

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدة بهجت مهدي

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

## Study the effect of different concentrations of some heavy metals on the growth of V.cholerae

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدة بهجت مهدي

كلية العلوم - الجامعة المستنصرية

كلية التقنيات الطبية - بغداد

كلية العلوم - جامعة كركوك

### الخلاصة

شملت الدراسة التحري عن مدى تحمل 14 عزلة من بكتيريا ضمات الكوليرا Vibrio cholerae وتضمنت ٧ عزلات من النمط المصلي 01 و ٧ عزلات من النمط المصلي Non-01 والمعزولة من بيئات مائية مختلفة (مياه اسنة، مياه ميازل، نهر ديالى) وأمعاء الأسماك في محافظة ديالى لتراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة (الزئبق، النحاس، الكاديوم، الخارصين، الكوبلت، الرصاص). أظهرت الدراسة أن ضمات الكوليرا المعزولة من المياه وأمعاء الأسماك لم تستطع من النمو على أوساط تحوي تراكيز ٠,٢ و ٢,٣ و ١,١ و ١,٣ و ٠,٩ و ٢,٣ ملي مول من عناصر الزئبق والنحاس والكاديوم والخارصين والكوبلت والرصاص على التوالي. لم تكن مقاومة العناصر الثقيلة مرتبطة بالنمط المصلي أو مصدر العزل بصورة عامة.

الكلمات المفتاحية: ضمات الكوليرا، العناصر الثقيلة

### Abstract

The study Investigates about the tolerance of 14 isolates of V .cholerae (includes 7 serotype 01 and 7 serotype NON 01) to different concentrations of some heavy metals such as: Hg ,Cu ,Cd ,Zn ,Co and Pb. The isolates were from different aquatic environment and fish gut in diala governorate from May to Augustus 2004. Concentration of 0.2, 2.4, 1.2, 1.4, 0.9 and 2.4  $\mu$ mol of mercury, cooper, cadmium, zinc, cobalt, lead respectively, inhibited the growth of V. cholerae , regardless the serotype or source of isolation.

Key word: Vibrio cholerae, Heavy metals

## دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدت بهجت مهدي

### المقدمة

بكتيريا ضمات الكوليرا *V.cholerae* أحد أنواع جنس *Vibrio* والتي تقع تحت عائلة الـ *Vibrionaceae* والتي ترجع إلى القسم الخامس في تصنيف *Berge's* والتي تشترك في كون أفرادها ذات شكل عصوي منحني وسالبة لصبغة غرام ولاهوائية اختيارية (١،٢)

إن أغلب العناصر الثقيلة التي توجد في المياه بسبب المخلفات الصناعية المختلفة تكون سامة جداً للأحياء المجهرية لاسيما عند وجودها بتراكيز عالية، بيد أن هذه الأحياء يمكن أن تحتاج إلى هذه العناصر بتراكيز واطئة جداً إذ أن قسم من هذه العناصر تعمل كمنشطات أنزيمية أو تكون جزء من الموقع الفعال لبعض الأنزيمات أو يدخل كجزء أساس في بعض الفيتامينات مثل الزنك والكوبلت والنحاس (٣،٤).

يتطلب تكيف المجتمعات البكتيرية للاجهاد البيئي كبح أو حث الأنزيمات أو التغير الوراثي، وإن هناك دلائل قوية بأن البكتيريا يمكنها التكيف بسرعة للمواد السامة في محيطها (٥). للبكتيريا عدد من الاستراتيجيات ومن خلالها تقلل سمية المواد السامة المحيطة بها وهذه تتضمن أنظمة خاصة للدفع الأيوني *Efflux system* وربط المعادن لمتعدد السكريات الخارج خلوية وأنظمة النقل الخلوية أو تحويل هذه المعادن إلى أشكال متطايرة أو أقل سمية. إن هذه الآليات قد تكون مسؤولة عنها محددات محمولة على البلازميدات فقد أشار (٦) إلى أن مقاومة التراكيز العالية لمعادن الكاديوم والكوبلت والنحاس والزنك والخاصين والرصاص يشفر لها بلازميدات، بينما أشار (٧) إلى أن مقاومة البكتيريا لهذه العناصر تعود إلى بلازميدات أو موروثات كروموسومية، كما وإن العوامل الوراثية المتحركة الموجودة في بكتيريا ضمات الكوليرا تحوي جينات تشفر لمقاومة بعض العناصر الثقيلة في البيئة فضلاً عن تشفيرها لمقاومة عدد من مضادات الحياة (٨)، ومن ناحية أخرى بين كل من (٩،١٠) بأن مقاومة البكتيريا السالبة لصبغة غرام للزنك مشفر لها على محددات غير كروموسومية.

