescens strains . Antimicrob. Agents and Chemoth. 44(11)3034.

**6-** Raimondi, A., Sisto, F. and Nikaido, H. (2001).Mutation in Serratia marcescens AmpC *B*-Lactamase Producing High Level

Resistance to Ceftazidime and Cefpirome. J. Antimicrob. Agent. Chemoth., 45(8): 2331-2339.

**7-** Baraniak, A.; Fiett, J., Sulikowska, A., Hryniewcz, W. and Gniadkowski, M. (2002): Countrywide spread of CTX-M-3 Extended-Spectrum- *B*-Lactamase-Producing Entero-bacteriaceae in Poland.J. Antimicrob. Agent. Chemoth., 46(1): 151-159.

**8-** Doi, Y.; Yokoyama, K., Yamane, K., Shibata, N., Yagi, T. and Arakawa, Y. (2004).Plasmid-mediated 16$ rRNA methylase in *Serratia marcescens*. J.Antimicrob.Agent. Chemoth., 48(2): 491-496.

**9-** Katoh-Kanno,R., Kimura, M., Ikeda, T. and Kiumras, S. (1986).Survey of modifying enzymes and plasmids in amidacin resistant *Serratia marcescens*. Microbi. and Immun. 30(60):509.

**10-** Farrar,W.E. and O'Dell, N.M. (1976). *B*-Lactamases and resistance to pencillins and cephalosporins in *Serratia marcescens* .J.of Infectious Disease 134:245.

**11-** Bush,K.(1989). Characterization of B-lactamases.J. Antimicrob. Agents and Chemoth. 33(3):259.

**12-** Farzaneh A, Kou-San, J. , Jozsef, L. , Bruce, D. H . and Sun, G. (2008). Antibacterial colorants: characterization of prodiginines and their applications on textile materials. Biotech. Prog. 24: 742-□747.

**13-** Katz, D.S. and Sobieski, R.J. ( 1979). Detection of pigment precursor in white clinical strains of *Serratia marcescens* . J. clin. Microbi. 9: 301

**14-** Tamzin G., Fineran, P. C., Everson, L. and Salmond, G. P. C. (2008). PigZ, aTetR/AcrR family repressor, modulates secondarymetabolism via the expression of a putative four-componentresistance-nodulation-cell-division efflux pump, ZrpADBC,in Serratia sp. ATCC 39006. Mol. Microbi.69(2):418–435.

**15-** Stukkus,P.E.(1997).Investigating microbiology:A laboratory manual for general microbiology .ISBN: 0-03-018394-4,Saunders college publishing.Kobayashi, N. & Ichikawa, Y. A protein associated withprodigiosin formation in *Serratia marcescens*.Microbiol. Immunol. 33, 257–263 (1989).

**16-** Feng,J.S., Webb, J.W. and Tsang, J.C. (1975).Enhancement by sodium dodecyl sulfate of pigment formation in *Serratia marcescens* 08. App. and Envi., Microbi.,43(4):850-853.

**17-** Collee, J.K., Fraser, A.G., Marimon, B.P. and Simmons, A. (1996) . Culture Tests and Media . in Macki and Mak Cartney Practical Medical Microbiology ,(eds.) Churchill Livingaston.(14th ed.).

**18-** Haddix, P.L. and Werner, T.F.(2001). Specrophotometric assay of gene expression : *Serratia marcescens* pigmentation .Bioscene,26(4):3-12.

**19-** Aucken,H.M.and Pitt, T.L.(1998).Antibiotic resistance and putative virulence factors of *Serratia marcescens* with respect to O and K serotype.J.Med.Microbiol.47:1105-1113

**20-** Chang,C. , Molar, R.E. and Tsang, J.C. (1972). Lipid content of antibiotic-resistant and-sensitive strains of *Serratia marcescens*., 24(6): 972-976.

**21-** TakujiNakashima , Kato, Y., Yamaguchi, K. and Oda, T. (2005). Characterization of bacterium isolated from the sediment at coastal area of Omura Bay in Japan and several biological activities of pigment produced by this isolate. Microbiol. Immunol.49(5)407-415.

**22-** Shieh, W. Y., Yi-Wen Chen, Shu-Miaw Chaw and Hsiu-Hui Chiu(2003). Vibrio ruber sp. nov., a red, facultatively anaerobic,marine bacterium isolated from sea water.J. Inter. Syste. and Evolu. Microbi., 53: 479–484.

**23-** Allen,R.G., Reichelt, J.L. and Grayv, P.R. (1983). Influence of environmental factors and medium composition on *Vibrio gazogenes* growth and prodigiosin production applied and environmental, Microbi., 45(6):1727-1732.

**24-** Fuqua, W.C., Winans, S.C. and Greenberg, E.P. (1996).Census and consensus in bacterial ecosystems theLuxRLuxI family of quorum sensing transcription alregulators. Annual Review of Microbiol.50:727-751.

**( تاريخ استلام البحث ).....( ٥ /٣/ ٢٠٠٩ )**
**(تاريخ قبول نشر البحث).....( ١/٦/ ٢٠٠٩ )**