ISSN: 1991-8941

عزل وتشخيص بكتريا منتجة للمضادات الحيوية من ترب مدينة الرمادي

مثنى حامد حسن
كلية العلوم / جامعة الأنبار

تاريخ الاستلام: 2008/1/10 تاريخ القبول: 2008/7/17

الخلاصة

تضمنت الدراسة انتخاب عزلتين من البكتريا المحلية الأكفاء من بين سبعة عزلات تم عزلها من تربة مدينة الرمادي من خلال جمع 20 نموذج تربة من 6 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 23 -30 ملم واقل منها ضد *Klebsiella ssp, Escherichia coli* وتميزت العزلة M1 بفعالية تثبيطية اكبر كذلك درس تأثير درجات الحرارة على نمو العزلتين M3 ,M1 وتبين بأنهما تنموان بشكل جيد في الدرجة الحرارية 40 و45 مْ وان العزلة M1 تستطيع النمو في درجة حرارية 50 مْ أما عند الدرجات الحرارية المنخفضة فلم تستطيع كلا العزلتين المنتخبتين من النمو في درجة حرارية 5 مْ ودرس تأثير الملوحة على نمو العزلتين وتبين بأنها تنموان بشكل جيد في التركيز 3% NaCl أما في التركيز 7% فقط استطاعت العزلة M1 من النمو وتحمل هذا التركيز في حين لم تستطيع كلا العزلتين من النمو في التركيز 10 % من كلوريد الصوديوم.

كلمات مفتاحية: 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 (1).

اشتق مصطلح مضاد الحيوية (Antibiotic) من مصطلح التضاد الحيوي (Antibiosis) الذي استعمله لأول مرة العالم Vuillemin في عام 1889 (2) . تنتشر الاحياء المجهرية المنتجة للمضادات الحيوية بصورة واسعة في الطبيعة حيث وجدت في التربة والماء وبقايا النباتات والحيوانات المتفسخة وتعتبر التربة المصدر الرئيسي لعزل

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الكثير منها لذلك اتجة الكثير من الباحثين الى التربة لغرض الحصول على سلالات من الاحياء المجهرية منتجة لمضادات حيوية جديدة (3). ظهرت ادلة علمية على كفاءةالاحياء العلاجية في التاثير وانها شملت انواع عديدة من جنس العصيات وانواعا من البكتيريا الاخرى(4)

لقد استعمل مصطلح مضادات الحيوية(Antibiotics) لاول مرة عام 1942 من قبل العالم Waksman الذي استطاع تعريف مضادات الحيوية على أنها مواد أيضية تنتجها الأحياء المجهرية تقوم بتثبيط نمو أحياء مجهرية أخرى ولا تؤثر على البكتريا المنتجة لها (5) .عرفت مضادات الحيوية بأنها إحدى نواتج الأيض الثانوية (Secondary metabolites) اذ تنتجها الأحياء المجهرية بعد إن 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 Idiolites (6)

من هنا جاءت هذه الدراسة.

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

المواد وطرائق العمل

جمعت 20 عينة تربة من (6) مواقع مختلفة في مدينة الرمادي ,وذلك بقشط ا سم من سطح التربة وأخذت وبعمق يتراوح بين 5-10 سم وقد كانت كمية العينة المأخوذة 100 غم من كل موقع من المواقع المشمولة بالدراسة ووضعت في كيس نايلون معقم وسجل علية المعلومات(رقم النموذج,نوع التربة ,نوع المحصول المزروع, الموقع) وجلب إلى المختبر.

حضرت سلسلة من التخافيف العشرية و ذلك بإضافة 0.1 مل من التخفيف العشري الثاني 10^{-2}, إلى سطح الوسط المغذي الصلب Nutrient agar وحضنت الإطباق في درجات حرارية تراوحت ما بين (15- 45) لمدة 24 -48 ساعة ثم نقلت كل مستعمرة بكتيرية نامية إلى نفس الوسط الذي عزلت علية لغرض التنقية وحفظت على مائل الوسط المغذي الصلب في درجة حرارة 4 مْ لحين الاستعمال.

تم الحصول على العزلات البكتيرية المشخصة الآتية

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

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 وKing B.