إن استخدام المركبات العضوية التي تحوي العناصر الثقيلة في صناعات المنظفات السائلة والمطهرات والمبيدات الزراعية وكذلك استخدام حشوات الاسنان أو التي تحتوي على مركبات الزنك تُعد مشكلة بيئية كبيرة وتؤدي إلى تعرض البكتيريا إلى جرعات متعاقبة مؤدية إلى ظهور سلالات مقاومة لهذه العناصر (١١،١٢)، ففي دراسة لـ (١٣) لملاحظة تأثير المعادن الثقيلة على نمو ٨١ عزلة بكتيرية معزولة من البحر أوضح أن العزلات كانت حساسة للزنك والخاصين والكوبلت بنسب ٩١، ٨٤، ٨٣% على التوالي ولكنها كانت مقاومة للرصاص بنسبة ٩٤% وللنحاس ٢٢%، في حين أشار (١٤) إلى أن جميع عزلات بكتيريا الضمات المعزولة من الروبيان كانت مقاومة لتركيز ١٠ ملي مول من الكاديوم والخاصين والرصاص بينما كانت نسب المقاومة لعنصري النحاس والكوبلت ٧٠% و ٣٧% على التوالي، بينما كان (١٥) قد ذكر أن ضمات الكوليرا المعزولة من البيئة قادرة على النمو في أوساط زرعية تحتوي على تركيز ١٠ ملي مول من عناصر الزنك أو الكاديوم أو الكوبلت أو النحاس أو الخاصين أو الرصاص وإن المقاومة لهذه العناصر غير مرتبطة بالبلازميدات. وعليه فإن البحث يهدف إلى معرفة مدى تحمل هذه البكتيريا لتراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

نجدت بهجت مهدي زهير نعمان حمد رعد خليل عزيز

المواد وطرائق العمل

جمع العينات: جُمعت ١٢٠ عينة ماء من مواقع مختلفة في محافظة ديالى شملت أنهر ديالى، سارية الوند ومياه آسنة من مناطق مختلفة من أقضية بعقوبة والخالص والمقدادية وبلدروز وخانقين. تم عزل وتنمية وتشخيص العزلات البكتيرية (١٦) (ملحق ١)

تحضير العالق البكتيري: نقلت ٤-٥ مستعمرات نقية ومنفردة وحديثة وبوساطة عروة نقل من سطح وسط الاغار المغذي إلى ١٠ مللتر من وسط الببتون القاعدي وحضنت على حرارة 37°م ولمدة ١٨ ساعة للحصول على تركيز  $10^8$  خلية/مل إذ استخدم هذا العالق في المراحل اللاحقة من الاختبار.

محاليل المعادن الثقيلة: استعملت المعادن الثقيلة على شكل أملاح وهي: كلوريد الزئبق وكبريتات الخارصين المائية ونوات الرصاص ونوات الكاديوم وكبريتات النحاس وكلوريد الكوبلت. وقد استخرجت تراكيز العناصر الثقيلة من أملاحها وفق الطريقة الآتية (تم استخدام كلوريد الزئبق كمثال لاستخراج تركيز عنصر الزئبق من كلوريد الزئبق) (١٧)

١- إيجاد النسبة المئوية للعنصر في المركب:  
الوزن الذري للزئبق

$$\text{النسبة المئوية للزئبق} = \frac{100 \times \text{الوزن الجزيئي لـ } \text{HgCl}_2}{200,5}$$

$$73,85 = 100 \times \frac{271,5}{200,5}$$

٢- إيجاد عدد المولات في المعدن الثقيل:

النسبة المئوية

$$\text{عدد المولات} = \frac{\text{الوزن الذري للعنصر}}{73,85}$$

$$= \frac{0,368 \text{ مول}}{200,59}$$

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

نجدت بهجت مهدي زهير نعمان حمد رعد خليل عزيز

٣- إيجاد وزن العنصر المطلوب (أي عدد الغرامات في المول):

