

## انتشار وتوزيع صفة المقاومة تجاه المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة وامتلاك عوامل الضراوة في بعض افراد البكتريا المعوية المعزولة من مصادر مختلفة

محسن ايوب عيسى\* محمد امير عبدالله\*\*

\*قسم علوم الحياة / كلية العلوم / جامعة الموصل

\*\*قسم الاحياء المجهرية / كلية طب نينوى / جامعة نينوى

E-mail: drmuhsin68@yahoo.com

(أستلم 20 / 6 / 2018 ؛ قُبل 1 / 11 / 2018)

### الملخص

اجري هذا البحث بهدف دراسة انتشار وتوزيع صفة المقاومة لبعض المضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة وامتلاك عوامل الضراوة في عزلات البكتريا المعوية *Escherichia coli* و *Salmonella typhimurium* المعزولة من مصادر مختلفة. وأظهرت نتائج اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية تباينا واضحا في توزيع وانتشار صفة المقاومة في العزلات الماخوذة من مصدر واحد، او من مصادر متعددة لكل من بكتريا *Escherichia coli* و *Salmonella typhimurium*، كما أن معظم العزلات المدروسة قاومت المضادات الحيوية وبصورة أكثر شيوعا Ampicillin و Erythromycin و Amoxicillin. وفيما يتعلق بأملاح المعادن الثقيلة ك (كلوريد الزئبق وكلوريد النيكل وكلوريد الكوبلت وكلوريد الكاديوم وكبريتات النحاس) فقد أظهرت العزلات المدروسة من مصادرها المختلفة مقاومة واضحة تجاه هذه المعادن، وان أعلى نسبة مقاومة لعزلات البكتريا *Escherichia coli* و *Salmonella typhimurium* كانت تجاه كلوريد النيكل 93.3% و 73.3% على التوالي، كما تباين توزيع وانتشار هذه الصفة باختلاف العزلة ومصدر العزل. وتبين من خلال النتائج الخاصة بالتحري عن امتلاك العزلات المدروسة لبعض عوامل الضراوة (الهيموليسين، البروتيز، اليوريز، الجيلاتينيز) أن إنتاج الهيموليسين كان شائعا في العديد من عزلات نوعي البكتريا، كذلك البروتيز في بعض عزلات *Escherichia coli* وقد تباين توزيع عوامل الضراوة هذه باختلاف العزلات ومصدر العزل، بينما تبين عدم امتلاك العزلات المدروسة لبقية عوامل الضراوة.

الكلمات الدالة: المضادات الحيوية المعادن الثقيلة، عوامل الضراوة، البكتريا المعوية.

---

## Spread and Distribution Antibiotics and Heavy Metals Resistance and Virulence Factors Possession in Some Members of Enterobacteria Isolated from Various Sources

Muhsin A. Essa\*

Mohammed A. Abdulah\*\*

\*Department of Biology /College of Science / University of Mosul

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

## ABSTRACT

This study was conducted in an attempt to investigate the spread and the distribution of antibiotics and heavy metals resistance characteristic and virulence factors possession in some Enterobacteria *Escherichia coli* & *Salmonella typhimurium* isolated from various sources.

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

The heavy metals ( $\text{CuSO}_4$ ,  $\text{CoCl}_2$ ,  $\text{NiCl}_2$ ,  $\text{CdCl}_2$  and  $\text{HgCl}_2$ ) sensitivity results showed a clear resistance against these metals salts and the highest percentage of the *E. coli* and the *S. typhimurium* was against  $\text{NiCl}_2$  which was (93.3%) and (73.3%) respectively. Also the distribution and the spread of this feature was variant based on the isolate and the source of the isolate.

From the results of investigating some virulence factors (Haemolysin, Protease, Urease and Gelatinase) results showed that the production of Haemolysin was common amongst many isolates of the two types of bacteria and the same was for the Protease in the *Escherichia coli*. The distribution of the virulence factors varied according to the isolates and the sources of these isolates, while results showed that the isolates do not have the other studied virulence factors.

**Keywords:** Antibiotics, Heavy metals, Virulence factors, Enterobacteria.

## المقدمة

تعد مقاومة المضادات الحيوية في البكتيريا من المشاكل الكبيرة والهامة التي تواجهها مجتمعاتنا، إذ إن الاستعمال الواسع والعشوائي وغير المنتظم أحيانا للمضادات الحيوية في الطب البشري وغيرها من الاستخدامات أدى إلى تطور وانتشار المقاومة ليس في عزلات الإنسان والحيوان فحسب ولكن أيضا في البيئة (Tollefson *et al.*, 2008). إن مقاومة المضادات الحيوية خاصة بين أفراد البكتيريا المعوية تشكل تهديدا على الصحة العامة، إذ أن أفراد العائلة المعوية توجد في بيئات ومضاييف متنوعة مثل الماء والتربة والنباتات والإنسان والحيوانات وتسبب إصابات خطيرة للإنسان (Andres *et al.*, 2005). وقد تكون مقاومتها طبيعية أو مكتسبة، اما الطبيعية فتعتمد على الفلسجة والخواص الوراثية للبكتيريا أو على التركيب الكيميائي للمضاد والية عمله، بينما المكتسبة فتعتمد على الطفرات الوراثية التي قد تسبب ظهور جينات المقاومة وتنتقل عبر الأجيال والسلالات من نفس النوع أو بين أنواع مختلفة ضمن نفس العائلة، أو عن طريق اكتساب جينات المقاومة من بكتيريا إلى أخرى (Rachakonda and Cartee, 2004)، بواسطة النقل الأفقي للجينات بواسطة البلازميدات التي تؤدي دورا مهما في مقاومتها للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة (Baquero *et al.*, 2008). واصبح التلوث بالمعادن الثقيلة إحدى اخطر المشاكل البيئية التي انتشرت بسبب التقدم الصناعي الناجم عن النشاط البشري ، ان التركيز العالي لهذه المعادن له تأثير سلبي على النشاطات الوظيفية للمجتمعات البكتيرية في البيئة التي تتعرض لتراكيز عالية من المعادن الثقيلة السامة بطريقة او بأخرى، وبذلك طورت البكتيريا آليات مقاومة ضد المستويات العالية لهذه المعادن ومن ضمنها مقاومة الضغط المعدني، وتحمل أيونات المعادن (Khan *et al.*, 2009; Pandit *et al.*, 2013) وهناك علاقة ما بين مقاومة المعادن الثقيلة ومقاومة المضادات الحيوية اذ اظهرت دراسات عديدة بأن سلالات البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية قد تظهر مقاومة للمعادن ايضا، ومما يؤدي الى تفاقم المشكلة وزيادة خطورتها هو امتلاكها لعوامل ضراوة مثل انتاجها لأنزيمات كالهيموليسين والبروتيز والبوريز والجيلاتينيز (Katzung, 2004; Akinbowale *et al.*, 2007).

