التحري عن بعض أنواع أنزيمات البيتا–لاكتاميز في بكتريا *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae*

د. محمود زكي الحسّو
قسم علوم الحياة / كلية العلوم
جامعة الموصل

محمد إبراهيم الطائي
كلية علوم البيئة وتقاناتها
جامعة الموصل

الاستلام ٢٠٠٧ / ١٢ / ١٣

القبول ٢٠٠٨ / ٠٥ / ٠٧

ABSTRACT

Detection of β–lactamases was conducted in *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* isolated from root nodules of *Vicia faba L.*. Acidimetric method was used to detect the occurrence of β–lactamases in general, the isolate gave a positive result. Detection of extended–spectrum β–lactamase (ESBLs) was also performed using two methods; double disk synergy method and the method of National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). The isolate gave a positive results too. *R. leguminosarum* biovar *viciae* also showed a resistance to cefoxitin, which consider a primary evidence for being a potential producer of AmpC β–lactamase. The results clearly indicated the occurrence of more than one type of β–lactamases in the tested isolate, which might be used as a defensive mean for survival and resisting β–lactams antibiotics in the surrounding soil.

الخلاصة

أجري التحري عن أنزيمات البيتا – لاكتاميز في بكتريا *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* المعزولة من العقد الجذرية لنبات الباقلاء ، استخدمت الطريقة الحامضية للتحري عن وجودها بشكل عام، وقد أعطت العزلة قيد الدراسة نتيجة موجبة، كما تم التحري عن أنزيمات البيتا– لاكتاميز واسعة الطيف باستخدام طريقتين هما طريقة تآزر القرص المزدوج وطريقة اللجنة الوطنية للقياسات المختبرية السريرية (NCCLS)، وقد أعطت بكتريا *R. leguminosarum* bv.*viciae* نتيجة موجبة لهذا الاختبار ، كما أظهرت هذه البكتريا مقاومة لمضاد Cefoxitin مما يعد دليلاً أولياً على كونها منتجة محتملة لأنزيمات الـ

AmpCبيتا– لاكتاميز. تشير هذه النتائج بشكل واضح إلى امتلاك بكتريا *R. leguminosarum* bv.*viciae* قيد الدراسة لأكثر من نوع من أنزيمات البيتا–لاكتاميز وهي على الأكثر تستخدم هذه الأنزيمات بوصفها وسيلة دفاعية للبقاء ومقاومة مضادات البيتا – لاكتام الموجودة في التربة المحيطة بها.

المقدمة

تعد بكتريا *Rhizobium leguminosarum* biovar *viciae* من البكتيريا السالبة لصبغة كرام والعائدة إلى العائلة *Rhizobiaceae* المعروفة بتحفيزها على تكوين العقد الجذرية بشكل تخصصي في جذور النباتات البقولية ومساهمتها في عملية تثبيت النتروجين الجوي وجعله متاحاً للنبات للإفادة منه في العمليات الحيوية المختلفة، وان لهذه العملية دوراً مهماً وأساسياً لحيوية النبات خصوصاً في الترب الفقيرة بالمركبات النتروجينية (2,1). لذا فان هذه البكتريا تعد احد مكونات المايكروفلورا للتربة المحيطة بالجذور أو ما تسمى بالرايزوسفير Rhizosphere، ورغم أنها ليست من البكتيريا المرضية إلا أن تواجدها في التربة يطرح احتمالية مقاومتها للمضادات الحيوية لاسيما إن كثيراً من الأحياء المجهرية المتواجدة في هذه المنطقة هي من منتِجات المضادات الحيوية مثل الفطريات والاكتينومايسيتات، وقد أشار العديد من الدراسات إلى مقاومة بكتريا الرايزوبيوم بأنواعها المختلفة للمضادات الحيوية بما فيها مضادات البيتا –لاكتام، إذ تعد هذه المقاومة وسيلة دفاعية تستخدمها هذه البكتيريا من اجل البقاء والمحافظة على النوع في مواجهة العلاقات التضادية والمواد الضارة التي تتعرض لها في بيئتها (4,3).