عدد المولات الوزن الجزيئي للنموذج

$$0,368 \quad 271,09$$

$$\times 1$$

$$= \frac{271,09 \times 1}{738 \text{ غم/مول}} = 0,368 \text{ (مولي مول)}$$

$$0,368$$

تم تحضير تركيز ١٠٠ ملي مول باستخدام القانون الآتي:

$$\text{التركيز (ت)} \times \text{الحجم (ح)} = \text{ت} \times \text{ح}$$

$$100 \times 50 = 5000$$

$$\text{ج} = \frac{5000}{100} = 50 \text{ مل من المحلول الذي تركيزه } 1000 \text{ ملي مول}$$

$$1000$$

ويكمل الحجم إلى ٥٠ مل استخدم كمحلول خزين Stock solution بتركيز ١٠٠ ملي مول وتم تحضير التراكيز الأخرى المطلوبة حسب الحاجة.

حضر وسط أكلر مولر هنتون حسب تعليمات الشركة المنتجة والمثبتة على العبوة وتم استخدام المحلول الخزين Stock solution لتحضير اوساط تحوي على تراكيز مختلفة من عناصر الزئبق والارصين والرصاص والكوبلت والنحاس والكادميوم وبواقع ثلاث مكررات عزلة ولكل تركيز واستخدم العالق البكتيري المحضر أعلاه لزراعة هذه الاطباق وبواقع ١٠ مايكروليتر لكل طبق وحضنت في درجة حرارة 37م ولمدة ٢٤ ساعة لقراءة النتائج كما تركت الاطباق التي لم تظهر فيها نمو لمدة ٤٨ ساعة.

### النتائج والمناقشة

في محاولة للتعرف على مدى تحمل ضمّات الكوليرا المعزولة لتراكيز مختلفة من العناصر الثقيلة والتي تشمل الكادميوم (Cd) والكوبلت (Co) والنحاس (Cu) والارصين (Zn) والزئبق (Hg) والرصاص (Pb) إذ ان هذه العناصر تدخل في صناعة الأصباغ ومبيدات الحشرات والأدغال، تم جمع عينات البحث من مياه قريبة من مصادر التلوث بفضلات معامل الأصباغ على نهر ديالى.

يتبين من الجدول (1) أن كافة عزلات ضمّات الكوليرا من أمعاء الأسماك والمياه لم تستطع مقاومة تركيز ١ ملي مول من الكادميوم بعد ٢٤ ساعة فيما عدا عزلة واحدة تنتمي إلى النمط المصلي ٠١ والمعزولة من المياه التي استطاعت النمو على هذا التركيز بعد ٢٤ ساعة، ويلاحظ من الجدول ان بعض العزلات التي لم تستطع النمو على تركيز ١ ملي مول بعد ٢٤ ساعة نجحت في النمو على هذا التركيز بعد ٤٨ ساعة، وكانت نسبة

العزلات النامية بعد (٤٨) ساعة ٤٣% تقريباً ويلاحظ من الجدول ان كافة عزلات بكتيريا ضمّات الكوليرا استطاعت النمو على تراكيز ٠,٥، ٠,٦، ٠,٧، ٠,٨، ٠,٩ ملي مول بغض النظر عن مصدر العزل أو النمط المصلي. أما فيما يتعلق بتركيز ٠,٨، ٠,٩، ٠,٩ ملي مول فيتبين من الجدول ان عزلات الكوليرا المعزولة من أمعاء الأسماك كافة استطاعت النمو على هذا التركيز بعد ٢٤ ساعة، في حين فشلت ٤.5% من عزلات ضمّات الكوليرا المعزولة من المصدر المائي، من النمو على هذا



دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

نجدت بهجت مهدي زهير نعمان حمد رعد خليل عزيز

التركيز بعد ٢٤ ساعة، غير ان ٥٠% من عزلات الكوليرا المعزولة من المياه من التي لم تنمو بعد ساعة 24 بغض النظر عن النمط المصلي استطاعت النمو على هذا التركيز بعد ٤٨ ساعة.