ونظراً لكون صفة المقاومة العلاجية وامتلاك عوامل الضراوة المختلفة هي من أهم مظاهر الخطورة لدى الجراثيم المعوية لذلك فإن إمكانية انتقال هذه الصفات من جرثومة إلى أخرى يعد مؤشراً خطيراً على تطور وانتشار العزلات البكتيرية المرضية الضارية والأمراض المرتبطة بها وانعكاس ذلك على الصحة العامة للمجتمع، ولأجل تسليط الضوء على هذا الموضوع، لأهميته الصحية والبيئية فقد هدفت الدراسة الحالية إلى دراسة توزيع وانتشار صفة المقاومة للعلاجات والمعادن الثقيلة وامتلاك عوامل الضراوة بين عزلات بعض البكتريا المعوية المعزولة من المصادر المختلفة.

### المواد وطرائق العمل

#### 1- المواد

##### العزلات البكتيرية

استخدمت في هذه الدراسة 15 عزلة من كل من بكتريا *Escherichia coli* وبكتريا السالمونيلا *Salmonella typhimurium* بواقع خمس عزلات لكل منها معزولة من بيئة المستشفيات وخمس عزلات معزولة من مياه المجاري وخمس عزلات من عينات سريرية مرضية جميعها معزولة ومشخصة في قسم علوم الحياة /كلية العلوم / جامعة الموصل.

##### الأوساط الزرعية

الاسواط الزرعية الواردة في هذه الدراسة أُعدت وفقاً لما ورد في (Cruickshank,1975; MacFaddin,2000) او حسب تعليمات الشركة المصنعة لها.

##### أقراص المضادات الحيوية

أُستخدِمَت عشرة مضادات حيوية مجهزة من شركة Bioanalyse التركيبية مبينة مع تراكيزها في (الجدول 1).

#### الجدول 1: نوع وتركيز المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة

الرمز والتركيز (µg)	المضاد الحيوي	ت	الرمز والتركيز (µg)	المضاد الحيوي	ت
E <sub>30</sub>	Erythromycin	6	CN <sub>10</sub>	Gentamycin	1
TE <sub>10</sub>	Tetracyclin	7	NA <sub>30</sub>	Nalidixic acid	2
AMP <sub>25</sub>	Ampicillin	8	CIP <sub>10</sub>	Ciprofloxacin	3
AK <sub>30</sub>	Amikacin	9	AX <sub>25</sub>	Amoxicillin	4
CTX <sub>10</sub>	Cefotaxime	10	TMP <sub>25</sub>	Trimethoprim	5

#### املاح المعادن الثقيلة

املاح المعادن الثقيلة.  $HgCl_2$  و  $CdCl_2$  و  $NiCl_2$  و  $CoCl_2$  و  $CuSO_4$  المستخدمة في هذه الدراسة تم الحصول عليها من قسم الكيمياء /كلية العلوم / جامعة الموصل.

#### 2- طرائق العمل

##### اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

أخضعت جميع العزلات البكتيرية لفحص الحساسية للمضادات الحيوية لدراسة تأثيرها في 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 Bauer-Kirby (Bauer et al., 1966) التي اعتمدها منظمة الصحة العالمية (Vandepitte et al., 2003).

#### اختبار الحساسية لاملاح المعادن الثقيلة

تم تحضير أوساط املاح المعادن الثقيلة عن طريق اذابة هذه الاملاح في الماء المقطر المعقم للحصول على تركيز خزين 25 ملغم/مل وحفظت في درجة حرارة 4 م°، ثم اضيفت الى وسط الاكار المغذي المعقم والمبرد الى درجة (45-50) م° ولقحت العزلات بطريقة التخطيط وحضنت الأطباق عند 37 م° لمدة 24 ساعة ومن ثم تم تحديد حساسية ومقاومة العزلات البكتيرية لاملاح المعادن الثقيلة (Grant and Pittard, 1974).

#### اختبارات الكشف عن عوامل الضراوة المدروسة

استندت طرائق العمل في هذه الاختبارات الى (Cruickshank, 1975; MacFaddin, 2000) على النحو الآتي:

- اختبار إنتاج الأنزيم المحلل لليوريا **Urease Test**
- اختبار تحلل الدم **Haemolysin test**
- اختبار إنتاج أنزيم البروتيز **Protease production test**
- اختبار إنتاج الأنزيم المميع للجيلاتين **Gelatinase test**

#### النتائج والمناقشة

توزيع صفة المقاومة للمضادات الحيوية في عزلات البكتريا المعوية المدروسة :

أخضعت جميع عزلات بكتريا *E.coli* و *Salmonella typhimurium* المعزولة من المصادر المختلفة لاختبار الحساسية للمضادات الحيوية لمعرفة صفة المقاومة بين العزلات ذات المصدر الواحد او ضمن المصادر المختلفة . ويوضح (الجدولان 2 و 3) ان هنالك 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. إن وجود نسب مقاومة عالية في البكتريا المعزولة وضد عدد كبير من المضادات الحيوية قد يعود إلى الاستعمال العشوائي وغير المسيطر عليه في الإنسان، اذ كان له تأثير في ظهور البكتريا المقاومة للمضادات وانتشار محددات مقاومة المضادات في المجتمعات البكتيرية وإن الاستعمال الشامل للمضادات في الغذاء الحيواني أدى إلى إنتاج مخزن للبكتريا المقاومة للعلاج في القناة المعوية للحيوانات والتي يمكن أن تنتقل إلى الإنسان عن طريق السلسلة الغذائية (Cheong et al., 2014).

وبالنسبة لنمط المقاومة المنفردة الذي يمثل مقاومة العزلات المختلفة للمضاد الواحد، يلاحظ في حالة عزلات بيئة المستشفى لبكتريا *E.coli* و *Salmonella typhimurium* ، أن جميع عزلات *E.coli* كانت حساسة بشكل مطلق (100%) للمضادات الحيوية Cefataxime، Tetracycline وCiprofloxacin، Nalidixacid، بينما كانت مقاومة بشكل مطلق (100%) للمضاد الحيوي Amoxicillin، وتباين نمط مقاومتها للمضادات الأخرى اذ أظهرت مقاومة عالية بنسبة 80% للمضادين Ampicilin وTrimethprim، أما مضادات Erythromycin وGentamycin و Amikacin فكانت نسبة مقاومتها 60% و 40% و 20% على التوالي.

