مجلة علوم البحار والتقنيات البيئية
المجلد (11)، العدد (1) (يونيو-2025)

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

DOI: https://doi.org/10.59743/jmset.v11i1.182

مقاومة المضادات الحيوية في عزلات بكتيرية من عينات المياه العذبة ومياه البحر في مدينة زليتن، ليبيا

سعاد الدبرزي[1، *]، منصور محمد الحولي[2]، القاسم شكشك[1]، علي المشغب[1]، و حنان التونسي[1]

[1)] قسم علم الحيوان، كلية العلوم، الجامعة الأسمرية الإسلامية، زليتن، ليبيا.

[2)] المعهد العالي للعلوم والتقنية–قصر الأخيار، قصر الأخيار، ليبيا.

*البريد الإلكتروني: s.adbarzi@asmarya.edu.ly

Antibiotic Resistance in Bacterial Isolates from Freshwater and Seawater Samples in Zliten City, Libya

Soad S. Adbarzi[1, *], Mansor M. Alholi[2], Alkasm H. Shukshuk[1], Ali Almashgab[1], and Hanan O. M. Altunsi[1]

[1)] Department of Zoology, Faculty of Science, Alasmarya Islamic University, Zliten, Libya.

[2)] The Higher Institute of Science and Technology-Qasr Al-Akhyar, Qasr Al-Akhyar, Libya.

Received: 12 June 2025; Revised: 22 June 2025; Accepted: 30 June 2025.

الملخص

يعتبر الماء أكثر البيئات ملائمة لنمو مختلف أشكال الحياة، حيث يعتبر مستودعاً لمجموعة واسعة من البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية، وتشمل البكتيريا المسببة للأمراض والتي لديها القدرة على مقاومة المضادات الحيوية مما يشكل مخاطر على الصحة العامة. في هذه الدراسة، تم تحديد مقاومة العزلات البكتيرية من البحر والمياه العذبة في زليتن، ليبيا لعدد خمس مضادات حيوية توصف بشكل متكرر. ولوحظ أن التسلسل الأول LC532105 من مياه وادي كعام يُظهر تشابهًا مع سلالة *Citrobacter freundii* NCTC9750، ويُظهر التسلسل الثاني LC532106 تشابهًا مع سلالة *Bacillus pumilus* ATCC 7061، ويُظهر التسلسل الثالث LC532107 تشابهًا مع سلالة *Bacillus megaterium* ATCC 14581. يُظهر التسلسل الرابع من مياه البحر تشابهًا مع سلالة *Citrobacter freundii* NCTC9750، ويُظهر التسلسل الخامس تشابهًا مع سلالة *Proteus vulgaris* ATCC 29905، بينما يُظهر التسلسل الأخير تشابهًا مع سلالة *Pseudomonas aeruginosa* DSM 50071. سلالة النوع الأول والرابع (*Citrobacter freundii*) غير سامة، بينما كانت الأنواع الثانية والثالثة والخامسة والسادسة سامة، وخاصةً *Pseudomonas aeruginosa*. أظهرت جميع العزلات البكتيرية مقاومةً للسيفوتاكسيم (Cefotaxime). توصي الدراسة بالتحليل الدوري للخصائص الفيزيائية والكيميائية ومقاومة المضادات الحيوية في المياه السطحية.

الكلمات الدالة: البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية، تسلسل جين 16S rRNA، البحر الأبيض المتوسط، مياه وادي كعام، زليتن، ليبيا.

Abstract

Water is the most favorable surrounding for various life forms to grow. The aquatic environments are recognized reservoirs of a broad spectrum of antibiotic-resistant bacteria, including pathogenic ones, which have the potential to spread antibiotic resistance to different environments and pose risks to public and environmental health. This work estimated the resistance of six identified bacterial isolates from sea and freshwater in Zliten, Libya, to five frequently prescribed antibiotics. It was observed that the first sequence LC532105 from Wadi Kaam water shows similarity with *Citrobacter freundii strain* NCTC9750, second sequence LC532106 shows similarity with *Bacillus pumilus strain* ATCC 7061, third sequence LC532107 shows similarity with *Bacillus megaterium strain* ATCC

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

14581, fourth sequence from sea water shows similarity with *Citrobacter freundii strain* NCTC9750, fifth sequence shows similarity with *Proteus vulgaris strain* ATCC 29905, while last sequence shows similarity with *Pseudomonas aeruginosa strain* DSM 50071. The first and fourth type strains (*Citrobacter freundii*) are not toxic, and the second, third, fifth, and sixth types were toxic, especially *Pseudomonas aeruginosa*. All bacterial isolates from both sampling sites showed resistance against cefotaxime. A continuous analysis for the physicochemical and antibiotic resistance profile of bacterial isolates of surface water is frequently required.

Keywords: *Antibiotic-resistant bacteria, 16S rRNA Gene sequencing, Mediterranean Sea, Wadi Kaam water, Zliten, Libya.*

1. المقدمة

يعد التنوع الحيوي للمياه السطحية من حيث المحتوى الجيني، مصدرًا هامًا للبكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية (ARB)، حيث تشمل البكتيريا المسببة للأمراض، كما أنها تُمثل بيئة جيدة لتطور مقاومة المضادات الحيوية لدى البكتيريا التي تتشارك نفس البيئة (Hassan *et al*., 2020; Irfan & Alatawi, 2019; Vilca & Angeles, 2018). عالمياً، تؤثر مشكلة مقاومة المضادات الحيوية على الصحة العامة، من خلال تعقيد علاج العدوى وارتفاع تكلفة العلاج. وفقًا لمنظمة الصحة العالمية، فإن خيارات العلاج قد استنفذت تقريبًا مع التزايد السريع لمقاومة المضادات الحيوية (WHO, 2021; 2017).