الجدول (1) تأثير التراكيز المختلفة لعنصر الكاديوم على نمو ضمات الكوليرا

مصدر العزل	النمط المصلي	تركيز العنصر (ملي مول)						
		١,٢	١,١	١,٠	٠,٩	٠,٨	٠,٧	٠,٦
المياه	01 Inaba	-	-	-	-	-	+	+
	01 Inaba	-	-	+	+	+	+	+
	01 Inaba	-	-	±	+	+	+	+
	01 Ogawa	-	-	-	-	-	+	+
	01 Ogawa	-	-	-	-	-	+	+
	Non-01	-	-	±	±	±	+	+
	Non-01	-	-	±	+	+	+	+
	Non-01	-	-	-	±	±	+	+
	Non-01	-	-	-	±	±	+	+
	Non-01	-	-	-	+	+	+	+
	Non-01	-	-	-	+	+	+	+
أمعاء سمك	01 Ogawa	-	-	±	+	+	+	+

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدة بهجت مهدي

الجري	01	+	+	+	+	+	+	±	-	-
	Ogawa	+	+	+	+	+	+	±	-	-
	Non-01	+	+	+	+	+	+	±	-	-

(+) وجود نمو.

(-) عدم وجود النمو.

(+) عدم وجود نمو في ٢٤ ساعة ووجودها بعد ٤٨ ساعة

أما فيما يتعلق بتحمل أو مقاومة البكتيريا للتراكيز المختلفة من النحاس، يبين الجدول (2) ان كافة عزلات البكتيريا بغض النظر عن مصدر العزل أو النمط المصلي لم تستطع مقاومة تراكيز النحاس ٢,٢-٢,١ ملي مول عدا عزلة واحدة تعود للنمط Non-01 المعزولة من الاسماك.

استطاعت معظم عزلات البكتيريا من النمو على تراكيز منخفضة من هذا العنصر إذ استطاعت النمو على تركيز ٠,٥، ١,٠، ١,٥، ١,٦، ١,٨، ١,٨ ملي مول فيما عدا عزلة واحدة والتي هي من النمط المصلي Non-01 المعزولة من الماء لم تستطع النمو على تراكيز ١,٥، 1.6، ١,٨ ملي مول نحاس.

الجدول (2) تأثير التراكيز المختلفة لعنصر النحاس على نمو ضمات الكوليرا

مصدر العزل	النمط المصلي	تركيز العنصر/ملي مول										
		٠,٥	١,٠	١,٥	١,٦	١,٧	١,٨	١,٩	٢,٠	٢,١	٢,٢	٢,٣
المياه	01 Inaba	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	01 Inaba	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-
	01 Inaba	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	01 Ogawa	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
	01 Ogawa	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدت بهجت مهدي

-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	أمعاء سمك الجري
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	Non-01	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	01 Ogawa	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	01 Ogawa	أمعاء سمك الجري
-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	

(+) وجود نمو.

(-) لا يوجد نمو.

يتبين من الجدول (2) أن 27.3% من الضمات المعزولة من الماء التي تتبع النمط المصلي ٠١ والذي يتبع تحت النمط Inaba و Ogawa وكذلك التابعة للنمط المصلي Non-01 لم يستطع مقاومة تركيز ١,٩ ملي مول واستطاعت ثلاث عزلات من البكتيريا (21.4%) المعزولة من المياه وأمعاء الأسماك النمو على تركيز ٢ ملي مول نحاس.

يبين الجدول (٣) إن كافة عزلات بكتيريا ضمات الكوليرا في هذه الدراسة لم تستطع مقاومة تركيز ٠,٥-٠,١ ملي مول زئبق فيما عدا عزلة واحدة معزولة من أمعاء الأسماك وأخرى معزولة من المياه استطاعت النمو على تركيز ٠,١ ملي مول فيما عدا ذلك نجحت كافة عزلات البكتيريا من النمو على كافة تراكيز الزئبق ابتداءً من ٠,٥ إلى ٠,٠٩ ملي مول زئبق بغض النظر عن نوع ومصدر عزل هذه الضمات باستثناء عزلتين من النوع المصلي ٠١ وعزلة واحدة من النوع المصلي Non-01 المعزولة من البيئة المائية لم تستطع النمو على تركيز ٠,٠٩ ملي مول زئبق. ويظهر من الجدول (٣) أيضاً أن تحت النوع Ogawa أكثر كفاءة في مقاومة تراكيز الزئبق السامة من تحت النوع المصلي Inaba إذ كانت ٦٦,٦% من الأفراد تحت النوع المصلي Inaba حساسة لتركيز ٠,٠٩ ملي مول في حين قاومت ١٠٠% من تحت النوع المصلي Ogawa فعل هذا التركيز بغض النظر عن مصدر العزل وبصورة عامة يبدو أن اختلاف النوع المصلي لا يؤدي إلى تباين كبير في قابلية بكتيريا ضمات الكوليرا على مقاومة تراكيز الزئبق السامة إذ تشابهت استجابة النوعين المصليين ٠١ و Non-01 للتراكيز المختلفة لعنصر الزئبق.