كذلك الحال بالنسبة لبكتريا *Salmonella typhimurium* لمعزولة من بيئة المستشفيات، إذ لوحظ مقاومتها العالية بنسبة 80% للمضادين Ampicilin و Erythromycin وحساسيتها المطلقة للمضادات الحيوية Trimethprim و Ciprofloxacin و Amikacin و Cefataxime، أما مضادات Amoxicillin و Tetracycline و Nalidixacid و Gentamycin فكانت نسبة مقاومتها 20%.

الجدول 2: نتائج فحوصات الحساسية لعزلات بكتريا *E.coli* تجاه المضادات الحيوية المدروسة.

Sensitive = S (حساسة)

Resistance = R (مقاومة)

المضادات الحيوية										مصدر العزل	ت
CTX	AK	NA	CN	AMP	CIP	Ery	TMP	AX	TE		
S	S	S	S	R	S	S	R	R	S	المستشفيات	1
S	S	S	S	R	S	R	R	R	S		2
S	R	S	R	S	S	R	S	R	S		3
S	S	S	R	R	S	S	R	R	S		4
S	S	S	S	R	S	R	R	R	S		5
%0	%20	%0	%40	%80	%0	%60	%80	%100	%0	% للمقاومة المنفردة	
R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	المستشفيات	6
S	S	R	R	R	S	R	R	R	S		7
S	R	S	S	R	S	R	R	R	S		8
S	S	R	S	R	S	R	S	R	S		9
S	R	S	S	R	S	R	S	R	R		10
%20	%60	%60	%40	%100	%0	%100	%40	%100	%20	% للمقاومة المنفردة	
R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	المستشفيات	11
S	S	R	S	R	S	R	S	R	R		12
R	R	S	S	R	S	R	R	R	S		13
S	R	S	S	R	S	R	S	R	S		14
S	S	S	R	R	S	R	R	S	R		15
%40	%40	%40	%20	%100	%0	%100	%40	%80	%40	% للمقاومة المنفردة	
%20	%40	%.33	%.33	%.93	%0	%.86	%.53	%.93	%20	% للمقاومة المنفردة الكلية	

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 فيما يسمى بالتميط بالمقاومة Resistotyping لغرض التحري عن السلالات المسببة للموجات الوبائية لبعض الأمراض والتحري عن مصادرها. وتشير الدراسات إلى انتشار صفة المقاومة للمضادات والعلاجات بين عزلات المستشفيات ومنها بكتريا *E.coli* و *Salmonella typhimurium*، حيث أكد الباحث (Yismaw et al., 2010) أن عزلات *E.coli* المعزولة من بيئة المستشفى أظهرت مقاومة بنسبة 47% للمضاد Gentamycin ونسبة 33% لمضاد Ciprofloxacin وتتفق نسبة مقاومة المضاد Gentamycin مع النتائج التي حصلنا عليها وتختلف بالنسبة للمضاد Ciprofloxacin إذ كانت نسبة المقاومة أكثر مما حصلنا عليه، وأظهرت دراسة الباحث (Aluyi et al., 2013) على عزلات *E.coli* من ردهات المستشفيات مقاومتها لمضاد Amoxicillin بنسبة 71.4% ومضاد Tetracycline بنسبة 42.9% ونسبة مقاومة مضاد Nalidixacid كانت 32.1% ، وأظهرت حساسية عالية بنسبة 100% لمضاد Ciprofloxacin.

الجدول 3 : نتائج فحوصات الحساسية لعزلات بكتريا *Salmonella typhimurium* تجاه المضادات الحيوية المدروسة.

المضادات الحيوية										مصدر العزل	ت
CTX	AK	NA	CN	Ery	CIP	AMP	TMP	AX	TE		
S	S	S	S	R	S	R	S	S	S	بيئة المستشفيات	1
S	S	R	S	R	S	S	S	R	S		2
S	S	S	S	S	S	R	S	S	R		3
S	S	S	S	R	S	R	S	S	S		4
S	S	S	R	R	S	R	S	S	S		5
%0	%0	%20	%20	%80	%0	80%	%0	%20	%20	% للمقاومة المنفردة	
S	S	R	S	S	S	R	S	R	S	السريية	6
S	S	S	S	R	S	S	S	S	R		7
S	S	S	S	R	S	R	S	R	S		8
S	S	S	S	S	S	R	R	R	R		9
S	S	R	S	R	S	S	S	S	R		10
%0	%0	%40	%0	%60	%0	%60	%20	%60	%60	% للمقاومة المنفردة	
S	S	R	S	R	S	S	S	R	R	مياه المجاري	11
S	S	S	R	S	S	R	R	R	S		12
S	S	R	S	S	S	S	R	R	S		13
S	S	S	R	R	S	R	S	R	S		14
S	S	R	S	R	S	S	R	S	R		15
%0	%0	%60	%40	%60	%0	%40	%60	%80	%40	% للمقاومة المنفردة	
%0	%0	%40	%20	%66.6	%0	%60	%26.6	%53.3	%40	% للمقاومة المنفردة الكلية	

Sensitive = S (حساسة)

Resistance = R (مقاومة)

وأوضح الباحث (2013) Muhammed *et al.*, في دراسته على عزل بكتريا *Salmonella* من بيئة المستشفيات إنها مقاومة لمضادي Gentamycin و Amoxicillin بنسب 84.2% و 69.2% على التوالي، في حين أظهرت حساسية عالية بنسبة 100% لمضاد Ciprofloxacin.

بالعودة الى (الجدولين 2 و 3) 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 (20%) في العزلات المرضية لبكتريا *E. coli* و (60%) في بكتريا *Salmonella*. وكانت نسبة المقاومة لهذا المضاد في عزلات مياه المجاري لبكتريا *E. coli* و *Salmonella* هي (40%). كما تباينت نسبة المقاومة فيما يتعلق بالمضادات الأخرى. وهذا الأمر يعكس التباين في توزيع صفة المقاومة لهذه المضادات باختلاف مصدر العزل. وان هذه الصفة منتشرة بشكل واسع في العزلات المرضية والبيئية لهاتين الجرثومتين. وأوضحت الباحثة العكيدي (2008) أن أنماط بكتريا *E. coli* المعزولة من حالات الإسهال أظهرت مقاومة بنسبة 100% لمضاد Erythromycin ، في حين أظهرت مقاومة لمضادات Tetracycline و Ampicilin و Trimethprim بنسبة 70% وأظهرت مقاومة لمضادي Amoxicillin و Gentamycin بنسبة 50% أما مضاد Ciprofloxacin فكانت نسبة مقاومته 0%. وفي دراسة في الأردن على أطفال مصابين بالإسهال أكد الباحث (2011) Alshara إن عزلات *E. coli* أظهرت مقاومة عالية لمضاد Ampicilin بنسبة 84% ومضاد Nalidixacid بنسبة 47.3% وأظهرت نسب مقاومة منخفضة لمضادات Gentamycin و Ciprofloxacin و Cefataxime إذ كانت 17.3% و 14.5% و 11% على التوالي.