يمثل سد وادي كعام أحد أكبر السدود الترابية في العالم، حيث يقع بين المرتفعات الجبلية لتجميع مياه الأمطار والذي يسع حوالي 33 مليون متر مكعب من المياه على امتداد كيلومترات، ويبعُد حوالي 7 كم عن الطريق الساحلي لمدينة زليتن، ليبيا. ونظرًا لخصائصها الجيوفيزيائية والكيميائية، فإن هذه البحيرة الطبيعية الضخمة خلف السد تمثل موطنًا فريدًا للميكروبات، ومن المعروف أيضاً، أن البيئة البحرية تزخر بأشكال متنوعة من الحياة المجهرية، التي نحتاج إلى دراستها ومعرفة تلك الأنواع المفيدة للاستفادة منها في توفير منتجات وخدمات جديدة، وتجنب الضارة منها.

أدى النمو الحضري السريع والتصنيع إلى زيادة معدل تلوث البيئات المائية المختلفة عبر المصادر البشرية، حيث تتلوث هذه الأجسام المائية الغير محمية بالنفايات الزراعية، والصناعية ومياه الصرف الصحي بالإضافة إلى فضلات الحياة البرية التي تنتقل إليها مع الأمطار. تعد البيئات المائية مصدراً كبيرا للميكروبات بما في ذلك البكتيريا التي تلعب دورًا رئيسيًا كمحركات لعمليات النظام البيئي والتي تؤثر على جميع الكائنات الحية بما في ذلك الأسماك، النباتات، الحيوانات والبشر. تعد الجودة الميكروبيولوجية للمياه السطحية مؤشرًا صحيًا لتحديد المواقع الملوثة وتقدير مدى التلوث. في الآونة الأخيرة، تم استخدام تسلسل سانجر (Sanger Sequencing) لوصف بنية المجتمع الميكروبي وتكوينه، حيث اعتمدت معظم دراسات المجتمعات الميكروبية في الأنظمة البيئية المختلفة على جين واحد وهو جين الحمض النووي الريبوزي الريبوسومي 16S rRNA (Poretsky *et al*., 2014).

يُعد الانتشار السريع للبكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية (ARB) أحد أخطر قضايا الصحة العامة في جميع أنحاء العالم، حيث تم التأكيد على تزايد البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية، كنتيجة للإفراط في استخدام المضادات الحيوية في العلاج والزراعة (Moyane *et al*., 2013). وتعتبر البيئة المائية مستودعًا موثقا للبكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية (Batt *et al*., 2007)، وقد أفادت العديد من المنشورات العالمية بانتشار البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية في المسطحات المائية الطبيعية (Schwartz *et al*., 2003; AbdelRahim *et al*., 2015; Guzman-Otazo *et al*., 2019; Singh *et al*., 2020) وأنظمة الصرف الصحية (Guardabassi *et al*., 1998; Chagas *et al*., 2011; Marathe *et al*., 2016; Turolla *et al*., 2018; Adbarzi *et al*., 2020).إن عدم كفاءة محطات معالجة مياه الصرف الصحي في إزالة كل البكتيريا المقاومة

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

للمضادات الحيوية وجيناتها المقاومة من المياه، يؤدي إلى تضخيم حمولتها في العديد من المسطحات المائية (Alexander et al., 2020; Amarasiri et al., 2020). وقد قُدِّر مؤخرًا أن معظم أنظمة الأنهار تحتوي على معدلات عالية نسبيًا من البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية (98% من إجمالي البكتيريا المكتشفة) ثم البحيرات (77% من إجمالي البكتيريا المكتشفة) والبرك والينابيع (أقل من 1%) (Chauhan & Punia, 2023). حيث يتم التحكم في مقاومة المضادات الحيوية وراثيًا بواسطة الجينات المقاومة للمضادات الحيوية (ARGs) والموجودة على الكروموسومات والبلازميدات، والتي تم الكشف عنها في البيئات المائية المختلفة (Henriques *et al*., 2006; Zhang *et al*., 2009; Guo *et al*., 2021)، حيث تمتلك البكتيريا خصائص انتقالية واقترانيه تمكنها من نقل جينات البلازميد الخاصة بها، والتي يمكن أن تؤدي إلى تطوير مقاومتها لمجموعة واسعة من المضادات الحيوية (Berger-Bächi, 2002). عمومًا، تُعد الدراسات حول التنوع الميكروبي في الأنظمة المائية الليبية قليلة، وقد استخدمت هذه الدراسة طريقة الزرع الجرثومي وتقنيات جزيئية أخرى للكشف عن عدد قليل من البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية في مياه وادي كعام ومياه البحر في مدينة زليتن، ليبيا.

2. المواد وطرق العمل

تم جمع العينات من المياه السطحية المالحة والعذبة من البحر ومياه وادي كعام خلال شهر يناير 2019 بمدينة زليتن، ليبيا. وتم جمع العينات على عمق 15 سم تحت سطح الماء وتم حفظ العينات في مبرد خاص بحفظ العينات. وتم إجراء هذه الدراسة في معمل (CytoGene Research & Development Laboratory, Lucknow, U.P. India).

1.2. عزل البكتيريا

تم تخفيف العينات بشكل متسلسل ونشرها على nutrient agar media. وحُضنت عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24–48 ساعة للسماح بنمو البكتيريا. تم اختيار المستعمرات البكتيرية المختلفة مورفولوجياً.

2.2. عزل الحمض النووي

تم عزل الحمض النووي البكتيري من 1.5 مللتر من المرق البكتيري المُحضر من العزلات البكتيرية المختارة باستخدام مجموعة Nucleo-pore gDNA Fungal/Bacterial Mini Kit وفقًا لبروتوكول الشركة المصنعة (Genetix Biotech Asia). وتم تحليل الحمض النووي المعزول على (Agarose gel).

3.2. تضخيم جين 16S rRNA

جينات 16S rRNA لجميع عينات DNA البكتيري تم تضخيمها باستخدام تقنية PCR.