الجدول (3) تأثير التراكيز المختلفة لعنصر الزئبق على نمو ضمات الكوليرا

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدة بهجت مهدي

مصدر العزل	النمط المصلي	تركيز العنصر (ملي مول)						
		٠,٥	٠,٢	٠,١	٠,٠٩	٠,٠٨	٠,٠٧	٠,٠٦
المياه	01 Inaba	-	-	-	+	+	+	+
	01 Inaba	-	-	-	-	+	+	+
	01 Inaba	-	-	-	-	+	+	+
	01 Ogawa	-	-	-	+	+	+	+
	01 Ogawa	-	-	-	+	+	+	+
	Non-01	-	-	-	+	+	+	+
	Non-01	-	-	-	-	+	+	+
	Non-01	-	-	+	+	+	+	+
	Non-01	-	-	-	+	+	+	+
	Non-01	-	-	-	+	+	+	+
أمعاء سمك الجري	01 Ogawa	-	-	+	+	+	+	+
	01 Ogawa	-	-	-	+	+	+	+
	Non-01	-	-	-	+	+	+	+



دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدت بهجت مهدي

وكذا الحال مع المقاومة لعنصر الخارصين، إذ فشلت كافة عزلات البكتيريا في هذه الدراسة من النمو على تراكيز ١,٤-١,١ ملي مول خارصين عدا عزلتين. كما أن كافة العزلات استطاعت النمو على تراكيز ٠,٥ إلى ٠,٨ ملي مول فيما تبينت مقاومة عزلات البكتيريا لتركيز ٠,٩ و ١,٠ ملي مول خارصين وبغض النظر عن النمط المصلي أو تحت النمط المصلي إذ تشابهت استجابة أفراد النوع المصلي ٠١ (Ogawa و Inaba) المعزولة عن مصادر مختلفة في استجابتها للتراكيز السامة لعنصر الخارصين مع أفراد النمط المصلي Non-01 إلى حد ما (الجدول 4).

الجدول (4) تأثير التراكيز المختلفة لعنصر الخارصين على نمو ضمات الكوليرا

تركيز العنصر (ملي مول)										النمط المصلي	مصدر العزل
١,٤	١,٣	١,٢	١,١	١,٠	٠,٩	٠,٨	٠,٧	٠,٦	٠,٥		
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	01 Inaba	المياه
-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	01 Inaba	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	01 Inaba	
-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	01 Ogawa	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	01 Ogawa	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	Non-01	

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدة بهجت مهدي

-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	01 Ogawa	أمعاء سمك الجري
-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	01 Ogawa	
-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	

أما فيما يتعلق بمقاومة عزلات بكتيريا ضمات الكوليرا لعنصر الرصاص فيتبين من الجدول (٥) أنها استطاعت جميعاً من النمو على تراكيز تراوحت بين ١,٠ و ٢,١ ملي مول رصاص فيما عدا ثلاث عزلات لم تستطع النمو على تركيز 2.1 مع العلم بأنها معزولة من المياه وتتبع إلى أنواع مصلية مختلفة.

كما يلحظ من الجدول أن عزلات بكتيريا ضمات الكوليرا المعزولة من الأسماك كانت أكثر كفاءة في مقاومة تراكيز عنصر الرصاص السامة من عزلات المياه، إذ استطاعت جميعاً النمو على تركيز ٢,٢ ملي مول رصاص مقارنة بـ ١٨,٢% من عزلات المياه استطاعت النمو على هذا التركيز كما يتبين أنه ليس هناك فرقاً في مقاومة عنصر الرصاص تبعاً إلى تحت النمط المصلي إذ استجابت كافة أفراد بكتيريا ضمات الكوليرا قيد الدراسة والمعزولة من مصادر مختلفة والتابعة إلى أنواع مختلفة بطريقة متماثلة لتأثير عنصر الرصاص.