تعد أنزيمات البيتا–لاكتاميز β–lactamases من أهم الآليات التي تستخدمها البكتريا في مقاومة مضادات البيتا –لاكتام في حال تعرضها لها في بيئتها ، حيث تعمل هذه الأنزيمات على فتح حلقة البيتا –لاكتام الضرورية لفعل المضاد مما يجعل المضاد غير فعال ضد الخلايا البكتيرية (5). ويشير مصطلح البيتا –لاكتاميز إلى مجموعة كبيرة من الأنزيمات التي تتباين في صفاتها الكيموحيوية وطيف المضادات التي تتمكن من تحليلها والمثبطات التي تتأثر بها، فقد تم تسجيل ما يزيد عن (٢٥٠) نوعا من هذه الأنزيمات، كما وضعت تصانيف خاصة بها من اجل تسهيل تشخيصها وتحديد أنواعها نظرا لتزايد أعدادها بشكل مستمر (6). وتعد أنزيمات البيتا–لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) من أهم هذه الأنزيمات وأكثرها عدداً وتنوعا وهي تتميز بتحليلها لعدد كبير من مضادات البيتا – لاكتام مثل البنسلينات واسعة الطيف والسيفالوسبورينات الأولى وكذلك سيفالوسبورينات الجيل الثالث، ومما يميز هذه الأنزيمات تثبيطها بحامض الكلافيولين Clavulinic acid الذي غالبا ما يستخدم في التحري عنها (7). وتمثل أنزيمات البيتا–لاكتاميز من نوع AmpC مجموعة أخرى مهمة من البيتا–لاكتاميز تتميز بتحليلها للعديد

من مضادات البيتا –لاكتام بما فيها واسعة الطيف، كما أنها لا تثبط بحامض الكلافيولين وتقاوم مضاد Cefoxitin في نفس الوقت (8)، كما وتضم أنزيمات البيتا – لاكتاميز مجاميع أخرى ذات صفات متباينة كالأنزيمات المعدنية Metallo-β–lactamase والأنزيمات المقاومة للمثبط وغيرها (6). نظرا لأهمية هذه الأنزيمات ودورها الرئيس في المقاومة ال بكتيرية لمضادات البيتا–لاكتام فقد جاء البحث الحالي بهدف التحري عن تواجد هذه الأنزيمات في بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* ومحاولة تحديد نوع ها أو المجموعة التي تنتمي إليها وربط ذلك مع مقاومتها لمضادات البيتا–لاكتام في بيئتها.

المواد وطرائق العمل

العزلة البكتيرية

استخدمت في الدراسة بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* المعزولة من العقد الجذرية لنبات الباقلاء *Vicia faba* L. والمشخصة سابقا في كلية العلوم / قسم علوم الحياة (9). وقد استخدم وسط أكار المانيتول وخلاصة الخميرة Yeast Extract Mannitol Agar (YEM) والمكون من: ($K_2 HPO_4$ 0.5g\L, $MgSO_4$ 0.2g\L, NaCl 0.1g\L, Mannitol 10g\L, Yeast Extract 0.4g\L, Agar 10g\L) لتنمية وإدامة العزلة البكتيرية (10).

التحري عن أنزيمات البيتا – لاكتاميز باستخدام الطريقة الحامضية

تم تحضير الكاشف المستخدم في هذه الطريقة بأخذ ٢ مل من محلول الفينول الأحمر بتركيز ٠.٥ % (وزن / حجم ماء مقطر)، أضيف بعد ذلك 1.2 غم من البنسلين G وضبطت الدالة الحامضية عند pH ٨.٥ ، اجري الاختبار بأخذ ٠.١ مل من الكاشف ووضعه في أنبوبة اختبار نظيفة، لقح بعد ذلك ب بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* المزروعة على الوسط الصلب (وليس السائل) لإنتاج معلق جرثومي كثيف، ترك الأنبوب ليستقر بدرجة حرارة الغرفة ولوحظ تغير اللون، حيث أن ظهور اللون الأصفر يعد نتيجة موجبة للاختبار (11).