4.2. تحديد تسلسل 16S rRNA

تم إرسال نواتج تضخيم جينات 16S rRNA إلى معمل Sequencing، لإجراء عملية The High Throughput Sequencing باستعمال طريقة Sanger، وتم تحليل سلاسل جينات 16S rRNA باستعمال BLAST server.

5.2. تحديد مقاومة البكتيريا المعزولة للمضادات الحيوية

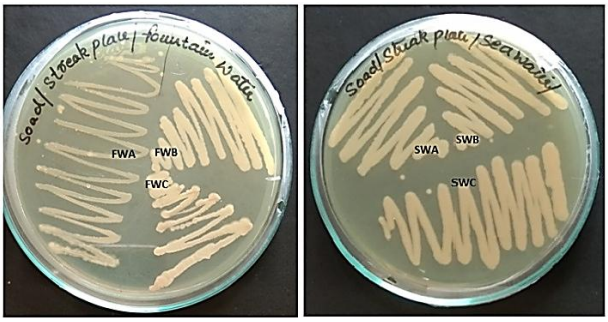
حُددت أنماط حساسية البكتيريا المعزولة للمضادات الحيوية باستخدام طريقة The agar well diffusion (Murray *et al*., 1995)، واستُخدمت لهذا الغرض خمس مضادات حيوية والتي تُمثل أربع فئات وهي: بيتا لاكتام: (أمبيسيلين (AMP)

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

وسيفوتاكسيم (CTX))، التتراسيكلين (TET)، الكينولون (نورفلوكساسين (NRX)) والأمينوغليكوزيدات (ستربتوميسين (STR)). تم تقييم حساسية البكتيريا المعزولة للمضادات الحيوية المستخدمة وفقًا لمعهد المعايير السريرية والمخبرية (CLSI, 2016). تم نشر 80 µL من المرق البكتيري المُحضّر على الطبق المغذي nutrient agar، ووُضع 20 µL من محاليل المضادات الحيوية المختارة بتركيز 1000 ppm (1mg/mL) في حفر مختلفة تم حفرها خلال الآجار، ثم حُضّنت عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 16–18 ساعة. تم قياس مناطق التثبيط، وصُنّفت العزلات إلى حساسة (S)، ومتوسطة (I)، ومقاومة (R) وفقًا لجداول وإرشادات (CLSI, 2016).

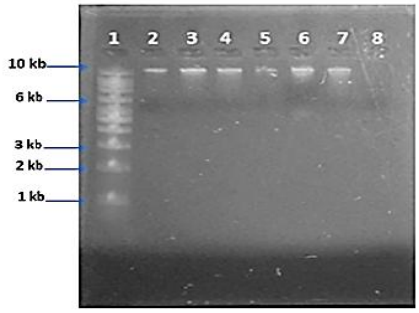
3. النتائج

تم اختيار ثلاث مستعمرات بكتيرية مختلفة مورفولوجيا من كل عينة وتم تخطيطها على الآجار المغذي كما هو موضح في (الشكل 1).



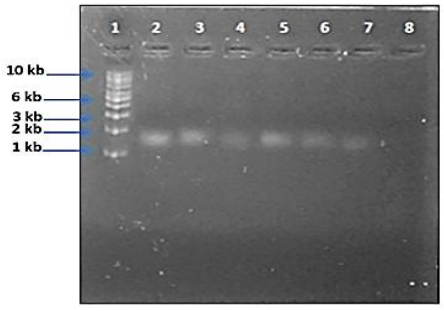
شكل 1. عزلات بكتيرية من عينات ماء البحر ووادي كعام.

وباستخدام مجموعة Nucleo-pore gDNA Fungal/Bacterial Mini Kit، تم عزل الحمض النووي الجينومي DNA بحجم 10kb (الشكل 2). تم تضخيم جين 16S rRNA بواسطة تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) باستخدام 16S rRNA Primer، وأُجريت عملية الترحيل الكهربائي للهلام (agarose gel) (الشكل 3).



شكل 2.

Agarose gel electrophoresis for the genomic DNA extracted from the Wadi Kaam and Sea water.
Samples designated as;
Lane 1: DNA ladder (10kb),
Lanes 2, 3, 4: Sea water,
Lane 5, 6, 7: Wadi Kaam fresh water.



شكل 3.

Agarose gel electrophoresis of amplified 16S-rRNA products for the Sea and Wadi Kaam
Water samples designated as;
Lane 1: DNA ladder (10kb),
Lanes 2, 3, 4: Sea Sample,
Lane 5, 6, 7: fresh Sample,
Lane 8: Negative Control.

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

بعد تحديد تسلسل جينات 16S rRNA للبكتيريا المعزولة باستخدام طريقة (Sanger)، قُدمت جميع بيانات سلاسل جينات 16S rRNA في هذه الدراسة إلى البنك الياباني لبيانات الحمض النووي الريبي (DDBJ)، والذي منحها رموزا خاصة تم إدراجها في (الجدول 1).

جدول 1. رموز سلاسل جينات 16S rRNA للبكتيريا المعزولة من عينات مياه البحر ووادي كعام.