بينما بينت نتائج دراسة الباحثين (2013) Manikandan and Amsath على عزلات *Salmonella* من حالات إسهال امتلاكها مقاومة عالية لمضادي Ampicilin و Amoxicillin بنسبة 90.9% وأظهرت مقاومة منخفضة بنسبة 18.2% لمضاد Nalidixacid في حين أظهرت حساسية مطلقة لمضادات Ciprofloxacin و Amikacin و Gentamycin و Cefataxime بنسبة 100%.

وفيما يتعلق بمياه المجاري، أشار الباحث (2012) Abo-state *et al.*, إن عزلات *E. coli* من مياه المجاري أظهرت مقاومة عالية بنسبة 100% لمضادي Ampicilin و Erythromycin وأظهرت مقاومة 39.5% لمضاد Tetracycline بينما كانت حساسة بنسبة 100% لمضادي Amikacin و Cefataxime.

كما أكد الباحث (2012) Oubrim في دراسته على بكتريا *Salmonella* المعزولة من مياه المجاري مقاومتها لمضادي Ampicillin و Tetracycline بنسب 70.8% و 58.3% على التوالي، في حين أظهرت كل العزلات حساسية مطلقة للمضادات Gentamycin و Ciprofloxacin و Amikacin و Cefataxime.

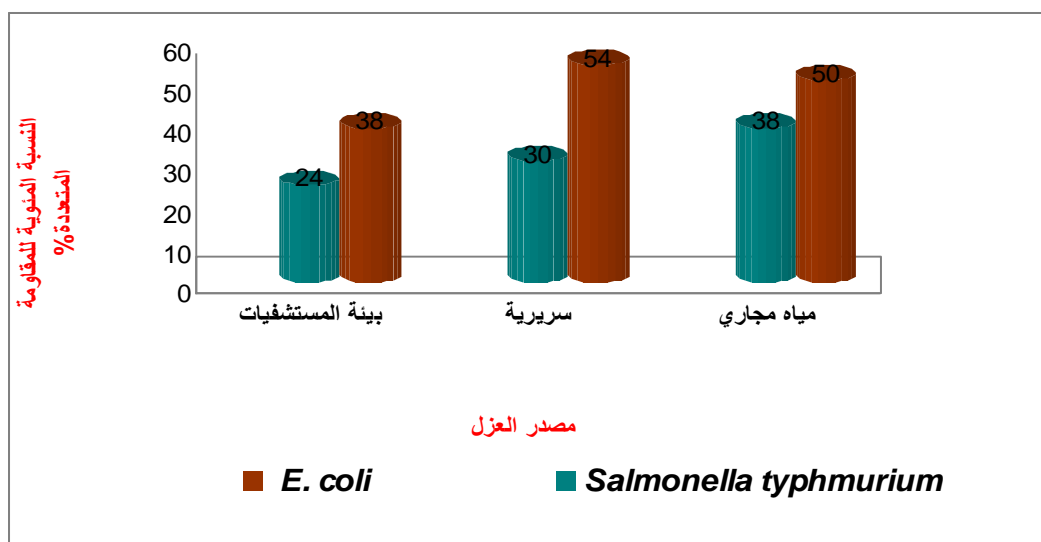
وأظهرت نتائج دراسة الباحث (2012) Eze أن عزلات *E. coli* من مياه المجاري مقاومة 33.33% لمضاد Ampicilin و 11.11% لمضاد Gentamycin وحساسية عالية بنسبة 100% لمضادي Ciprofloxacin و Nalidixacid ، في حين أن عزلات *Salmonella* من مياه المجاري أظهرت مقاومة 16% لمضاد Ampicilin و 8% لمضاد Ciprofloxacin وحساسية عالية مطلقة 100% لمضادي Nalidixacid و Gentamycin.

ويقترح التنوع الضخم لحينات مقاومة المضادات الحيوية في بكتريا امعاء الإنسان بأن البكتريا المقاومة للمضادات في هذه البيئة انها تعمل بوصفها خزناً لجينات مقاومة المضادات الحيوية، إذ أثبتت دراسة الباحث (2014) Fouhy *et al.*, بأن امعاء الإنسان يمكن أن تعد مصدراً لهذه الجينات إذ انها تنتقل مع البكتريا الممرضة الى البكتريا المتعايشة في امعاء الانسان وتسبب مقاومة المضادات وفشل العلاج مستقبلاً (Licht and Wilcks, 2005). ووجود المضادات الحيوية في مياه المجاري يمكن أن تؤدي إلى

ظهور بكتريا مقاومة للمضادات الحيوية من خلال الضغط الانتخابي، حيث إن المضادات الحيوية لا تؤيض بشكل كامل في جسم الإنسان أو الحيوان الذي عولج بالمضادات، إن 30% و 90% من الجرعات التي تعطى للإنسان تطرح مع البول والخروج كمواد فعالة تسمح بنمو البكتريا المقاومة وتنشط البكتريا الحساسة، وان آليات النقل الأفقي تسمح بتنوع عالٍ للبكتريا المقاومة للمضادات الحيوية في البيئات المائية الملوثة. لذا تعد مياه المجاري مستنماً رئيساً للبكتريا المعوية المقاومة للعلاج المتعدد وموقفاً مهماً لنقل الجين الأفقي لتوفر المواد الغذائية والتجمعات العالية للبكتريا (Baquero *et al.*, 2008).

وبالرجوع الى (الجدولين 2 و 3) وملاحظة نسبة المقاومة المتعددة وانتشارها بين عزلات البكتريا المدروسة من المصادر المختلفة يلاحظ إن جميع هذه العزلات امتلكت صفة المقاومة المتعددة للمضادات وان الاختلاف كان في عدد المضادات ونوعها، حيث أظهرت عزلات *E.coli* نسبة مقاومة عالية مقارنة بعزلات *Salmonella*، 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 منححت البكتريا ألفة عالية تمكنها من مقاومة الظروف الصعبة والازدهار في بيئات مختلفة (Cruickshank *et al.*, 1975).