التحري عن أنزيمات البيتا–لاكتاميز واسعة الطيف بطريقة تآزر القرص المزدوج

لقح وسط أكار مولر–هنتون المجهز من شركة Oxiod والمكون من : (Meat infusion 6g\L, Casein hydrolysate 17.5g\L, Starch 15g\L, Agar 10g\L)، بالمعلق الفتي للبكتريا باستخدام ماسحة قطنية معقمة وحسب توصيات اللجنة الوطنية للقياسات المختبرية السريرية (NCCLS). وضع قرص Amoxicillin\Clavulinic acid(20\10µg) في وسط الطبق ووضع قرصا مضاديّ

Cetazidime (30µg) و Cefotaxime (30µg) على بعد ٢٠–٣٠ ملم من مركز القرص الوسطي. حضن الطبق بدرجة حرارة ٢٨±2 م° لمدة ٤ أيام، تم بعدها ملاحظة وجود أو غياب اتساع لمنطقة التثبيط في احد أو في كلا المضادين باتجاه القرص الوسطي (12,4).

التحري عن الأنزيمات واسعة الطيف بطريقة الـ NCCLS

تتضمن هذه الطريقة اختبارين:

اختبار التحري الأولي

لقح وسط أكار مولر–هنتون بالمعلق الفتي من البكتريا باستخدام ماسحة قطنية معقمة تم بعدها توزيع أقراص المضادات التا لية: Cefotaxime،Ceftazidime، Ceftriaxone، Cefpodoxime، Ceftizoxime، Cefepime، Aztreonam، المجهزة من شركة Bioanalyse التركية وبتركيز (30) مايكروغرام/قرص لكل منها. حضن الطبق بدرجة حرارة ٢٨±2 °م لمدة ٤ أيام. تم قياس مناطق التثبيط وتحديد فيما إذا كانت العزلة حساسة أم مقاومة لهذه المضادات بالرجوع إلى الجدول الخاص بهذا الاختبار، إذ أن ظهور المقاومة لأي من المضادات المختبرة يعد نتيجة موجبة للاختبار الأولي يتم التأكد منها بالاختبار الثاني.

الاختبار التأكيدي المظهري

لقح وسط أكار مولر–هنتون بالمعلق الفتي من البكتريا ثم وزعت أقراص مضادات: Cefotaxime (30µg)، Cefotaxime\Clavulinic acid (30\10µg)، Ceftazidme (30µg)، Ceftazidme\Clavulinic acid (30\10µg)، Cefoperazone (75µg)، Cefoperzone\Sulbactam (75\30µg)، Meropenem (10µg)، المجهزة من شركة Bioanalyse التركية. حضن الطبق بدرجة حرارة ٣٠°م لمدة ٤ أيام، تم قياس قطر مناطق التثبيط في حالة المضاد وحده وقورنت مع قطرها في حالة المضاد مع حامض الكلافيولين أو الـ Sulbactam . إن وجود زيادة في القطر بما يساوي أو يزيد عن ٥ ملم في حالة وجود المثبط يعد دليلاً تأكيدياً على وجود أنزيمات الـESBLs (14,13,4).

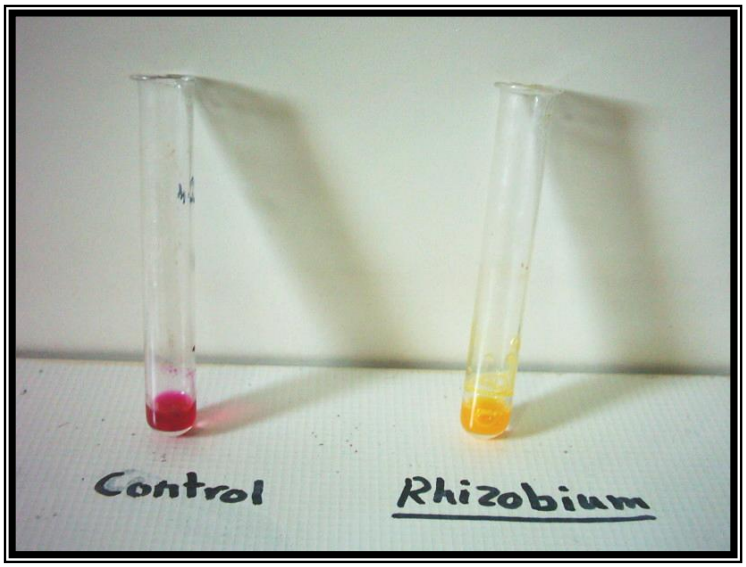
التحري عن أنزيمات الـ AmpC بيتا–لاكتاميز