Sample	Sample description	Code Sequence	% of similarity	First similarity type	Gram stain	Length
A	Wadi Kaam lake FWA	LC532105	99.4%	*Citrobacter freundii strain* NCTC 9750	(-)	1321
B	Wadi kaam lake FWB	LC532106	99 %	*Bacillus pumilus strain* ATCC 7061	(+)	1431
C	Wadi kaam lake FWC	LC532107	99%	*Bacillus megaterium strain* ATCC 14581	(+)	1388
D	Sea SWA	LC532108	98.79 %	*Citrobacter freundii strain* NCTC 9750	(-)	1314
E	Sea SWB	LC532109	99.5 %	*Proteus vulgaris strain* ATCC 29905	(-)	1475
F	Sea SWC	LC532110	98 %	*Pseudomonas aeruginosa strain* DSM 50071	(-)	1451

نتائج اختبار حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية موضحة في (الجدول 2). في عينات مياه وادي كعام، أظهرت العزلات البكتيرية الثلاثة (FWA وFWB وFWC) مقاومة اتجاه المضادات الحيوية المختلفة كما موضح في الشكل (4). أظهرت البكتيريا المعزولة Citrobacter *freundii* (FWA) مقاومة ضد 3 فئات مختلفة من المضادات الحيوية السيفوتاكسيم، الأمبيسلين (بيتا لاكتام)، النورفلوكساسين والستربتومايسين. وأظهرت البكتيريا المعزولة *Bacillus pumilus* (FWB) مقاومة ضد السيفوتاكسيم والنورفلوكساسين. واكتسبت *Bacillus megaterium* (FWC) مقاومة ضد السيفوتاكسيم، الأمبيسلين والستربتومايسين.

جدول 2. نتيجة اختبار حساسية المضادات الحيوية

S. Code	Bacterial isolate	Sequence code	Zone of Inhibition (mm)				
			CTX	TET	NRX	AMP	STR
SWA	*Citrobacter freundii*	LC532108	Nil	Nil	15(R)	26(S)	18(I)
SWB	*Proteus vulgaris*	LC532109	Nil	13(R)	20(I)	Nil	Nil
SWC	*Pseudomonas aeruginosa*	LC532110	Nil	30(S)	Nil	15(R)	18(I)
FWA	*Citrobacter freundii*	LC532105	Nil	17(I)	Nil	Nil	Nil
FWB	*Bacillus pumilus*	LC532106	Nil	20(I)	Nil	19(I)	28(S)
FWC	*Bacillus megaterium*	LC532107	Nil	22(S)	27(S)	Nil	Nil

*درجة الحساسية: S= حساسة (≤ 21 مم)؛ I= متوسطة (16–20 مم)؛ R= مقاومة (≥ 15 مم).

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

شكل 4. اختبار حساسية العزلات البكتيرية من مياه وادي كعام لبعض المضادات الحيوية.

في العينات البحرية (الشكل 5)، أظهرت البكتيريا المعزولة (SWA) *Citrobacter freundii* مقاومةً للسيفوتاكسيم، النورفلوكساسين والتتراسيكلين، بينما أظهرت (SWB) *Proteus vulgaris* مقاومةً للسيفوتاكسيم، التتراسيكلين، الأمبيسلين والستربتومايسين، بينما أظهرت (SWC) *Pseudomonas aeruginosa* مقاومةً للسيفوتاكسيم، النورفلوكساسين والأمبيسلين.

شكل 5. اختبار حساسية العزلات البكتيرية من مياه البحر لبعض المضادات الحيوية.

4.المناقشة

في يومنا هذا تُعدّ مقاومة المضادات الحيوية أحد التهديدات الرئيسية للصحة العامة وسلامة الغذاء والتنمية. تحدث هذه الظاهرة بشكل طبيعي، إلا أن إساءة استخدام المضادات الحيوية للبشر والحيوانات تُسرّع من تفاقمها. تُعدّ البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية سببًا رئيسيًا لتزايد عدد الإصابات الشديدة والوفيات (WHO, 2014; 2015).

في البكتيريا سالبة الجرام، تتوسط إنزيمات بيتا لاكتاماز واسعة الطيف (ESBLs) بشكل رئيسي مقاومة الجيل الثالث من السيفالوسبورينات بما في ذلك (السيفوتاكسيم). والتي تُعطي مقاومة لجميع البيتا لاكتامات باستثناء الكاربابينيمات والسيفاميسينات، وهي حاليًا من بين أكثر آليات مقاومة المضادات الحيوية انتشارًا عالميًا (Alder *et al.*, 2016; Bush, 2018; 2020).

في هذا العمل، تم عزل وتحديد ست سلالات مقاومة للمضادات الحيوية وهي: *Citrobacter freundii* (n= 02)، *Proteus vulgaris*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Bacillus pumilus* و *Bacillus megaterium* وذلك بناءً على تسلسل 16S rRNA المتوافق مع قاعدة بيانات Gen Bank باستخدام أداة البحث (BLAST). وقد نُشرت بيانات

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

سلاسل 16S rRNA بالفعل، وأظهرت جميع العزلات البكتيرية من كلا الموقعين مقاومة للسيفوتاكسيم (بيتا لاكتام)، حيث يلعب هذا دورًا هامًا في انتشار مقاومة السيفوتاكسيم في المجتمعات البكتيرية في هذه النظم البيئية. وقد يشير ظهور بكتيريا مقاومة للمضادات الحيوية في أنظمة المياه العذبة والبحرية إلى تصريف مياه الصرف الصحي غير المعالجة وخاصة مياه الصرف الصحي للمستشفيات في البيئة البحرية؛ وما يتبع ذلك من الضغط الانتقائي للبكتيريا المقاومة لهذه الأدوية، بسبب احتوائها على كميات كبيرة من هذه المضادات الحيوية في النفايات السائلة المصروفة. أُجريت دراسات عديدة لعزل وتوصيف البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية من الأنظمة المائية من بينها دراسة في البرتغال حول وجود بكتيريا معوية مقاومة للسيفوتاكسيم وناقلات blaCTX-M على طول نهر ملوث بشدة، كشفت الدراسة أنه من بين 147 عزلة مقاومة للسيفوتاكسيم، كان 46% منها تحمل blaCTX-M وهو بيتا لاكتاماز ممتد الطيف (ESBLs) وكانت مرتبطة ببكتيريا *Escherichia*، *Enterobacter*، *Klebsiella* و*Citrobacter* (Tacão *et al.*, 2022). تشير الدراسة الحالية إلى أن العزلات البكتيرية (*Citrobacter freundii*) من كلا الموقعين أظهرت مقاومة ضد السيفوتاكسيم والنورفلوكساسين، بالإضافة إلى مقاومة التتراسيكلين في العزلات البحرية.