وأظهرت النتائج إن عزلات بكتريا *E.coli* المعزولة من حالات سريرية ومياه مجاري كانت نسبة مقاومتها المتعددة عالية حيث كانت 54% و 50% على التوالي، في حين كانت نسبة المقاومة المتعددة لعزلات *E.coli* المعزولة من بيئة المستشفيات 38% شكل (1)، أما عزلات *Salmonella* المعزولة من مياه المجاري فكانت نسبة مقاومتها المتعددة 38% بينما كانت نسبة المقاومة المتعددة لعزلاتها من حالات مرضية وبيئة المستشفيات 30% و 24% على التوالي.



الشكل 1: النسب المئوية للمقاومة المتعددة لعزلات بكتريا *E.coli* و بكتريا *Salmonella typhimurium* تجاه عدد من المضادات الحيوية المدروسة.

وان سبب المقاومة المتعددة قد تكون ناشئة من الطفرات التلقائية أو عن طريق انتقال بلازميدات أو جينات قافزة أو غيرها وتمتلك أهمية كبيرة في نشر المقاومة التي قد تنتقل من كروموسوم إلى بلازميد وهذا قد يفسر انتقال بعض الأنزيمات المسؤولة عن مقاومة المضادات إلى البلازميدات وبالتالي نشرها بين الأنواع البكتيرية عن طريق آليات نقل الجين الأفقي التي تشمل الاقتران البكتيري والتحول الوراثي والتوصيل (Selim and Hagag, 2013).



## توزيع صفة المقاومة لاملاح المعادن الثقيلة في عزلات البكتريا المعوية المدروسة:

توضح (الجدول 4 و 5) مقاومة البكتريا المعوية المدروسة لاملاح المعادن الثقيلة  $HgCl_2$  و  $CdCl_2$  و  $NiCl_2$  و  $CoCl_2$  و  $CuSO_4$  اذ أظهرت بكتريا *E.coli* بصورة عامة مقاومة عالية بنسبة 93.3% لـ  $NiCl_2$  وبنسبة 80% لـ  $HgCl_2$  وأظهرت مقاومة بنسبة 73.3% لكل من  $CdCl_2$  و  $CuSO_4$  وبنسبة مقاومة 53.3% لـ  $CoCl_2$ . وبينت دراسة الباحث (2003) Karbasizaed *et al.*, في دراستهم على بكتريا *E.coli* المعزولة من عدوى المستشفيات أن البكتريا كانت مقاومة للمضادات الحيوية واملاح المعادن الثقيلة. وأكدت ذلك دراسة الباحث (2013) Alboghobeysh *et al.*, على عزلات *E.coli* من مياه المجاري حيث كانت مقاومة لاملاح المعادن  $Cu, Ni, Cd$  ومقاومة للمضادات الحيوية وهذا يماثل ما حصلنا عليه من نتائج. في حين أظهرت بكتريا *Salmonella* مقاومة بنسبة 73.3% لـ  $NiCl_2$  ومقاومة بنسبة 66.6% لـ  $CuSO_4$  وأظهرت نسبة مقاومة 60% لاملاح المعادن الثقيلة  $HgCl_2$  و  $CoCl_2$  و  $CdCl_2$ . وتؤكد العديد من الدراسات انتشار صفة مقاومة املاح المعادن الثقيلة في بكتريا *E.coli* بكتريا *Salmonella*، حيث أوضحت الباحثة الدليمي (2005) في دراستها أن جميع عزلات بكتريا *E.coli* من حالات الإسهال كانت مقاومة لـ  $HgCl_2$  و  $CdCl_2$ ، كما أوضح الباحث (2012) Tamil Selvi *et al.*, في دراستهم على عزلات *E.coli* من مياه مجاري أنها مقاومة بنسبة 30% للمعدن الثقيل  $Cu$  و 55% للمعدن الثقيل  $Hg$ . وأشار الباحث (2011) Tulayakul *et al.*, الى أن عزلات *Salmonella* و *E.coli* المعزولة من مياه المجاري أظهرت مقاومة لكل من  $Cu, Cd$ .

الجدول 4: نتائج فحوصات الحساسية لعزلات بكتريا *E.coli* تجاه املاح المعادن الثقيلة المدروسة.

املاح المعادن الثقيلة					مصدر العزل	ت
$CuSO_4$	$CoCl_2$	$CdCl_2$	$NiCl_2$	$HgCl_2$		
R	R	S	R	S	مياه المجاري	1
R	S	R	R	R		2
R	S	S	R	R		3
S	R	R	S	R		4
S	S	R	R	R		5
<b>%60</b>	<b>%40</b>	<b>%60</b>	<b>%80</b>	<b>%80</b>	<b>% للمقاومة المنفردة</b>	
R	R	R	R	R	مياه السيارات	6
R	R	R	R	S		7
R	S	S	R	R		8
S	R	R	R	R		9
R	S	R	R	R		10
<b>%80</b>	<b>%60</b>	<b>%80</b>	<b>%100</b>	<b>%80</b>	<b>% للمقاومة المنفردة</b>	
R	S	R	R	R	مياه السيارات	19
R	R	R	R	R		20
S	R	R	R	R		21
R	R	S	R	R		22
R	S	R	R	S		23
<b>%80</b>	<b>%60</b>	<b>%80</b>	<b>%100</b>	<b>%80</b>	<b>% للمقاومة المنفردة</b>	
<b>%73.3</b>	<b>%53.3</b>	<b>%73.3</b>	<b>%93.3</b>	<b>%80</b>	<b>% للمقاومة المنفردة الكلية</b>	

Resistance = R

Sensitive = S (حساسية)

(مقاومة)

يلاحظ كذلك من النتائج تباين في توزيع صفة المقاومة لأملاح المعادن الثقيلة ضمن عزلات المصدر الواحد للبكتريا نفسها وكذلك عزلات المصادر المختلفة كما تباينت نسب المقاومة لهذه الاملاح بين عزلات نوعي البكتريا المعوية، ومن ثمَّ فإنَّ هذه النتائج تعكس تنوعا واضحا في توزيع هذه الصفة ضمن العزلات المدروسة كما يتضح كذلك انتشار وشيوع هذه الصفة بنسبة مرتفعة في هذه العزلات. إن مقاومة المعادن ترجع إلى وجود آليات مقاومة متنوعة إما عن طريق الاختلاف في أخذ أو طرح المعادن عن طريق أنظمة التدفق أو تحويل المعادن أنزيميا (عن طريق الأكسدة والاختزال والميثلة وإزالة المثيل) إلى مركبات قد تكون اقل سُمِّية أو قلقة أكثر من المركب الأصلي (Kamala-Kannan and Lee, 2008).