تم استخدام طريقتان وهما أقراص الاكار لغرض الكشف عن قدرة الإحياء المهجرية المعزولة على إنتاج المضادات الحيوية Agar disk حيث وباستخدام ثاقب فليني قطرة 6 ملم تم من خلاله نقل أقراص

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

الاكار الحاوية على الإحياء المهجرية (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 37 مْ ولمدة 24 ساعة تم الكشف عن الكائن ألمجهري المنتج للمضادات الحيوية من خلال ظهور مناطق التثبيط حول الأقراص (3) أما الطريقة الثانية فهي طريقة الخطوط المتعامدة cross streaks حيث زرعت الإحياء المهجرية المراد الكشف عن قابليتها في إنتاج المضادات الحيوية بشكل خط مستقيم على طرف الطبق الحاوي على وسط مولر هنتون أكار وحضنت الإطباق بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 48 ساعة , زرعت بعدها عزلات بكتريا الاختبار على شكل خطوط مفردة ومتعامدة على خط نمو الكائن ألمجهري (المراد اختبار فعاليته في أنتاج المضادات الحيوية) بحيث يبدأ الزرع من الطرف البعيد عن الكائن ألمجهري وينتهي عند خط نموه حضنت الأطباق بدرجة حرارة 37مْ لمدة 24 ساعة واعتبر الكائن ألمجهري منتجا للمضاد الحيوي من خلال وجود تثبيط لنمو واحد آو أكثر من بكتريا الاختبار في المناطق القريبة من خط الكائن الحي ألمجهري (3).

استعملت لهذا الغرض 10 مضادات حيوية كما في جدول (1) حيث نقلت مستعمرتان إلى أنابيب اختبار تحتوي كل منها على 5 مل من الوسط المغذي السائل وحضنت بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 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 5-7 أقراص للمضادات على سطح الوسط ألزرعي بمعدل ثلاث مكررات لكل تجربة وحضنت بدرجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة وتم قياس قطر منطقة التثبيط لتحديد مقاومة وحساسية البكتريا للمضاد الحيوي (7) وكما في جدول(2)

انتخبت العزلات المميزة بفعاليتها في أنتاج مضادات حيوية بالاعتماد على طريقة الخطوط المتعامدة , وتم تشخيص هذه العزلات باستخدام الفحوصات المظهرية والكيمو حيوية واعتمادا على المصادر العلمية المتبعة عالميا لتشخيص البكتيريا (8). وقد شمل التشخيص الفحوصات الآتية : الفحص ألمجهري و الصفات الزرعية و فحص الحركة (9) . واختبار الكاتاليز و اختبار الاوكسديز (8) . واختبار الاندول و اختبار المثيل الأحمر و اختبار فوكس بروسكاور و اختبار استهلاك السترات و اختبار اليوريا و اختبار اختزال النترات وفحص تكوين السبور و اختبار أنزيم التجلط و القدرة على تحليل الدم و اختبار تميع الجيلاتين و اختبار تخمر السكريات(10) .

استخدمت أنابيب اختبار تحتوي على مائل المغذي الصلب حيث لقحت بمزروع البكتريا وحضنت في مجموعتين الأولى بدرجات حرارية 40 و 45 و50مْ لمدة يومان والثانية بدرجات حرارية 5 و 10 و20 مْ لمدة من 2-7 أيام.

أضيف 3% ,7% ,10% من كلوريد الصوديوم إلى الوسط المغذي السائل ولقحت الأنابيب بالمزروع البكتيري ثم حضنت لمدة 2-4 أيام وتعتبر النتيجة موجبة بظهور عكورة في الوسط (11).

المناقشة

أظهرت نتائج العزل الحصول على 7

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

عزلات بكتيرية منتجة للمواد المضادة من مجموع 20 نموذجا من التربة استعملت في عملية العزل وقد تباينت هذه العزلات في قدرتها على إنتاج المواد المضادة اعتمادا على قطر التثبيط تجاه بكتريا الاختبار وانتخبت أكفاء العزلات البكتيرية ولوحظت أنها تنتشر في بيئة التربة المزروعة بمحاصيل الخضر والفواكه .