تم التحري عن وجود هذه الأنزيمات في بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* بشكل أولي اعتمادا على مقاومتها لمضاد Cefoxitin بتركيز ٣٠ مايكروغرام / قرص، إذ لقح وسط أكار مولر–هنتون بالمعلق الجرثومي الفتي، ووضع بعدها قرص مضاد Cefoxitin في وسط الطبق وحضن بدرجة حرارة ٢٨±2 °م لمدة ٤ أيام. لوحظت منطقة

التثبيط حول القرص بعد انتهاء فترة التحضين وتم تحديد فيما إذا كانت العزلة موجبة أو سالبة للاختبار حسب قياسات الـNCCLS الخاصة بهذا الاختبار (14,13,4).

النتائج والمناقشة

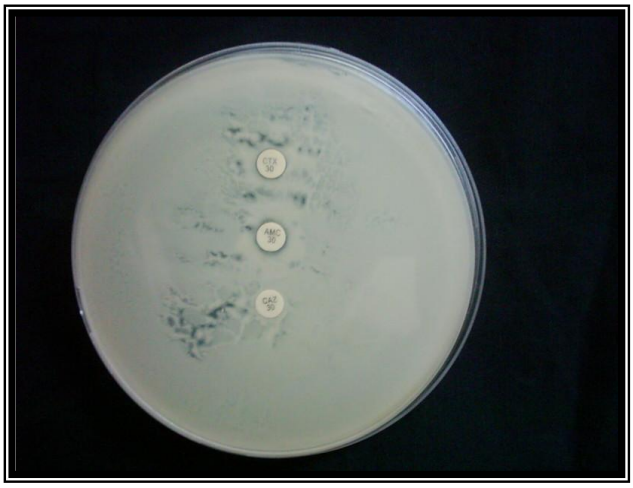
لقد أشار عدد من البحوث إلى مقاومة بكتيريا الرايزوبيوم ومنها بكتريا الـ *R. liguminosarum* biovar *viciae* للعديد من المضادات الحيوية ومنها مضادات البيتا–لاكتام بما فيها واسعة الطيف مثل سيفالوسبورينات الجيل الثالث والرابع (9,4,3). وتعد أنزيمات البيتا–لاكتاميز من أهم الآليات المستخدمة في أظهار هذه المقاومة، لذا يعد التحري عنها من الأمور المهمة لغرض التعرف على طبيعة هذه المقاومة . وقد تم في البحث الحالي التحري عن امتلاك بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* لأنزيمات البيتا–لاكتاميز بعدة طرق، إذ استخدمت الطريقة الحامضية التي تتحرى عن وجود أي نوع من أنزيمات البيتا–لاكتاميز حيث إنها تعتمد على قدرة أنزيمات البيتا–لاكتاميز على فتح حلقة البيتا–لاكتام للبنسلين وإنتاج حامض البنسلويك الذي يؤدي إلى خفض الدالة الحامضية للكاشف الحاوي على دليل الفينول الأحمر ومن ثم تغيير اللون من البنفسجي إلى الأصفر (11)، وقد كانت العزلة موجبة لهذا الاختبار (الصورة ١) مما يدل على امتلاكها لأنزيمات البيتا –لاكتاميز دون تحديد أنواعها أو عددها أو صفاتها التحليلية، إذ إن ذلك يتطلب استخدام طرق تحري أخرى أكثر تخصصية.