الجدول 5: نتائج فحوصات الحساسية لعزلات بكتريا *Salmonella typhimurium* تجاه املاح المعادن الثقيلة المدروسة.

املاح المعادن الثقيلة					مصدر العزل	ت
Cuso <sub>4</sub>	CoCl <sub>2</sub>	CdCl <sub>2</sub>	NiCl <sub>2</sub>	HgCl <sub>2</sub>		
R	S	R	S	S	المستشفيات بغداد	1
S	R	R	R	S		2
R	S	S	S	R		3
S	R	S	R	S		4
R	S	S	R	R		5
%60	%40	%40	%60	%40	% للمقاومة المنفردة	
R	R	S	S	R	المستشفيات البيروت	6
R	S	R	R	R		7
S	R	R	R	S		8
R	R	R	R	S		9
R	R	R	R	R		10
%80	%80	%80	%80	%60	% للمقاومة المنفردة	
R	R	R	R	S	المستشفيات البيروت	11
S	S	R	R	R		12
R	R	S	S	R		13
R	S	S	R	R		14
S	R	R	R	R		15
%60	%60	%60	%80	%80	% للمقاومة المنفردة	
%66.6	%60	%60	%73.3	%60	% للمقاومة المنفردة الكلية	

Sensitive = S (حساسة)

Resistance = R (مقاومة)

كما بيّنت النتائج ان البكتريا المتحملة لملاح المعدن الثقيل النيكل كانت لها مقاومة عالية تجاه المضاد الحيوي Ampicillin، وهذه النتائج اتفقت مع نتائج الباحثة Christina et al., (2012) التي اظهرت بان التحمل المضاعف للمضاد- المعدن حصل بين المضاد Ampicillin والنيكل.

إن قدرة البكتريا على مقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة يمكن أن تسبب تعقيدات صحية خطيرة بسبب قدرة هذه الأحياء المجهرية على نقل جينات المقاومة بواسطة R-plasmid إلى البكتريا الأخرى والتي سوف تؤثر في المجتمع البكتيري وبذلك تسبب تعقيد المعالجة (Mgbemena et al., 2012)

#### توزيع عوامل الضراوة المدروسة في عزلات البكتريا المعوية المعزولة من مصادر مختلفة:

إن امتلاك البكتريا صفة المقاومة للمضادات الحيوية والمعادن الثقيلة يزيد من مشكلة الإصابات البكتيرية وعلاجها، ولكن امتلاك البكتريا للعديد من عوامل الضراوة المتمثلة بإنتاج الأنزيمات كالهيموليسين والبروتيز واليوريز والجيلانتيز وغيرها من عوامل الضراوة يزيد من خطورة هذه المشكلة وتعقيدها (Katzung, 2004).

وبيّنت النتائج الموضحة في (الجدولين 6 و 7) إن 6 عزلات من بكتريا *E.coli* كانت منتجة للهيموليسين بنسبة 40%، أما بخصوص بكتريا *Salmonella* فقد كانت 4 عزلات منتجة للهيموليسين 26.6%، حيث أظهرت النتائج إن عزلات بكتريا *E.coli* وبكتريا *Salmonella* المعزولة من حالات إسهال أظهرت أعلى نسبة إنتاج لأنزيم الهيموليسين حيث كانت 60% و 40% على التوالي.

وأظهرت النتائج أن خمس عزلات من بكتريا *E.coli* منتجة لأنزيم البروتيز 33.3%، وإن عزلات بكتريا *E.coli* المعزولة من حالات إسهال ومن بيئة المستشفى أظهرت أنّ أعلى نسبة إنتاج لأنزيم البروتيز كانت 40%. في حين لم تنتج أية عزلة من بكتريا *Salmonella* أنزيم البروتيز، أما قابلية إنتاج أنزيمي اليوريز والجيلانتيز فلم تنتج أية عزلة من بكتريا *E.coli* وبكتريا *Salmonella* المدروستين لهذين الإنزيمين، وكشفت هذه النتائج إن هناك تباينا واضحا في امتلاك هذه البكتريا لعوامل الضراوة الأمر الذي يعكس تنوعا أيضا في توزيع هذه الصفة سواء ضمن عزلات المصدر الواحد أو المصادر المختلفة للعزل.

وأكد الباحث الحسيني وآخرون (2009) إن عزلات *E.coli* من بيئة المستشفى كانت منتجة لأنزيم الهيموليسين بنسبة 60.5% وأنزيم البروتيز بنسبة 72%، في حين لم تنتج أية عزلة أنزيم اليوريز، كما أظهرت نتائج الباحث (Abskharon et al., 2009) أن عزلات *E.coli* من مياه المجاري لم تنتج أنزيمي اليوريز والجيلانتيز وهذا يماثل ما حصلنا عليه من نتائج، فيما أشار (Sharma et al., 2007) الى أن 4 عزلات *E.coli* من مجموع 152 أظهرت نتيجة موجبة لأنزيم الجيلانتيز وهذا يختلف عن نتائجنا، في حين أشارت دراسة الباحث (Doughari et al., 2011) الى أن 60% من عزلات *E.coli* المعزولة من مياه المجاري كانت منتجة لأنزيمي الهيموليسين والجيلانتيز. وأظهرت نتائج دراسة الباحث (El-Taib 2011) أن 75% من عزلات *Salmonella* من حالات إسهال كانت منتجة لأنزيم الهيموليسين.

الجدول 6: نتائج اختبارات الكشف عن بعض عوامل الضراوة المدروسة في عزلات بكتريا *E.coli*.