يرتبط حدوث وانتشار مقاومة التتراسيكلين في النظم البيئية المائية بمجموعتين رئيسيتين من جينات مقاومة التتراسيكلين، أولهما: تلك المسؤولة عن التدفق المعتمد على البروتون، وفيها يضخّ التتراسيكلين بنشاط خارج الخلية عن طريق تبادل بروتون بمركب كاتيون التتراسيكلين وثانيا: تلك التي تمنح الحماية الريبوسومية بواسطة البروتينات السيتوبلازمية (Yamaguchi, 1997). علاوة على ذلك، فإن معظم بكتيريا *Citrobacters* المقاومة للتتراسيكلين تحمل جينات مقاومة للتتراسيكلين tetB وtetA. تنشأ مقاومة بكتيريا *Citrobacter freundii* للتتراسيكلين من الجين المسمى tetB والذي يُشفر لمضخة التدفق (Nawaz *et al.*, 2008). في البحث نفسه، ركز Nawaz وآخرون (2008) على توصيف أنواع *Citrobacter spp* المقاومة للتتراسيكلين المعزولة من سمك السلور في الولايات المتحدة بناءً على الخصائص المورفولوجية والكيميائية الحيوية، حيث تم تحديد ثمانية وثلاثين بكتيريا *Citrobacter's* المقاومة للتتراسيكلين على أنها *C.freundii* اعتمادا على تحديد جين tetB بواسطة تقنية (PCR) من (85.0%) من سلالات *C. freundii*. وبالمثل، في بحث آخر أجراه Poirel وآخرون (2011)، لوحظت مقاومة عزلات *Citrobacter freundii* المعزولة من بول مريضة مصابة بنزيف في المخ للتتراسيكلين، التيجيسيكلين، النيتروفورانتوين، الفلوروكينولونات وجميع بيتا لاكتامز بما في ذلك الكاربابينيمات.

تزداد مقاومة الأدوية المتعددة بشكل شائع لدى بكتيريا *الزائفة الزنجارية* (*Pseudomonas aeruginosa*) وذلك وفقًا لعدة دراسات (Raman *et al.*, 2018; Tabak *et al.*, 2019; Kunz Coyne *et al.*, 2022)، وتُعزى هذه المقاومة المكتسبة لدى هذا الكائن الحي إلى الطفرات الكروموسومية واكتساب جينات المقاومة عبر النقل الجيني الأفقي. في هذه الدراسة، أظهرت العزلة البكتيرية (*Pseudomonas aeruginosa*) من مياه البحر مقاومةً لمضادات البيتا لاكتام متمثلةً في (سيفوتاكسيم، أمبيسيلين) ونورفلوكساسين وتُعزى مقاومة *الزائفة الزنجارية* لمضادات سيفوتاكسيم، سيفترياكسون، سيفوبيرازون، سيفتازيديم ولاتاموكسيف إلى تأثير البيتا لاكتاماز (Livermore *et al.*, 1985).

ينتمي النورفلوكساسين إلى فئة quinolone من المضادات الحيوية، وقد وُصفت مقاومة quinolone لدى البكتيريا موجبة وسالبة الجرام وازدادت بشكل ملحوظ (Kim & Hooper, 2014). يعمل النورفلوكساسين عن طريق إيقاف نمو البكتيريا من خلال تثبيط إنزيمي DNA gyrase وtopoisomerase مما يؤدي إلى تحلل الحمض النووي وموت الخلايا. تمتلك البكتيريا أو اكتسبت مقاومة ضد quinolone من خلال ثلاث آليات: 1) الطفرات الكروموسومية في الجينات المشفرة التي تُغير

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

أهداف الدواء. 2) الطفرات المرتبطة بانخفاض التركيز المثبط quinolone داخل السيتوبلازم. 3) جينات مقاومة quinolone المحمولة على البلازميد (البلازميد الذي يحمي الخلايا من التأثيرات المميتة لـ quinolones) (Hooper & Jacoby, 2015). وبناءً على البحث الذي أجراه Adbarzi وآخرون (2020)، وجد أن *الزائفة الزنجارية Pseudomonas aeruginosa* كانت واحدة من الأنواع البكتيرية المختلفة الموجودة في محطة معالجة مياه الصرف الصحي Jhunsi بالهند. وقد تم تحديدها وإثباتها من خلال تضخيم وتسلسل جين 16S rRNA. وقد أظهرت *الزائفة الزنجارية* مقاومة للسيفوتاكسيم، وهو ما تدعمه الدراسة الحالية. في البكتيريا موجبة الجرام، تتوسط آليتان مقاومة المضادات الحيوية: من خلال إنتاج بيتا لاكتاماز مع أنشطة تحلل تجاه المضادات الحيوية أو من خلال التعبير عن مواقع هدف منخفضة الألفة لهذه المضادات الحيوية مثل بروتين رابط البنسلين penicillin-binding protein (PBP) إما عن طريق تغييرات في جينات PBP الأصلية أو عن طريق اكتساب الحمض النووي الخارجي (Berger-Bächi, 2002; Munita *et al*., 2015).