وتميزت عزلتان محليتان اعطيتا الرقمين المحليين**M3, M1** في قابليتهما العالية لإنتاج المواد المضادة من بين بقية العزلات وكانت من مواقع مختلفة من المدينة وكما موضح في جدول (3) 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 (12) بأنها تحمل صفات الجنس ***Bacillus*** وكما موضح في جدول (4) 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 لملون كرام وتوجد في سلاسل أو بهيئة أزواج مكونة للسبورات , هوائية إجبارية مستعمراتها دائرية بلون اصفر فاتح مسننة الحواف على ألاكار المغذي سالبة للاوكسديز والاندول وموجبة للكاتاليز والحركة واحمر المثيل وسالبة للاختبار اليوريا وتختزل النترات إلى نتريت منتجة الحامض ومنتجة H_2S وتميع الجيلاتين وتخمر السكريات (الكلوكوز) ومحللة للدم (13) وكذلك تم الحصول على عزلة من تربة الجزيرة بالرمادي لمزرعة الحمضيات أشجار اللالنكي 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 ألمجهري إن خلاياها هي عبارة عن عصيات مفرده أو مزدوجة تعطي تفاعلا ايجابيا لملون كرام متحركة ومكونه للسبورات التي تكون اهليجيه وتقع إلى الطرف قليلا **subterminal**بحيث تؤدي إلى انتفاخ الخلية العصوية وأظهرت الفحوصات الكيمو حياتيه قدره هذه ألعزله البكتيرية في إنتاج أنزيم الاوكسديز والكاتليز وتحليل الجيلاتين والنشاء ومن المميزات المهمة لهذه ألعزله قدرتها على إنتاج حامض وغاز من معظم السكريات كما أنها موجبه لفحص الفوكس بروسكاور ومن الملاحظ أنها تنمو في الأوساط الزر عيه ألسائله ويكون بشكل عكره مخاطية أثبتت تلك الفحوصات إن هذه ألعزله تعود إلى جنس ***Bacillus*** استنادا إلى (12) ,وإنها يمكن لها إن تنتج العديد من الأنواع ويمكن تمييز ***Bacillus polymyxa*** , ويمكن تميزها عن غيرها من خلال قدره النوع على إنتاج حامض وغاز من سكر الكلوكوز . إن العزلة البكتيرية قد تمكنت من أنتاج حامض وغاز من سكر الكلكوز بشكل واضح وعلى هذا الأساس شخصت العزلة على انه ***B. polymyxa*** يؤيد ذالك قيام (14) بعزل ثلاث سلالات تابعه لهذا النوع تطابقت خواص التشخيصية مع عزلتنا المحلية وقد أعطيت الرمز **M3** وتميزت بأنها تخمر السكريات الكلوكوز وإنها لا تستطيع تحليل الدم واعتبرتا بأنهما الأكفاء في أنتاج المواد المضادة عن غيرهما من العزلات.

تم عزل 7 عزلات من البكتريا المحلية على أساس الصفات المظهرية وكذلك الزرعية

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

والفحص ألمجهري وحددت الفعالية التثبيطية لجميع العزلات المحلية تجاه بكتريا الاختبار وكما موضحة في جدول (5) وتبين من خلال الفعالية بان العزلة M1, M3 تمتلك فعالية تثبيطية ذات طيف واسع تجاه بكتيريا الاختبار الموجبة والسالبة لملون كرام واعتبرتا الأكفاء في أنتاج مواد مضادة ضد بكتريا الاختبار .

حيث لوحظ بان كلا العزلتين تمتلكان أعلى فعالية تثبيطية تجاه المكورات العنقودية والزوائف الزنجارية وكانت بحدود(23-30 ملم) كما في صورة (1و 2 و 3) وان *Bacillus subtilius* تمتلك فعالية اكبر من *Bacillus Polymyxa*في تثبيطها الاشريشية القولونية حيث كان قطر أعلى تثبيط *Bacillus subtilius* بحدود(23-30 ملم) أما *Bacillus polymyxa* كان أعلى قطر تثبيط بحدود (15-22ملم) كما في صورة(4), وكذلك الحال نفسه في تثبيطها للمتقلبات *proteus mirabilus*.

حيث أن *Bacillus subtilius* تمتلك فعالية مضادة للمتقلبات بحدود (15- 22 ملم) في حين كانت *Bacillus polymyxa*تمتلك فعالية مضادة للمتقلبات بحدود(10-14ملم).