الصورة (١): اختبار التحري عن أنزيمات البيتا–لاكتاميز بالطريقة الحامضية

لذا فقد تم التحري عن أنزيمات البيتا–لاكتاميز واسعة الطيف (ESBLs) وهي التي تمثل مجموعة مهمة وكبيرة من أنزيمات البيتا–لاكتاميز لها القدرة على تحليل سيفالوسبورينات الجيل الثالث على وجه الخصوص لاسيما مضاداً Ceftazidime و Cefotaxime، وتتميز

بحساسيتها للتثبيط بحامض الكلافيولين (7). وقد استخدِمت في البحث الحالي طريقتان لهذا الغرض؛ الأولى طريقة تآزر القرص المزدوج التي تعتمد على وضع قرص Amoxicillin\Clavulinic acid بين قرصي Cefotaxime و Ceftazidime وكما ذكر في المواد وطرائق العمل، فإذا كانت العزلة حاوية على احد الأنزيمات واسعة الطيف فإنها سوف تثبط من الجهة القريبة لقرص Amoxicillin\Clavulinic acid مما يؤدي إلى اتساع منطقة التثبيط لقرص Cefotaxime أو Ceftazidime مقارنة مع الجهة البعيدة، إذ أن هذا التثبيط سوف يسمح لمضاد Cefotaxime أو Ceftazidime بإظهار تأثيره على العزلة مما يؤدي إلى اتساع منطقة التثبيط، إلا أن هذه الطريقة رغم كثرة استخدامها لسهولتها قد تعطي نتائج مربكة وغير واضحة في بعض الأحيان، فقد تظهر العزلة ال بكتيرية مقاومة للمضادات الثلاثة وبشكل كامل (عدم وجود منطقة تثبيط)، كما هو الحال ف ي عزلة *R. leguminosarum* biovar *viciae* قيد الدراسة (الصورة ٢)، وهذا لا يعني عدم وجود الأنزيمات واسعة الطيف إذ إن المقاومة موجودة، وقد يعزى السبب في ذلك إلى كون حامض



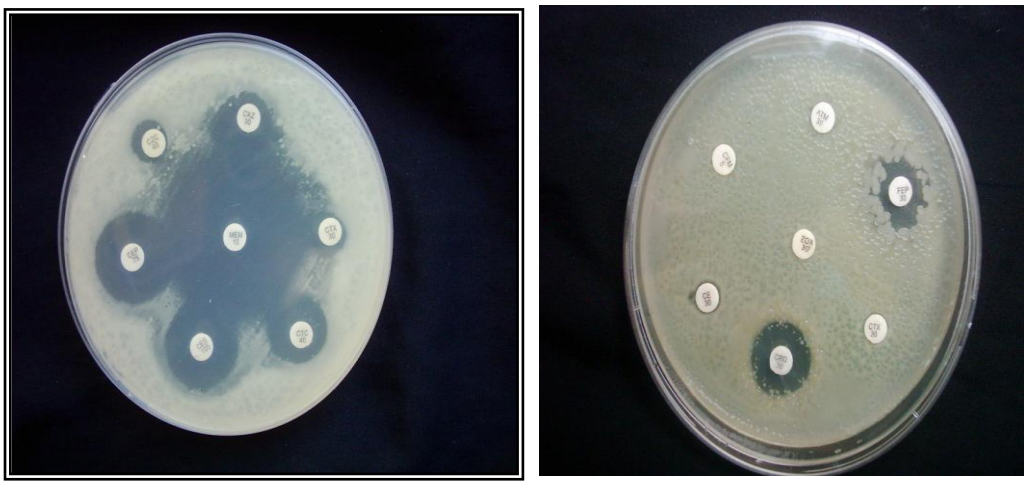
الصورة (٢): اختبار التحري عن أنزيمات الESBLs بطريقة تآزر القرص المزدوج

القرص الوسطي Amoxicillin\Clavulinic acid ،القرص العلويCeftazidime ،القرص السفلي Cefotaxime

الكلافيولين في هذا الاختبار مرفق مع مضاد Amoxicillin وليس Cefotaxime أو Ceftazidime، أو أن العزلة تمتلك أنزيمات بيتا–لاكتاميز من أنواع أخرى مثل أنزيمات الـAmpC أو أنها تستخدم آليات أخرى في المقاومة (15,8). لذا فقد استخدمت طريقة أخرى للتحري عن الأنزيمات واسعة الطيف وهي طريقة اللجنة الوطنية للقياسات المختبرية السريرية (NCCLS) التي تتضمن اختباريين وكما ذكر في مواد وطرائق العمل ، حيث يعطي الاختبار الأول فكرة أولية عن وجود المقاومة لسيفالوسبورينات الجيل الثالث، فإذا كانت العزلة مقاومة لواحد أو أكثر من هذه المضادات تعد نتيجة الاختبار موجبة وهي تشير إلى أن العزلة قد تكون