تُستخدم *Bacillus spp* على نطاق واسع كمضافات غذائية وبروبيوتيك، وتُستخدم *Bacillus pumilus* عادةً في منتجات البروبيوتيك التجارية (Duc *et al*., 2004). بالإضافة إلى ذلك، تُعتبر *Bacillus megaterium* واحدة من مُذيبات الفوسفات التي لها دورٌ واضح في تنظيم العوالق النباتية في مياه البرك. وحتى الآن لا تتوفر معلومات كافية حول مقاومتها لمختلف المضادات الحيوية. بشكل عام، هناك قلق متزايد بشأن انتقال جينات مقاومة المضادات الحيوية في *Bacillus spp*. في الدراسة التي أجراها Adamski وآخرون (2023)، شكلت *B. Pumilus* ما نسبته 17.8% (90/16) من جميع عزلات *Bacillus spp* من عينات الحليب الخام ببولندا. حيث وُجد أن معظم سلالات *B. Pumilus* المعزولة مقاومة للسيفوتاكسيم، مما يؤكد الملاحظة الحالية، حيث أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في هذه الدراسة أن *B. Pumilus* من مياه وادي كعام العذبة أظهرت مقاومة للسيفوتاكسيم والنورفلوكساسين.

وتُعد *Protus spp* وخاصةً *P. vulgaris* جزءًا من البكتيريا المعوية للإنسان والحيوان، كما أنها منتشرة في التربة والمياه حيث يُعتقد أن وجودها ناتج عن التلوث بالفضلات (O'Hara et al., 2000). وتُعتبر سببًا بيولوجيًا ثانيًا لعدوى المسالك البولية (Stock, 2003; Kim *et al*., 2003) ومساهمًا جيدًا في إزالة النيتروجين من المسطحات المائية. مقاومة *P. vulgaris* للتتراسيكلين، السيفوتاكسيم والأمبيسيلين لوحظت في *P. vulgaris* المعزولة من البيئة ومنتجات أربع مزارع دواجن مختارة في لافيا، نيجيريا وكانت بالترتيب التالي مع أعلى مقاومة مسجلة للتتراسيكلين (62.5٪) تليها الإريثروميسين (31٪)، الأمبيسيلين (25٪) والسيفوتاكسيم (18.8٪) (Owoseni *et al*., 2021)، وهو ما يتفق مع النتيجة التي تم الحصول عليها في الدراسة الحالية، حيث أظهرت العزلة البحرية (*Proteus vulgaris*) مقاومة ضد السيفوتاكسيم، التتراسيكلين، الأمبيسيلين والستربتومايسين. ووجد أن مقاومة *Proteus spp* لـ β-lactams مثل الأمبيسيلين مكتسبة من خلال جينات بيتا لاكتاماز المشفرة على البلازميدات والكروموسومات، حيث تنتج *Proteus vulgaris* بيتا لاكتاماز مُرمَّز كروموسوميًا (Bush *et al*., 1995)، بالإضافة إلى ذلك، وُثِّق إنتاج انزيمات البيتا لاكتامازات واسعة الطيف (ESBLs) بواسطة *Proteus spp* في العديد من التقارير (Perilli *et al*., 2000; Pagani *et al*., 2002; Song *et al*., 2011) ويُمكن أن تُعطي هذه الإنزيمات مقاومةً للجيل الثالث من السيفالوسبورينات مثل السيفوتاكسيم (Philippon *et al*., 1989) بالإضافة لذلك، يُمكن أن تمتلك *Proteus spp* مقاومةً طبيعيةً للمضادات الحيوية مثل التتراسيكلين والبنزيل بنسلين (Stock, 2003) عادةً ما تكون quinolones فعالة ضد سلالات *P. vulgaris* (Gales & Jones, 2000) على الرغم من اكتشاف جينات مقاومة qnr quinolone في عزلات حديثة (Mokracka *et al*., 2012; Guillard *et al*., 2014).

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

5. الاستنتاج

في عينات مياه البحر ووادي كعام اظهرت جميع العزلات البكتيرية مقاومةً للمضـــاد الحيوي ســـيفوتاكســـيم. ولوحظت مقاومة التتراسيكلين في عزلتين فقط (02) من مياه البحر. ولوحظت مقاومة النورفلوكساسين، الأمبيسلين والستربتومايسين في كلٍّ من المياه العذبة ومياه البحر.

المراجع

AbdelRahim, K. A. A., Hassanein, A. M., & Abd El, H. A. E. H. (2015). Prevalence, plasmids and antibiotic resistance correlation of enteric bacteria in different drinking water resources in Sohag, Egypt. *Jundishapur Journal of Microbiology*, *8*(1), e18648.

Adamski, P., Byczkowska-Rostkowska, Z., Gajewska, J., Zakrzewski, A. J., & Kłębukowska, L. (2023). Prevalence and antibiotic resistance of Bacillus sp. isolated from raw milk. *Microorganisms*, *11*(4), 1065.

Adbarzi, S. S. M., Tripathi, P., Choudhary, K. K., Kant, R., & Tripathi, V. (2020). Assessment of physico-chemical properties of pre and post-treated wastewater of Prayagraj region and its effect on nearby Ganges River. *Vegetos*, *33*(2), 258-264.

Adbarzi, S. S. M., Tripathi, P., Kant, R., & Tripathi, V. (2020). Assessment of bacterial diversity and their antibiotic resistance profiles in wastewater treatment plants and their receiving Ganges River in Prayagraj (Allahabad), India. *Vegetos*, *33*(4), 744-749.

Adler, A., Katz, D. E., & Marchaim, D. (2016). The continuing plague of extended-spectrum β-lactamase–producing Enterobacteriaceae infections. *Infectious Disease Clinics*, *30*(2), 347-375.

Alexander, J., Hembach, N., & Schwartz, T. (2020). Evaluation of antibiotic resistance dissemination by wastewater treatment plant effluents with different catchment areas in Germany. *Scientific Reports*, *10*(1), 8952.

Amarasiri, M., Sano, D., & Suzuki, S. (2020). Understanding human health risks caused by antibiotic resistant bacteria (ARB) and antibiotic resistance genes (ARG) in water environments: Current knowledge and questions to be answered. *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, *50*(19), 2016-2059.

Batt, A. L., Kim, S., & Aga, D. S. (2007). Comparison of the occurrence of antibiotics in four full-scale wastewater treatment plants with varying designs and operations. *Chemosphere*, *68*(3), 428-435.