يعد تثبيط بكتريا الاختبار *Staphylococcus aureus* , *Pseudomonas aeruginosa* ذو أهمية خاصة أذا تعد بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* من أكثر الأنواع المنتجة للمقاومة الطبيعية والمقاومة الناتجة عن العديد من الطفرات التي تحدثها باستمرار تجاه مضادات الحيوية (15).

كذلك بكتيريا *Staphylococcus aureus* التي تعد احد أهم 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 (16).

استعمل الوسط المغذي الصلب في اختبار قابلية عزلتي البكتيريا M3, M1 في النمو بدرجات حرارية مختلفة و شملت (5 و 10 و20 و40 و45 و50 مْ) وبينت النتائج وكما موضحة في جدول (6) إن العزلتين المحليتين تمكنت من النمو بشكل جيد في درجات الحرارية العالية 40 ,45 مْ ولكلا العزلتين في حين كان النمو متوسط في درجة حرارة 50 مْ 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 5 مْ وكان هنالك نمو وبدرجات متباينة بين الدرجات الحرارية المحصورة بين أعلى واوطاء درجة ,إن التغير في درجات الحرارية له تأثير على الصفات المظهرية والفسلجية وان أي تغيير في قيم الدرجات عن القيم المثلى لنمو العزلات الإحياء المهجرية يؤثر في النمو ويقلل من إنتاجها للمركبات الايضية الثانوية من خلال التأثير على فعالية الإنزيمات وهذا ينطبق مع ما توصل آلية James.,1990 (17).

استعمل الوسط المغذي السائل مع إضافة ملح كلوريد الصوديوم NaCl في اختبار قابلية عزلتي البكتيريا M3, M1 في النمو بتراكيز ملحية مختلفة وشملت (3% ,7% , 10%) وقد بينت النتائج وكما موضحة في جدول (7) إن كلا العزلتين تنمو وبشكل جيد ومن خلال ظهور العكورة في التركيز الأدنى 3% ومن خلال تقديرها بجهاز المطيافية, في حين لم تبدي كلا العزلتين القدرة على النمو في التركيز الأعلى 10 % أما في التركيز 7% فد أظهرت العزلة M1 القدرة على النمو المتوسط في حين لم تستطيع العزلة M3 من النمو في هذا التركيز .

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

المصادر

1-Talaro , K. and Talaro , A. (1996) . Fundations 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 , Text book 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,زهـرة محمـود (2008) الاحيـاء المجهرية جامعة بغداد ,وزراة التعليم العالي والبحث العلمي .العراق ص77

5-Waksman , S. A. (1967) . The actinomycetes : a summary of current knowledge . The Ronald press Co. New york .

6-Hopwood , D. A. (1988) . Extracgromosomally 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 فـؤاد , العـزام عقـاب , الشاعر .عبد المجيد , المنسي عرسـان (1994) 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 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 .

13- الجبوري , محيميد مـدا الله .(1990) البكتيريا الطبية .مطابع التعليم العـالي 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

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

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 (1) مضادات الحيوية المستعملة في الدراسة

ت	مضادات الحيوية	الرمز	التركيز/مايكروغرام	الشركة المصنعة
1	**Tetracyclin**	**TE**	**30**	**Oxoid**
2	**Nalidixic acid**	**NA**	**30**	**Oxoid**
.3	**Penicilin-G-**	**P**	***10**	**Oxoid**
.4	**Gentamicin**	**CN**	**30**	**Oxoid**
.5	**Ampicillin**	**AMP**	**10**	**Oxoid**
6	**Chloramphenicol**	**C**	**30**	*مركز الرازي*
.7	**Refampicin**	**RD**	**30**	**Oxoid**
8	**Cefotaxime**	**CTX**	**30**	*مركز الرازي*
9	**Fusidic acid**	**FD**	**10**	**Oxoid**
10	**Co-trimoxazol**	**STX**	**30**	*مركز الرازي*

***IU وحدة دولية (تركيز البنسلين)**

جدول (2) حساسية العزلتين المحلية M1,M3 لمضادات الحيوية

مضادات الحيوية	الرمز	التركيزمايكرو غرام / قرص	النتيجة
Cefotaxime	CTX	**30**	+
Penicillin	P	**10**	-
Rifampicin	RD	**30**	+
Nalidixic acid	NA	**30**	-
Chloramphenicol	C	**30**	-
Tetracycline	TE	**30**	+
Co- trimoxazol	STX	**30**	+
Gentamicin	CN	**30**	-
Fusidic acid	FD	**10**	-
Ampicillin	AMP	**10**	-