الجدول (5) تأثير التراكيز المختلفة لعنصر الرصاص على نمو ضمات الكوليرا

تركيز العنصر (ملي مول)									النمط المصلي	مصدر العزل
٢,٤	٢,٣	٢,٢	٢,١	٢,٠	١,٨	١,٦	١,٥	١,٠		
-	-	+	+	+	+	+	+	+	01 Inaba	المياه
-	-	-	+	+	+	+	+	+	01 Inaba	
-	-	-	+	+	+	+	+	+	01 Inaba	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	01 Ogawa	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	01 Ogawa	

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدة بهجت مهدي

-	-	-	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	+	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	-	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	+	+	+	+	+	+	+	01 Ogawa	أمعاء سمك الجري
-	-	+	+	+	+	+	+	+	01 Ogawa	
-	-	+	+	+	+	+	+	+	Non-01	

(+) وجود نمو.

(-) لا يوجد نمو.

تميزت مقاومة الكوبلت Co من قبل هذه البكتيريا بفشل كافة العزلات بغض النظر عن مصدر عزلها والنمط المصلي من النمو على تراكيز تراوحت من ٠,٧ إلى ١ ملي مول كوبلت فيما عدا ثلاث عزلات من ضمات الكوليرا المعزولة من الماء ومن النوعين المصليين ٠١ و Non-01 والتي استطاعت من النمو على تراكيز ٠,٧ و ٠,٨ ملي مول (٢٧,٣%) و من ناحية أخرى فشلت ٦٣,٦% و ٤٥,٤% من عزلات البكتيريا المعزولة من المياه من النمو على تراكيز ٠,٦ و ٠,٥ ملي مول على التوالي كما سجلت كافة العزلات نمواً واضحاً على تركيز ٠,٤ ملي مول كوبلت. إن استجابة بكتيريا ضمات الكوليرا قيد الدراسة لتأثير التراكيز المختلفة لعنصر الكوبلت لم يكن مرتبطاً بالنمط المصلي أو تحت المصلي كما هو الحال بعدم ارتباطها بمصدر عزل هذه الضمات (الجدول ٦)

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدة بهجت مهدي

الجدول ( 6 ) تأثير التراكيز المختلفة لعنصر الكوبلت على نمو ضمات الكوليرا

تركيز العنصر (ملي مول)							النمط المصلي	مصدر العزل
١,٠	٠,٩	٠,٨	٠,٧	٠,٦	٠,٥	٠,٤		
-	-	+	+	+	+	+	01 Inaba	المياه
-	-	-	-	-	+	+	01 Inaba	
-	-	-	-	-	+	+	01 Inaba	
-	-	-	-	-	-	+	01 Ogawa	
-	-	-	-	-	-	+	01 Ogawa	
-	-	-	-	+	+	+	Non-01	
-	-	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	+	+	+	+	+	Non-01	
-	-	-	-	-	-	+	Non-01	
-	-	-	-	-	-	+	Non-01	
-	-	-	-	-	-	+	Non-01	
-	-	-	-	+	+	+	01 Ogawa	أمعاء سمك الجرى
-	-	-	-	-	+	+	01 Ogawa	

دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدت بهجت مهدي

-	-	-	-	-	+	+	Non-01
---	---	---	---	---	---	---	--------

تنص تعليمات البرنامج العالمي لإزالة الملوثات من البيئة التابع للأمم المتحدة على اعتبار العناصر الثقيلة الكاديوم والنحاس والرصاص والزنك والزرنيق والكوبلت من أهم الملوثات الكيميائية للمحيط الخارجي خصوصاً البيئات الزراعية التي تستعمل مبيدات الحشرات ومبيدات الأعشاب كما أشار إلى ذلك (١٨)، إذ أن المنطقة التي جمعت منها العينات وأجري البحث فيها هي منطقة زراعية بالدرجة الأولى فإن استخدام المبيدات الحشرية والأدغال يعد من الأمور المسلم بها. وعلى ذلك تمت دراسة مقاومة بكتيريا ضمات الكوليرا للعناصر الثقيلة أعلاه وفي هذا المجال أشار (١٩، ٢٠) إلى إمكانية استعمال البكتيريا البحرية وبضمنها جنس الضمات كمزيلات للتلوث بالمعادن الثقيلة وأوضحت النتائج المتحصل عليها في الدراسة الحالية أن عزلات بكتيريا ضمات الكوليرا قاومت حوالي ٢١ جزء بالمليون زئبق (٠,١ ملي مول) وقاومت ١٠٠ جزء بالمليون كاديوم (٠,٩ ملي مول) وكذلك قاومت أكثر من ٤٠٠ جزء بالمليون رصاص (٢ ملي مول).