Berger-Bächi, B. (2002). Resistance mechanisms of gram-positive bacteria. *International Journal of Medical Microbiology*, *292*(1), 27-35.

Bush, K. (2018). Past and present perspectives on β-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *62*(10), 10-1128.

Bush, K., & Bradford, P. A. (2020). Epidemiology of β-lactamase-producing pathogens. *Clinical Microbiology Reviews*, *33*(2), 10-1128.

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

Bush, K., Jacoby, G. A., & Medeiros, A. A. (1995). A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, *39*(6), 1211-1233.

Chagas, T. P. G., Seki, L. M., Cury, J. C., Oliveira, J. A. L., Dávila, A. M. R., Silva, D. M., & Asensi, M. D. (2011). Multiresistance, beta-lactamase-encoding genes and bacterial diversity in hospital wastewater in Rio de Janeiro, Brazil. *Journal of Applied Microbiology*, *111*(3), 572-581.

Chauhan, N. S., & Punia, A. (2023). Antibiotic pollution and antibiotic-resistant bacteria in water bodies. In *Degradation of antibiotics and antibiotic-resistant bacteria from various sources*. 179-201. Academic Press.

CLSI (2016). *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Sixth Informational Supplement.* CLSI Document M100-S26. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

Duc, L. H., Hong, H. A., Barbosa, T. M., Henriques, A. O., & Cutting, S. M. (2004). Characterization of Bacillus probiotics available for human use. *Applied and Environmental Microbiology*, *70*(4), 2161-2171.

Gales, A. C., & Jones, R. N. (2000). Antimicrobial activity and spectrum of the new glycylcycline, GAR-936 tested against 1,203 recent clinical bacterial isolates. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, *36*(1), 19-36.

Guardabassi, L., Petersen, A., Olsen, J. E., & Dalsgaard, A. (1998). Antibiotic resistance in Acinetobacter spp. isolated from sewers receiving waste effluent from a hospital and a pharmaceutical plant. *Applied and Environmental Microbiology*, *64*(9), 3499-3502.

Guillard, T., Grillon, A., de Champs, C., Cartier, C., Madoux, J., Berçot, B., Lebreil, A. L., Lozniewski, A., Riahi, J., Vernet-Garnier, V., & Cambau, E. (2014). Mobile insertion cassette elements found in small non-transmissible plasmids in Proteeae may explain qnrD mobilization. *PLoS One*, *9*(2), e87801.

Guo, X., Tang, N., Lei, H., Fang, Q., Liu, L., Zhou, Q., & Song, C. (2021). Metagenomic analysis of antibiotic resistance genes in untreated wastewater from three different hospitals. *Frontiers in Microbiology*, *12*, 709051.

Guzman-Otazo, J., Gonzales-Siles, L., Poma, V., Bengtsson-Palme, J., Thorell, K., Flach, C. F., Iñiguez, V., & Sjöling, Å. (2019). Diarrheal bacterial pathogens and multi-resistant enterobacteria in the Choqueyapu River in La Paz, Bolivia. *PLoS One*, *14*(1), e0210735.

Hassan, B., Qadri, H., Ali, M. N., Khan, N. A., & Yatoo, A. M. (2019). Impact of climate change on freshwater ecosystem and its sustainable management. **In:** *Fresh water pollution dynamics and remediation*, 105-121. Singapore: Springer Singapore.

Henriques, I. S., Fonseca, F., Alves, A., Saavedra, M. J., & Correia, A. (2006). Occurrence and diversity of integrons and β-lactamase genes among ampicillin-resistant isolates from estuarine waters. *Research in Microbiology*, *157*(10), 938-947.

Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2015). Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1354*(1), 12-31.

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

Irfan, S., & Alatawi, A. M. M. (2019). Aquatic ecosystem and biodiversity: a review. *Open Journal of Ecology*, *9*(01), 1-13.

Kim, B. N., Kim, N. J., Kim, M. N., Kim, Y. S., Woo, J. H., & Ryu, J. (2003). Bacteraemia due to tribe Proteeae: a review of 132 cases during a decade (1991–2000). *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, *35*(2), 98-103.

Kim, E. S., & Hooper, D. C. (2014). Clinical importance and epidemiology of quinolone resistance. *Infection & Chemotherapy*, *46*(4), 226-238.

Kunz Coyne, A. J., El Ghali, A., Holger, D., Rebold, N., & Rybak, M. J. (2022). Therapeutic strategies for emerging multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa. *Infectious Diseases and Therapy*, *11*(2), 661-682.

Livermore, D. M., Williams, J. D., & Davy, K. W. (1985). Cephalosporin resistance in Pseudomonas aeruginosa, with special reference to the proposed trapping of antibiotics by beta-lactamase. *Chemioterapia: International Journal of the Mediterranean Society of Chemotherapy*, *4*(1), 28-35.

Marathe, N. P., Shetty, S. A., Shouche, Y. S., & Larsson, D. J. (2016). Limited bacterial diversity within a treatment plant receiving antibiotic-containing waste from bulk drug production. *PLoS One*, *11*(11), e0165914.

Mokracka, J., Gruszczyńska, B., & Kaznowski, A. (2012). Integrons, β-lactamase and qnr genes in multidrug resistant clinical isolates of P roteus mirabilis and P. vulgaris. *Apmis*, *120*(12), 950-958.

Moyane, J. N., Jideani, A. I. O., & Aiyegoro, O. A. (2013). Antibiotics usage in food-producing animals in South Africa and impact on human: Antibiotic resistance. *Afr. J. Microbiol. Res*, *7*(24), 2990-2997.

Munita, J. M., Bayer, A. S., & Arias, C. A. (2015). Evolving resistance among Gram-positive pathogens. *Clinical Infectious Diseases*, *61*(suppl. 2), S48-S57.