(+) حساسة (-) مقاومة

جدول(3) مواقع العزلات البكتيرية المنتجة للمواد المضادة والمحصول المزروع

ت	رمز العزلة	الموقع	استغلال الحقل
1	**M1**	**رمادي/ الجزيرة**	**مزروعة حمضيات (برتقال)**
2	**M2**	**رمادي / الصوفية**	**مزروعة جت**
3	**M3**	**رمادي الجزيرة**	**مزروعة حمضيات (لالنكي)**
4	**M4**	**رمادي / الغابات**	**مزروعة باذنجان**
5	**M5**	**رمادي / الصوفية**	**مزروعة بامياء**
6	M6	**رمادي/ تأميم**	**مزروعة طماطة**
7	M7	**رمادي /تأميم**	**مزروعة فلفل**

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

جدول (4) نتائج الاختبارات الكيمو حيوية للعزلتين المحلية الأكفاء في القدرة التثبيطية

الاختبارات	العزلة M1	العزلة M3
Gram stain	+	+
Catalase	+	+
Oxidase	-	+
Citrate	+	-
Urea	-	-
Motility	+	+
H2S	+	+
Nitrate	+	+
Indol	-	-
MR	+	+
VP	*	+
Gelatinase	+	+
Heamolysis	+	-
Manitol	+	-
Spore stain	+	+

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

جدول (5) الفعالية التثبيطية للعزلات المحلية ضد بكتريا الاختبار

العزلات	اقطارمنطقة التثبيط ضد عزلات الاختبار مقاسة(مليمتر)					
	E . coli	***Ps . aeruginosa***	***klebsiella ssp***	***Staph aureus***	***proteus mirabilus***	***salmonella typhi***
M1	+++	+++	++	+++	++	+
M2	++	+	+	++	+	+
M3	++	+++	++	+++	+	+
M4	-	+	+	++	+	+
M5	++	+	-	++	-	-
M6	+	+	-	+	-	+
M7	+	-	-	+	+	+

(-) لا توجد فعالية // (+) من 10 - 14 مليمتر قطر منطقة التثبيط //(++) مـــن 15 - 22 مليمتـــر قطـــر منطقـــة التثبـــيط //

(+++) من 23 - 30 مليمتر قطر منطقة التثبيط

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

جدول (6) نتائج اختبار نمو العزلتين M1,M3 في درجات حرارة مختلفة

العزلة البكتيرية المحلية	درجة حرارة					
	5م	10م	20م	40م	45م	50م
M 1	-	+	++	++	++	++
M 3	-	+	+	++	++	-

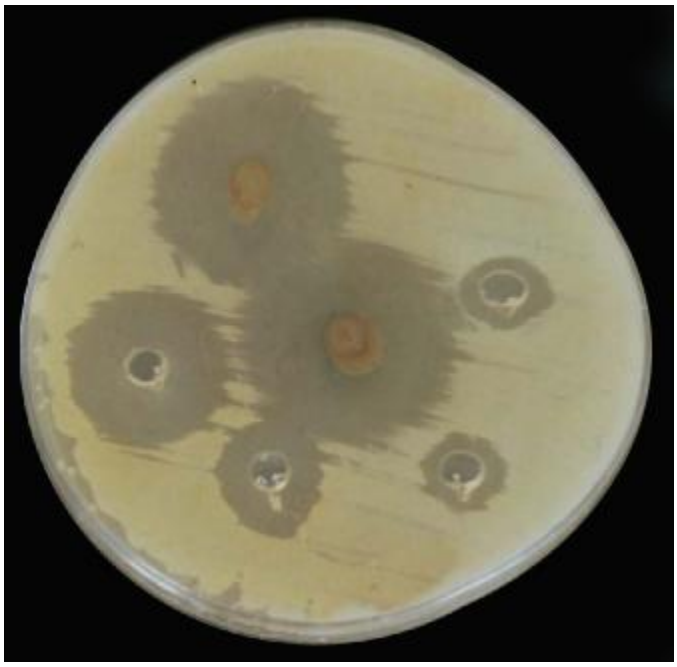
++ نمو جيد , + نمو متوسط , +- نمو ضعيف, - عديم النمو