لم تتوفر لدينا معلومات عن مياه ديالى من ناحية احتوائه على المعادن الثقيلة ومقاومة البكتيريا في هذه المياه لتلك المعادن الا في دراسة (١٧) والذي أوضح في دراسته ان العزلات التي حصل عليها من بكتيريا إيشريشيا القولون كانت مقاومة بصورة واضحة لمعادن الزئبق، الكاديوم، النحاس، الكوبلت، وإذا أخذنا بنظر الاعتبار ان العزلات التي استخدمت في تلك الدراسة هي عزلات سريرية ومعرضة باستمرار إلى تراكيز عالية من مضادات الحياة المستخدمة في علاج المرضى مما أضفى عليها صفة المقاومة للمعادن الثقيلة والتي وجد أنها ترتبط ارتباطاً وثيقاً بالمقاومة لمضادات الحياة كما أشار إلى ذلك (٢١) الأمر الذي اختلف في دراستنا الحالية والتي أوضحت أن صفة مقاومة المعادن الثقيلة في بكتيريا ضمات الكوليرا قيد الدراسة لم يكن مرتبطاً بمقاومة مضادات الحياة الأمر الذي يؤكد اعتقادنا بأن هذه العزلات هي عزلات بيئية أو أنها عزلات سريرية طُفرت لتلائم البيئات الخارجية (٢٢) إلا أن كلا النوعين من العزلات يتشابهان في إمراضيتها للإنسان قدر تعلق الأمر بإنتاج السموم البكتيرية، فقد أشار (١٤) إلى أن بكتيريا *V. parahaemolyticus* البيئية المصدر تكون أكثر مقاومة لفعل العناصر الثقيلة من العزلات سريرية المصدر آخذين بنظر الاعتبار أن وجود المنظفات والمعقمات والمواد الكيميائية في العينات الخارجية تزيد من مقاومة البكتيريا للمعادن الثقيلة (١١).

إن النتائج المبينة في هذه الدراسة تشير إلى زيادة مقاومة بكتيريا ضمات الكوليرا لتراكيز المعادن الثقيلة مقارنة بما وجدته حامد (١٩٩٨) والذي أجرى دراسته كما أشير سابقاً على مياه نهر ديالى بالتحديد ويمكن مناقشة هذه الزيادة على أساس:

- (١) اختلاف في النوع البكتيري على الرغم من ان بكتيريا إيشريشيا القولون تستخدم كدليل على التلوث البرازي في فحوصات المياه (٢٣).
- (٢) ازدياد تراكيز المعادن الثقيلة في عينات المياه المختبرة في هذه الدراسة والتي شملت المياه الآسنة والمبازل في منطقة ديالى، قد أدى بضمات الكوليرا إلى ارتفاع مستوى تعرضها للمعادن الثقيلة مؤدية بذلك إلى وجود طفرات وراثية مقاومة أو حدوث ما يطلق عليه بالتطبع البيئي لتراكيز العناصر الثقيلة العالية كما أشار إلى ذلك (٢٤).





دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدة بهجت مهدي

**REFERENCE**

1. Todar, K. (2002). *Vibrio cholerae and Asiatic cholera*. University of Wisconsin, Madison Department of Bacteriology.
2. Holt, J.G.; Krieg, N.R.; Sneath, P.H. and Bergy. (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, (9<sup>th</sup> ed.). Lippincott, Williams & Wilkins, East Lansing, Mich.
3. Fong, S.F.; Camakaris J. and Lee, B.T.O. (1995). Molecular genetics of a chromosomal locus involved in copper tolerance in *E.coli* K-12. *Mol. Microbiol.* 15: 1127-1137.
4. Bowen, H.J. (1979). *Environmental chemistry of elements*. Acad. Press, London.
5. Ford, T. (1994). *Pollutant Effects on the Microbial Ecosystem*. Genetic & Molec. Ecotoxicology Conference Environmental Health Perspectives. Yountville, California.
6. Silver, S. and Phung, L.T. (1996). Bacterial Heavy Metal Resistance : New Surprises. *Annual Rev. of Microbiology* 50: 753-789.
7. Silver, S. (2002). A bacterial view of the periodic table: Genes for bad ions. Society for General Microbiology. Irish Branch Spring Meeting Institute of Technology. Carlow.
8. Beaber, J.W.; Burrus, V.; Hochhut, B. and Waldor, M.K. (2002). Comparison of SXT and R391. Two conjugative integrating elements definition of a genetic backbone for mobilization of resistance determinants. *Cell. Mol. Life Sci.* 59: 2065-2070.
9. Barkay, T.; Miller, S.M. and Summers, A.O. (2003). Bacterial mercury resistance from atoms to ecosystem. *FEMS. Microbiol. Rev.* 27(2-3): 335-384.
10. Brown, N.L.; Shih, Y.S.; Leang, C.; Wilson, R. and Hobman, L. (2002). Bacterial mercury uptake and resistance-complex genotype, simple phenotype Society for General Microbiology Irish Branch Spring Meeting. Institute of Technology. Carolina.
11. Poiata, A.; Bodicut, I. Indres, M.; Biro, M. and Buiue, D. (2000). Mercury resistance among clinical isolates of *E.coli*. *Roum Arch. Microbiol. Immunol.* 59(1-2): 71-79
12. De, J. and Ramaiah, N. (2004). Bioremediation potential of mercury resistance marine bacteria. Conference on microbiology of the tropical seas. National Institute & Oceanography, Dona Puala, Goa 403004 India Dec. 2004
13. Sabry, S.A.; Ghazlan, H.A. and Abou-Zeid, D.M. (1997). Metal tolerance and antibiotic resistance patterns of bacterial population isolated from sea water. *J. Appl. Microbiol.* 82(2): 245-252.
14. Bhattacharya, M.; Choudhury, P.; Kumar, R. (2000). Antibiotic- and metal-resistance strains of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from shrimps. *Microb. Drug Resist.* 6(2): 171-172.
15. Choudhury, P. and Kumar, R. (1996). Association of metal tolerance with multiple antibiotic resistance of enteropathogenic organism isolated from coastal region of deltaic Sunderbans. *Indian J. Microbiol.* 104: 148-157.



دراسة تأثير تراكيز مختلفة لبعض العناصر الثقيلة على نمو بكتيريا ضمات الكوليرا

رعد خليل عزيز

زهير نعمان حمد

نجدت بهجت مهدي

- 16 Haamed Saad L. (1998). Genitital study of heavy metals resistant E.coli in Dyala river. Msc. College of Science. Almustanseryah University. (in Arabic).
- 17 مهدي ، نجدت بهجت .تأثير بعض العوامل الفيزيائية والكيميائية على التغيرات الشكلية في بكتيريا ضمات الكوليرا . المعزولة بيئيا. اطروحة دكتوراه-الجامعة المستنصرية-٢٠٠٦.
- 18 . Cameron, R.E. (1992). Guide to site and soil description for hazard waste characterization. Vol.I. Metals Environmental Protection Agency EPA/600/4-91/029.
- 19 . Sarkar, A.; De. J. and Ramaiah, N. (2003). Microbial process for degradation of PCBS in Clophen A-50 using anoval marine microorganism, Pseudomonas CH07 US patent no.6. 544, 773 granted on April 8, 2003.
- 20 . Champ, M.A. (2000). A review of organotim regulatory strategies: Pending actions, related costs and benefits. Sci.Tol.Environ. 258: 21-71.
- 21 . Lazar, V.; Cernat, R.; Balotescu, C.; Cotar, A.; Coipan, E. and Cojocarue, C. (2002). Correlation between multiple antibiotics resistance and heavy metal tolerate among some E.coli strains isolated from polluted waters. Bacteriol Virusil Parazitol Epidemiol. 47(3-4): 155-160.
- 22 Lipp, E.K.; Huq, A. and Colwell, R.R. (2002). Effects of Global Climate on Infectious Disease: The Cholera Model. Clin. Microbiol.Rev. 15(4): 757-770.
- 23 . Sleight, J.D. and Timbury, M.G. (1981).Notes on Medical Bacteriology (1 ed.). Churchil Livingstone.
24. Faruque, S.M. and Nair, G.B. (2002). Molecular Ecology of Toxigenic Vibrio cholerae. Microbiol . Immunol. 46(2): 39-66.