حاوية على احد الأنزيمات واسعة الطيف وهذا يتطلب تأكيدا يتم باستخدام الاختبار الثاني وهو الاختبار التأكيدي المظهري ال ذي يستخدم فيه مضاد Cefotaxime وحده في قرص ومع حامض الكلافيولين في قرص أخر وكذلك الحال بالنسبة لمضاد Ceftazidime، وكما ذكر في مواد وطرائق العمل. فإذا كانت العزلة حاوية على احد هذه الأنزيمات فانه سوف يثبط بحامض الكلافيولين المرفق مع المضاد مما يزيد من قطر من طقة التثبيط في حين أنها سوف تقاوم المضاد وحده، وتعد الزيادة في قطر منطقة التثبيط بمقدار ٥ملم أو أكثر نتيجة موجبة وتأكيدية لوجود احد الأنزيمات واسعة الطيف، ونظرا لوجود عدة أنواع من أنزيمات البيتا–لاكتاميز واسعة الطيف مثل أنزيمات CTX-M التي تحلل مضاد Cefotaxime أكثر من غيره وأنزيمات CAZ التي تحلل مضاد Ceftazidime أكثر من غيره، فان من الممكن التكهن بنوع الأنزيم اعتماداً على نتيجة هذا الاختبار (14,13). وقد أعطت بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* قيد الدراسة نتيجة موجبة لهذا الاختبار وكما هو واضح في الصورة(٣)، حيث اتسعت منطقة التثبيط

الصورة (٣): اختبار التحري عن أنزيمات الـESBLs بطريقة الـNCCLS



الطبق الأيمن اختبار التحري الأولي : الأقراص من الأعلى وباتجاه عقارب الساعة :
1. Aztreonam ، 2. Cefepime ، 3. Cefotaxime ، 4. Ceftriaxone ، 5.Cefpodoxime ، 6. Ceftazidime ، 7.Cefizoxime ، **(S≥20mm , R≤16mm)** .

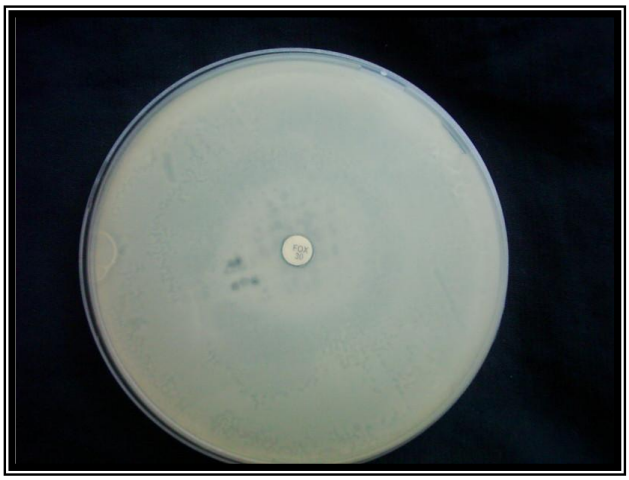
الطبق الأيسر الاختبار التأكيدي المظهري : الأقراص من الأعلى وباتجاه عقارب الساعة :
1.Ceftazidime ، 2.Cefotaxime ، 3. Cefotaxime\Clavulinic acid ، 4. Cefoperazone\Sulbactam ، 5. Cefoperazone ، 6. Ceftazidime\Clavulinic acid ، 7. Meropenem ، الزيادة بالقطر بـ≥٥ملم بوجود المثبط تعد نتيجة موجبة (المصدر ١٤) .