M3= *Bacillus Polymyxa* ,M1=*Bacillus subtilius*

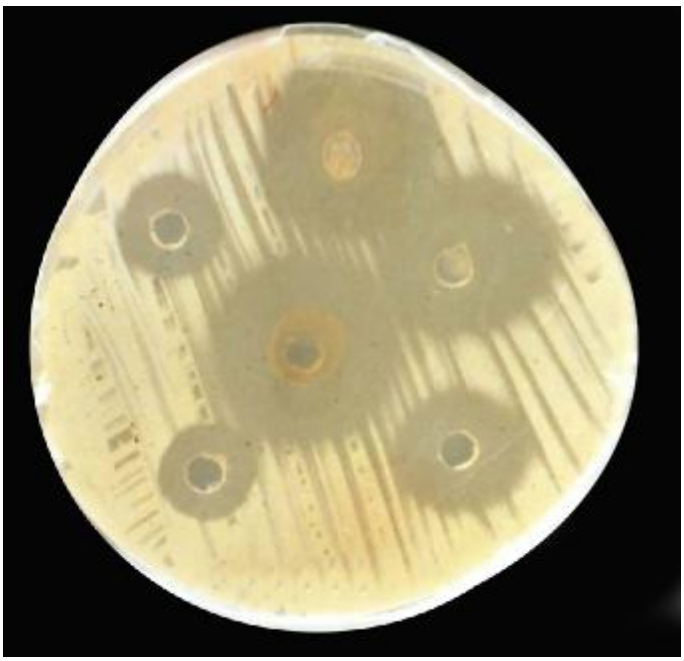
جدول (7) نتائج اختبار نمو العزلتينM1,M3 في ثلاثة تراكيز ملحية

العزلة البكتيرية المحلية	Nacl 3%	Nacl %7	Nacl 10%
M 1	++	+	-
M 3	++	-	-

++ نمو جيد , + نمو متوسط , - عدم النمو



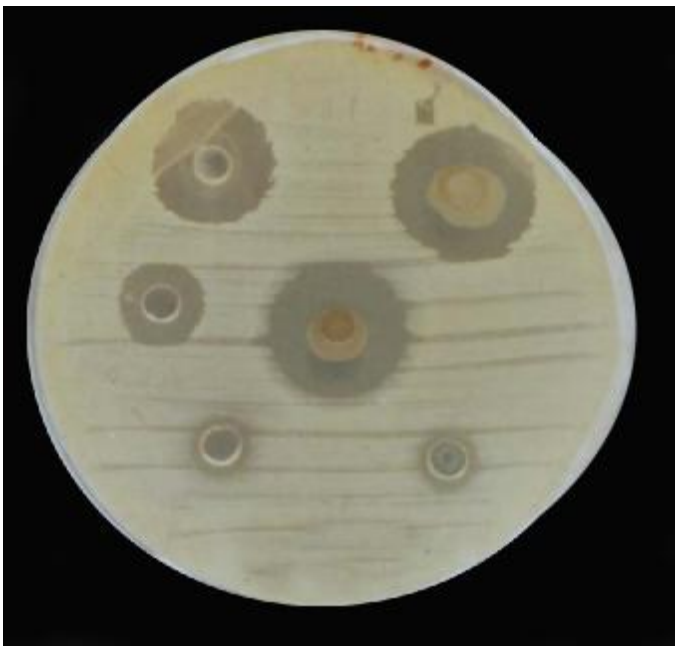
صورة (1):التاثير التثبيطي للعزلة M1=*Bacillus subtilius*
ضد *Staphylococcus aureus*



صورة (2):التاثير التثبيطي للعزلة *M3= Bacillus Polymyxa*
***Staphylococcus aureus* ضد**

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com

صورة (3): التاثير التثبيطي للعزلة M1=*Bacillus subtilius* ضد *Pseudomonas aeruginosa*



صورة(4): التاثير التثبيطي للعزلة M1=*Bacillus subtilius* ضد *Escherichia coli*

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 5c̊. 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 .

PDF created with pdfFactory Pro trial version www.pdffactory.com