عوامل الضراوة				مصدر العزل	ت
البوريز	الجيلاتينيز	البروتيز	الهيمولايسين		
-	-	-	-	بيئة المستشفيات	1
-	-	+	+		2
-	-	-	-		3
-	-	-	-		4
-	-	+	-		5
%0	%0	%40	%20	% لوجود عامل ضراوة واحد	
-	-	+	+	سريزية	6
-	-	+	-		7
-	-	-	+		8
-	-	-	-		9
-	-	-	+		10
%0	%0	%40	%60	% لوجود عامل ضراوة واحد	
-	-	-	+	مياه المجاري	11
-	-	-	-		12
-	-	-	+		13
-	-	-	-		14
-	-	+	-		15
%0	%0	%20	%40	% لوجود عامل ضراوة واحد	
%0	%0	%33.3	%40	% الكلية لوجود عامل ضراوة واحد	

+ النتيجة الموجبة - النتيجة السالبة

نستنتج من خلال دراستنا الحالية بغض النظر عن مصدر العزلة أنّ السلالات البكتيرية قد يكون خطرها بدرجة واحدة، إذ إن عوامل الضراوة لم تقتصر على السلالات المرضية على الرغم من أن السلالات المرضية ربما لها خصائص ضراوة أكثر من السلالات البكتيرية من المصادر الأخرى التي يمكن أن تكون ضارية عند توفر الظروف المناسبة وتشكل خطراً على الصحة العامة. إن أكثر عزلات بيئة المستشفيات وبيئة مياه المجاري لا تختلف كثيراً بوجود عوامل الضراوة ومقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة عن السلالات المرضية، وبالتالي فإن الانتشار البيئي لهذه البكتريا المرضية يشكل تهديداً وخطراً على صحة الإنسان ويبدو أن مقاومة المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة وعوامل الضراوة تكون شائعة في البكتريا المعوية بغض النظر عن مصادر عزلها، ويسهم الإنسان في انتخاب الأحياء المجهرية المقاومة والضارية عن طريق سوء استعمال المضادات الحيوية ليس في المستشفيات فحسب ولكن أيضاً في الزراعة والطب البيطري وإطلاق النفايات الصناعية الحاوية على المضادات الحيوية والمعادن الثقيلة إلى البيئة، وتعد هذه البيئات

خزاناً جيداً للبكتريا المقاومة والضارية وجينات المقاومة التي تكون في مثل هذه البيئات قادرة على اكتساب وتبادل المحددات الوراثية المسؤولة عن مقاومة متعددة للعلاج وتحمل المعادن الثقيلة وعوامل الضراوة وتنقل إلى المستشفيات وبالعكس.

الجدول 7: نتائج اختبارات الكشف عن بعض عوامل الضراوة المدروسة في عزلات بكتريا *Salmonella typhimurium*.

عوامل الضراوة				مصدر العزل	ت
اليوريز	الجيلانتيز	البروتيز	الهيمولايسين		
-	-	-	-	بيئة المستشفيات	1
-	-	-	+		2
-	-	-	-		3
-	-	-	-		4
-	-	-	-		5
%0	%0	%0	%20	% لوجود عامل ضراوة واحد	
-	-	-	+	سريية	6
-	-	-	-		7
-	-	-	-		8
-	-	-	+		9
-	-	-	-		10
%0	%0	%0	%40	% لوجود عامل ضراوة واحد	
-	-	-	-	مياه المجاري	11
-	-	-	-		12
-	-	-	+		13
-	-	-	-		14
-	-	-	-		15
%0	%0	%0	%20	% لوجود عامل ضراوة واحد	
%0	%0	%0	%26.6	% الكلية لوجود عامل ضراوة واحد	

+ النتيجة الموجبة - النتيجة السالبة

#### المصادر العربية

الحسيني، رعد خليل؛ عبداللطيف، رعد؛ الجوفي، اقبال خضر (2009). دراسة إنتاجية بعض عوامل الضراوة لبعض البكتريا المعزولة من ردهات الاطفال الخدج. مجلة علوم المستنصرية. 20(2)، 1-9.

الدليمي، آلاء سعيد شيب (2005). تحييد محتوى الـ DNA البلازميدي في جرثومة *Escherichia coli* المعزولة من حالات إسهال الأطفال باستخدام الاكريدينات والريفامبين وتأثير السكريات في نمو الجرثومة. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

العكدي، أنغام جبار علوان سلمان (2008). التلوث الجرثومي لمياه الشرب في محافظة نينوى والتحري عن السلالة *E.coli* 0157:H7 وعلاقتها بمجالات إسهال الأطفال دون سن الخامسة. رسالة ماجستير، كلية العلوم، جامعة الموصل.

## المصادر الأجنبية

- Abo-State, M.A.; Mahdy, H.M.; Ezzat, S.M.; Abd El Shakour, E.H.; El-Bahnasawy, M.A.(2012). Antimicrobial resistance profiles of enterobacteriaceae isolated from rosetta branch of river Nile, Egypt. *World J.Appl.Sci.*,**19**(9),1234–1243.
- Abskharon, R.N.N.; Gad El-Rab, S.M.F.; Hassan, S.H.A.; Shoreit, A.A.M.(2009). Reduction of toxic hexavalent chromium by *E. coli*. *Global J.Biotech. Biochem.*, **4**(2), 98–103.
- Akinbowale, O.L.; Peng, H.; Grant, P.; Barton, M.D.(2007). Antibiotic and heavy metal resistance in motile aeromonads and Pseudomonads from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) farms in Australia. *Int.J.Antimicrob. Agents.*, **30**, 177–182.
- Alboghobeys, H.; Tahmourespour, A.; Doudi, M. (2013). Antibiotic resistance in isolated bacteria from urban sewage and copper smeltery industrial wastewater. *Gorgan. J.Uni.Med.Sci.*,**15**(1), 95–102
- Alshara, M.(2011). Antimicrobial resistant pattern of *Escherichia coli* strains isolated from pediatric patients in Jordan. *Acta.Med.Iran.*,**49**(5),293–295.
- Aluyi, H.S.A.; Daniel, E.O.; Attah, M.U.; Aikhuele, U.E.(2013). Multiple antibiotic resistance among bacteria isolated from hospital environment. *The Bioscientist.*,**1**(1),80–85.
- Andres, P.; Petroni, A.; Faccone, D.; Pasterán, F.; Melano, R.; Rapoport, M.; Mart´ınez, M.; Culasso, C.; Di Bella, A.; Irigoyen, B.; Mulki, J.; Procopio, A.; von Specht, M.; Galas, M. (2005). Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Shigella flexneri* from Argentina: first report of TOHO-1 outside Japan. *Int. J. Antimicrob. Agents.*, **25**, 501–507.
- Baquero, F.; Martinez, J.L.; Canton, R.(2008). Antibiotics and antibiotic resistance in water environments. *Curr. Opin. Biotechnol.*,**19**, 260–265.
- Bauer, A.W.; Kirby, M.M.; Sherris, J.C.; Turck, M.(1966). Antibiotic susceptibility testing by standardized single disc method. *AM. J. Clin. Pathol.*,**45**(4), 493–496.
- Cheong, H-T.; Ho, W-Y.; Choo, Q-C.; Chew, C-H.(2014).  $\beta$ -lactamase gene *blaSHV* detected in bacteria isolated from retail sushi in Kampar, Malaysia. *Biomedical. Res.*, **25**(1), 25–31.
- Christina, S.H.; Christa, M.; Katrin, S.M.; Sabin, M.; Stefanie, S.; Kurin, S.; Johann, B.(2012). Heavy metals in liquid pig manure in light of bacterial antimicrobial resistance. *Environ.Res.*,**113**, 21-27.
- Cruickshank, R.; Duguid, J.P.; Marmion, B.P.; Swain, R.H.A. (1975). "Medical Microbiology" 12th.Ed. Churchill living stone, Edinburgh. UK.
- Doughari, H.J.; Ndakidemi, P.A.; Human, I.S.; Benade, S.(2011). Virulence factors and antibiotic susceptibility among verotoxin non O157: H7 *Escherichia coli* isolates obtained from water and wastewater samples in Cape Town, South Africa. *African J.Biotech.***10**(64),14160–14168.
- El-Taib, K.A.(2011). Studies on virulence characters of *Salmonella typhimurium* isolated from animal and human. *Rep.Opin.*,**3**(7),37–43.
- Eze, E.A.(2012). Systematic variations in drug resistance among some enteric gram-negative bacilli isolated from humans and sewage. *J. Microbiol.Antimicrob.*,**4**(1), 6–15.
- Fouhy, F.; Paul Ross, R.; Fitzgerald, G.F.; Stanton, C.; Paul, D.; Cotter, P.D.(2014). A degenerate PCR-based strategy as a means of identifying homologues of aminoglycoside and  $\beta$ -lactam resistance genes in the gut microbiota. *BMC Microbiol.*,**14**,25.
- Grant, A.J.; Pittard, J. (1974). Incompatibility reactions of R Plasmids isolated from *Escherichia coli* of animal origin. *J. Bacteriol.*, **120**,185–188.
- Kamala-Kannan, S.; Lee, K.J. (2008). Metal Tolerance and Antibiotic Resistance of *Bacillus* species Isolated from Snchon Bay Sediments. *South Korea, Biotech.*,**7**(1),149–152.
- Karbasidaz, V.; Badami, N.; Emtiazi, G.(2003). Antimicrobial, heavy metal resistance and plasmid profile of coliforms isolated from nosocomial infections in a hospital in Isfahan, Iran. *African J. Biotechnol.*, **2**(10),379–383.
- Katzung, B.G. (2004). Chemotherapeutic Drug. Basic and Clinical Pharmacology. 9th ed: pp. 733–781.