Murray, P.R., Baron, E.J., Pfaller, M.A., Tenover, F.C., & Yolken, R.H. (1995). *Manual of Clinical Microbiology*, 6th ed. American Society of Microbiology Press, Washington DC.

Nawaz, M., Khan, A. A., Khan, S., Sung, K., & Steele, R. (2008). Isolation and characterization of tetracycline-resistant Citrobacter spp. from catfish. *Food microbiology*, *25*(1), 85-91.

O'Hara, C. M., Brenner, F. W., & Miller, J. M. (2000). Classification, identification, and clinical significance of Proteus, Providencia, and Morganella. *Clinical Microbiology Reviews*, *13*(4), 534-546.

Owoseni, M. C., Oyigye, O., Sani, B., Lamin, J., & Chere, A. (2021). Antimicrobial resistance and virulence genes profiling of Proteus species from poultry farms in Lafia, Nigeria. *BioRxiv*, 2021-01.

Pagani, L., Migliavacca, R., Pallecchi, L., Matti, C., Giacobone, E., Amicosante, G., Romero, E., & Rossolini, G. M. (2002). Emerging extended-spectrum β-lactamases in Proteus mirabilis. *Journal of Clinical Microbiology*, *40*(4), 1549-1552.

Perilli, M., Segatore, B., Rosaria De Massis, M., Riccio, M. L., Bianchi, C., Zollo, A., Rossolini, G. M., & Amicosante, G. (2000). TEM-72, a new extended-spectrum β-lactamase detected in Proteus

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

mirabilis and Morganella morganii in Italy. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *44*(9), 2537-2539.

Philippon, A., Labia, R., & Jacoby, G. (1989). Extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *33*(8), 1131-1136.

Poirel, L., Ros, A., Carricajo, A., Berthelot, P., Pozzetto, B., Bernabeu, S., & Nordmann, P. (2011). Extremely drug-resistant Citrobacter freundii isolate producing NDM-1 and other carbapenemases identified in a patient returning from India. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *55*(1), 447-448.

Poretsky, R., Rodriguez-R, L. M., Luo, C., Tsementzi, D., & Konstantinidis, K. T. (2014). Strengths and limitations of 16S rRNA gene amplicon sequencing in revealing temporal microbial community dynamics. *PloS one*, *9*(4), e93827.

Raman, G., Avendano, E. E., Chan, J., Merchant, S., & Puzniak, L. (2018). Risk factors for hospitalized patients with resistant or multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa infections: a systematic review and meta-analysis. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, *7*(79), 1-14.

Schwartz, T., Kohnen, W., Jansen, B., & Obst, U. (2003). Detection of antibiotic-resistant bacteria and their resistance genes in wastewater, surface water, and drinking water biofilms. *FEMS Microbiology Ecology*, *43*(3), 325-335.

Singh, A. K., Das, S., Kumar, S., Gajamer, V. R., Najar, I. N., Lepcha, Y. D., Tiwari, H. K., & Singh, S. (2020). Distribution of antibiotic-resistant Enterobacteriaceae pathogens in potable spring water of eastern Indian Himalayas: emphasis on virulence gene and antibiotic resistance genes in Escherichia coli. *Frontiers in Microbiology*, *11*, 581072.

Song, W., Kim, J., Bae, I. K., Jeong, S. H., Seo, Y. H., Shin, J. H., Jang, S. J., Uh, Y., Shin, J. H., Lee, M. K., & Lee, K. (2011). Chromosome-encoded AmpC and CTX-M extended-spectrum β-lactamases in clinical isolates of Proteus mirabilis from Korea. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *55*(4), 1414-1419.

Stock, I. (2003). Natural antibiotic susceptibility of Proteus spp., with special reference to P. mirabilis and P. penneri strains. *Journal of Chemotherapy*, *15*(1), 12-26.

Tabak, Y. P., Merchant, S., Ye, G., Vankeepuram, L., Gupta, V., Kurtz, S. G., & Puzniak, L. A. (2019). Incremental clinical and economic burden of suspected respiratory infections due to multi-drug-resistant Pseudomonas aeruginosa in the United States. *Journal of Hospital Infection*, *103*(2), 134-141.

Tacão, M., Laço, J., Teixeira, P., & Henriques, I. (2022). CTX-M-producing bacteria isolated from a highly polluted river system in Portugal. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *19*(19), 11858.

Turolla, A., Cattaneo, M., Marazzi, F., Mezzanotte, V., & Antonelli, M. (2018). Antibiotic resistant bacteria in urban sewage: Role of full-scale wastewater treatment plants on environmental spreading. *Chemosphere*, *191*, 761-769.

Vilca, F. Z., & Angeles, W. G. (2018). Occurrence of Antibiotics Residues in the Marine Environment. *Examines Mar. Biol. Ocean*, *2*, 12-14.

ISSN (Print): 2413-5267
ISSN (Online): 2706-9966

WHO (2014). *Antimicrobial Resistance Global Report on Surveillance*. World Health Organization. Available online at: [https://apps.who.int/iris/handle/10665/112642].

WHO (2015). *Global Action Plan on Antimicrobial Resistance*. World Health Organization. Available online at: [https://www.who.int/publications/i/item/9789241509763].

WHO (2017). *WHO Publishes List of Bacteria for Which New Antibiotics Are Urgently Needed*. World Health Organization. Available online at: [https://www.who.int/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed].

WHO (2021). *Antimicrobial Resistance*. World Health Organization. Available online at: [https://www.who.int/news-room/factsheets/detail/antimicrobial-resistance].

Yamaguchi, A. (1997). Bacterial resistance mechanisms for tetracyclines. *Nihon rinsho. Japanese Journal of Clinical Medicine*, *55*(5), 1245-1251.

Zhang, X. X., Zhang, T., & Fang, H. H. (2009). Antibiotic resistance genes in water environment. *Applied Microbiology and Biotechnology*, *82*(3), 397-414.