بوجود حامض الكلافيولين المرفق مع مضاد Cefotaxime لتصل إلى قطر ١٦ ملم على حين أعطى مضاد Cefotaxime وحده منطقة تثبيط بقطر ٩ ملم فقط ، مما يشير إلى أن الأنزيم الموجود هو من نوع CTX–M، في حين أن منطقة التثبيط بالنسبة لقرص Ceftazidime–Clavulinic acid كانت مشابهة لمنطقة التثبيط في حالة المضاد وحده، وكذلك الحال بالنسبة

لقرص Cefoperazone–Sulbactam الحاوي على مضاد Cefoperazone مضافاً له مركب Sulbactam المثبط لأنزيمات البيتا–لاكتاميز حيث كان له منطقة تثبيط بقطر ١٩ ملم وهي مشابهة للمنطقة التي أعطاها قرص Cefoperazone لوحده (الجدول ١)، كما أظهر مضاد Meropenem تأثيراً واضحاً على العزلة المدروسة إذ أعطى منطقة تثبيط بلغ قطرها أكثر من 35 ملم وهذا كان متوقعاً نظراً لفعالية هذا المضاد الواسعة وعدم تأثره بغالبية أنزيمات البيتا–لاكتاميز (15,14). أن هذه النتيجة تشير بشكل واضح إلى امتلاك بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* قيد الدراسة لأحد أنزيمات البيتا–لاكتاميز واسعة الطيف على الأقل وبالتحديد من النوع CTX–M . كما تم في البحث الحالي أيضاً التحري عن أنزيمات الـ AmpC التي تمثل مجموعة أخرى من الأنزيمات البيتا–لاكتاميز واسعة الانتشار والتي تتميز بكونها لا تثبط بحامض الكلافيولين وغيره من المثبطات مما يزيد من أهميتها وجعل العزلات المالكة لها ذات مقاومة عالية لمضادا ت البيتا –لاكتام، وعادة ما تعد مقاومة العزلة البكتيرية لمضاد Cefoxitin وهو احد مضادات الـ Cephamycins دليلاً أولياً على وجود هذه الأنزيمات (8,6)، وقد أظهرت بكتريا *R.leguminosarum* biovar *viciae* مقاومة واضحة لهذا المضاد (الصورة ٤) مما يجعل امتلاكها لأحد أنزيمات الـAmpC احتمالاً قائماً يحتاج إلى تأكيد من خلال استخدام اختبارات أكثر دقة وعادة ما تعتمد على تحضير خلاصات أنزيمية خالية من الخلايا ودراسة خصائص الأنزيم فيها بحثاً عنه (16).

الجدول (1): نتائج اختبار التحري عن تواجد أنزيمات البيتا–لاكتاميز واسعة الطيف في بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* بطريقة الـNCCLS

المضاد الحيوي	التركيز (مايكروغرام/قرص)	قطر منطقة التثبيط (ملم)
Aztreonam	٣٠	6
Cefepime	٣٠	9
Cefotaxime	٣٠	6
Ceftriaxone	٣٠	13
Cefpodoxime	٣٠	6
Ceftazidime	٣٠	6
Ceftizoxime	٣٠	٦
Meropenem	١٠	35
Cefotaxime	٣٠	**9**
Cefotaxime–Clavulinic acid	٣٠\١٠	**16**
Ceftazidime	٣٠	9
Ceftazidme–Clavulinic acid	٣٠\١٠	9
Cefoperzone	٧٥	١٩
Cefoperzone–Sulbactam	٧٥\٣٠	١٩



الصورة (٤): اختبار التحري عن أنزيمات الـAmpC بيتا–لاكتاميز باستخدام مضاد Cefoxitin