- Khan, M.S.; Zaidi, A.; Wani, P.A.; Oves, M.(2009). Role of plant growth promoting rhizobacteria in the remediation of metal contaminated soils .*Environ.chem. Lett.*, **7**,1–19.
- Licht, TR.; Wilcks, A. (2005). Conjugative Gene Transfer in the Gastrointestinal. *Environment. Adv. Appl. Microbiol.*,**58**,77–95.
- MacFaddin, J.F.M. (2000). "Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria", 3<sup>rd</sup> ed., Baltimore: Lippincott Williams and Wilkins.
- Manikandan, C.; Amsath, A.(2013). Antimicrobial resistance of enteric pathogens isolated from children with acute diarrhea in Pattukkottai, Tamil Nadu, India. *Int. J. Pure Appl. Zool.*, **1**(2), 139–145.
- Mgbemena, I.C.; Nnokwe, J.C.; Adjero, L.A.; Onyemekara, N.N.(2012). Resistance of Bacteria Isolated from Otamiri River to Heavy Metals and Some Selected Antibiotics. *Curr.Res.J.Biol.Sci.*,**4**(5), 551–556.
- Muhammad, U.K.; Mustafa Alhaji Isa, M.A.; Aliyu, Z.M.(2013). Antimicrobial resistance pattern of pathogenic bacteria isolated from four hospital environment in Sokoto Metropolis, Northwestern, Nigeria. *J. Microbiol. Biotech. Res.*, **3**(1),120–124.
- Oubrim, N.(2012). Removal of antibiotic-resistant Salmonella in sewage water from wastewater treatment plants in settat and soualem, Morocco. *European.J.Sci.Res.*,**68**(4), 565–573.
- Pandit, R.J.; Patel, B.; Kunjadia, P.D.; Nagee, A.(2013). Isolation, characterization and molecular identification of heavy metal resistant bacteria from industrial effluents, Amala-khadi- Ankleshwar, Gujarat. *Int.J.Environ.Sci.*, **3**(5),1689–1699.
- Rachakonda, S.; Cartee, L.(2004). Challenges in antimicrobial drug discovery and the potential of nucleoside antibiotics. *Curr. Med. Chem.*, **11**,775–793.
- Selim, S.A.; Hagag, N.I. (2013) Analysis of plasmids and Restriction Fragment Length Polymorphisms of *Acinetobacter baumannii* Isolated from Hospitals - Al Jouf Region - KSA. *World Academy of Sci. Engin. and Tech.*,**78**, 152–157.
- Sharma, S.; Bhat, G.K.; Shenoy, S. (2007). Virulence factors and drug resistance in *Escherichia coli* isolated from extraintestinal infections. *Indian J. Med. Microbiol.*, **25**(4), 369–373.
- Tamil Selvi, A.; Anjugam, E.; Archana Devi, R.; Madhan, B.; Kannappan, S.; Chandrasekaran, B. (2012). Isolation and characterization of bacteria from tannery effluent treatment plant and their tolerance to heavy metals and antibiotics. *Asian J. Exp. Biol. Sci.*, **3**(1), 34 – 41.
- Tollefson, L.; Flynn, W.T.; Headrick, M.L.(2008). 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), Blackwell Publishing, Oxford, UK.
- Tulayakul, P.; Boonsoongnern, A.; Kasemsuwan, S.; Wiriayampa, S.; Pankumnoed, J.; Tippayaluck, S.; Hananantachai, H.; Mingkhwan, R.; Netvichian, R.; Khaodhiar, S.(2011). Comparative study of heavy metal and pathogenic bacterial contamination in sludge and manure in biogas and non-biogas swine farms. *J. Environ.Sci.*, **23**(6), 991–997.
- Vandepitte, J.; Enbaek, K.; Rohner, P.; Poit, P.; Heuck, C.C. (2003)." Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology". World Health Organization, Geneva.
- Yismaw, G.; Abay, S.; Asrat, D.; Yifru, S.; Kassu, A. (2010). Bacteriological profile and resistance pattern of clinical isolates from pediatric patients, Gondar University Teaching Hospital, Gondar, and North-East Ethiopia. *Ethiopian Med. J.*, **48**(4), 293– 300.