إن نتائج البحث الحالي تشير بشكل قاطع إلى امتلاك بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* لأنزيمات البيتا–لاكتاميز، وإنها على الأكثر تستخدمها في مقاومة مضادات البيتا–لاكتام، كما تم التأكد من امتلاكها للأنزيمات واسعة الطيف (ESBLs) التي تحلل سيفالوسبورينات الجيل الثالث المهمة علاجياً وأنها على الأكثر تعود إلى النوع CTX–M. فضلاً عن ذلك فان هذه العزلة البكتيرية قد تمتلك أيضاً احد أنزيمات الـAmpC التي تساعدها في مقاومة مضادات الـ Cephamycins التي تنتجها الاكتينومايسيتات، كما في حالة مضاد Cefoxitin المستخدم في البحث. إن امتلاك هذه البكتريا لأنزيمات البيتا–لاكتاميز وبأكثر من نوع يفسر سبب مقاومتها للعديد من مضادات البيتا–لاكتام بما فيها واسعة الطيف والتي سبق اختبارها بطريق الانتشار بالأقراص في بحث سابق، حيث كانت العزلة مقاومة لمضادات Amoxicillin, Carbencillin, Cephalexin, Cephradine, Cefuroxime, Cefixime, Ceftazidime, Cefotaxime, Ceftizoxime, Aztreonam, Cefepime, Ceftriaxone, Cefoperazone, Imipenem, في حين كانت حساسة لمضادات Meropenem فقط (9)، مع بقاء احتمالية وجود آليات أخرى للمقاومة فضلاً عن أنزيمات البيتا–لاكتاميز. إن هذه النتائج تتفق مع ما أشار إليه العديد من الدراسات التي عزت مقاومة بكتريا الرايزوبيوم لمضادات البيتا–لاكتام إلى وجود أنزيمات البيتا–لاكتاميز بوصفها إحدى الآليات المهمة المسؤولة عن مقاومة هذه المضادات (17,4,3). وان وجود هذه المقاومة في بكتريا *R. leguminosarum* biovar *viciae* التي هي من البكتريا البيئية وليس المرضية قد تكون ناتجة عن وجودها في بيئة الرايزوسفير أو التربة بشكل عام التي يتواجد فيها العديد من الأحياء المجهرية المنتجة للمضادات الحيوية، لذا فان هذه ال بكتريا قد طورت مثل هذه الآليات لحماية نفسها م ن المركبات والمواد الضارة المحيطة بها والتي تتعرض لها باستمرار في بيئتها (5,1).

المصادر

(١) الكسندر، مارتن . "مقدمة في مايكروبيولوجيا التربة ". جون وايلي وأولاده، نيويورك، الولايات المتحدة الأمريكية (1982).

(٢) قاسم، غياث محمد وعلي، مضر عبد الستار . "علم أحياء التربة المجهرية". مديرية دار الكتب للطباعة والنشر، الموصل (1989).

(3) Cole, M. and Elkan, G., Appl. Environ. Microbiol., 5:867-870. (1979).

(4) Stoczko, M.; Frere, J.; Rossolini, G. and Docquier, J., Antimicro. Agents Chemother.,11: 1973-1981. (2006).

(5) Livermore, D. M., Clin. Microbiol. Rev.,8: 557-584. (1995).

(6) Bush, K.; Jacoby, G. A. and Medeiros, A. A., Antimicrob. Agents Chemother., 39:1211-1233 (1995).

(7) Bradford, P. A., Clin. Microbiol. Rev.,14: 933-951(2001).

(8) Philippon, A.; Arlet, G. and Jacoby, G. A., Antimicrob. Agents Chemother., 46: 1-11(2002).

(٩) الحسّو، محمود زكي والطائي، محمد إبراهيم ، بحث مقبول للنشر في مجلة التربية والعلم، جامعة الموصل (2007).

(10) Vincent, J. M. "A manual for the Practical Study of the Root-nodule Bacteria". B. P. Handbook. No.15. Blakwell Scientific Publication Ltd., Oxford (1970).

(11) Livermore, D. M. and Brown, D. F. J., J. Antimicrob. Chemother., 48(suppl.S1): 59-64(2001).

(12) Samaha-Kfoury, J. N. and Araj, G. F., BMJ, 327:1209-1213 (2003).

(13) National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS "Disk Diffusion Supplemental Tables". M100-S13 (M2). NCCLS, Wayne, PA, U.S.A. (2003).

(14) National Committee for Clinical Laboratory Standards, NCCLS "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 14th Informational Supplement". M100-S14, Vol.24, No.1, NCCLS, Wayne, PA, U.S.A. (2004).

(15) Queenan, A. M.; Foleno, B.; Gownley, C.; Wira, E. and Bush, K., J. Clin. Microbiol., 42: 269-275 (2004).

(١٦) الحسّو، محمود زكي سليمان. استخلاص وتنقية أنزيمات البيتا– لاكتاميز من بعض العصيات السالبة لصبغة كرام المعزولة من إصابات الجهاز التنفسي السفلي ودراسة بعض خصائصها. أطروحة دكتوراه. كلية العلوم، جامعة الموصل (2006).

(17) Kremer, R. and Peterson, H., Appl. Envir. Micribiol.,10:636-642 (1982).