

دارای رتبه علمی-پژوهشی
از کمیسیون نشریات علوم پزشکی کشور

مقایسه مقاومت به آنتی بیوتیک ها و فلزات سنگین در سه سویه باکتری سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده از مناطق با زیستگاه متفاوت

چکیده

زمینه و هدف: اغلب میکروارگانیسم های محیطی حامل ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک ها و فلزات هستند. هدف از این تحقیق بررسی الگوی مقاومت به برخی آنتی بیوتیک ها و فلزات سمی در سه سویه سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده از مناطق اکولوژیک مختلف بود.

روش بررسی: باکتری های جداسازی شده در ابتدا توسط روش های بیوشیمیایی و بررسی های فیلوژنی شناسایی شدند. ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی به روش انتشار دیسک و مقاومت به ترکیبات فلزی ($50-500 \mu\text{g/ml}$) از طریق رقت سازی درون آگار انجام گرفت.

یافته ها: نتایج نشان داد که هر سه سویه مقاومت به اکثر آنتی بیوتیک های بتا لاکتام را دارا هستند. مقاومت به فلزات سنگین در آنها بالا می باشد، اگرچه ارتباطی بین منشا جداسازی با مقاومت در Abt2 و ICT1 مشاهده نشد. با این وجود سویه Q که از گوارش لیسه جنگلی جدا شده بود مقاومت آنتی بیوتیکی بالاتر و مقاومت به فلزات سنگین پایین تری داشت.

نتیجه گیری: باکتری های محیطی پتانسیل بالایی در حمل ژن های مقاومت دارا می باشند. این صفات از دیدگاه محیط زیستی می تواند یک مزیت محسوب شده و از این باکتری ها می توان برای حذف فلزات سنگین از محیط استفاده نمود. از طرف دیگر از دیدگاه پزشکی مخزن بزرگی از این ژن های مقاومت می تواند یک تهدید باشد به این دلیل که احتمال انتقال ژن های مقاومت به سویه های بیماری زا وجود دارد.

واژه های کلیدی: مقاومت آنتی بیوتیکی، مقاومت به فلزات سنگین، سودوموناس

آئروژینوزا

غلامحسین ابراهیمی پور

دانشیار گروه میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی،
دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

اعظم مرادی

دانشجوی دکتری میکروبیولوژی، دانشکده علوم
زیستی، دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

مریم کارخانه

کارشناسی ارشد میکروبیولوژی، مرکز تحقیقات
بیماری های گوارش و کبد، دانشگاه علوم پزشکی
شهید بهشتی، تهران

عبدالرزاق مرزبان

دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی داروئی، مرکز
تحقیقات بیوتکنولوژی، دانشکده داروسازی،
دانشگاه علوم پزشکی مشهد، ایران

نویسنده مسئول: عبدالرزاق مرزبان

پست الکترونیک: Marzbana901@mums.ac.ir

تلفن: ۰۹۳۷۳۲۸۵۵۳۱

آدرس: مشهد، میدان آزادی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد،
دانشکده داروسازی

دریافت: ۹۳/۴/۴

ویرایش پایانی: ۹۳/۷/۵

پذیرش: ۹۳/۷/۱۵

آدرس مقاله

ابراهیمی پور غ، مرادی ا، کارخانه م، مرزبان ع "مقایسه مقاومت به آنتی بیوتیک ها و فلزات سنگین در سه سویه باکتری سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده از مناطق با زیستگاه متفاوت" مجله علوم آزمایشگاهی، ویژه نامه مقاومت دارویی در میکرو ارگانیسم ها، دوره

هشتم (شماره ۴): ۶۰-۵۵

مقدمه

فلزات سنگین و آلودگی های ناشی از ورود ترکیبات فلزی می تواند روی زیست بوم و جانداران تاثیر گذار باشد. یون های فلزی به مقادیر بسیار جزئی در مسیرهای متابولیسمی جانداران به ویژه میکروارگانیسم ها نقش اساسی داشته و اغلب به عنوان کوفاکتور در ساختمان آنزیم ها قرار می گیرند. با این وجود افزایش غلظت یون های فلزی می تواند با اختلال در نقل و انتقال یا مهار آنزیم ها سبب توقف رشد جانداران شود (۱). امروزه فعالیت های بشر در زمینه های صنعتی و کشاورزی سبب آزاد شدن مقادیر زیادی از آلاینده ها بویژه فلزات سنگین به زیست بوم های آبی و خشکی شده است (۲). تحقیقات نشان داده است که میکروارگانیسم های محیطی در زیست بوم های طبیعی مقاومت متفاوتی نسبت به فلزات سنگین نشان می دهند (۳). بنابراین با ورود غلظت بالای فلزات سمی به محیط تنها سویه های مقاوم در محیط های طبیعی باقی می ماند. اگرچه الگوی مقاومت در میکروارگانیسم ها از تنوع بسیار بالایی برخوردار است ولی در بیشتر اوقات ژن های مقاومت به فلزات سنگین خارج کروموزومی بوده و توسط یک یا چند پلاسمید حمل می شوند (۴). بنابراین پلاسمیدهای حامل ژن های مقاومت به فلزات سنگین چندین ژن مقاومت به آنتی بیوتیک های مختلف را نیز حمل می کنند (۵). در محیط های طبیعی باکتری ها در تماس با یکدیگر هستند و با انتقال پلاسمید به روش ادغام و یا از طریق برخی باکتریوفاژها صفات ژنتیکی بین آنها مبادله می شود (۶،۷). مطالعات انجام شده روی باکتری های محیطی مقاوم به فلزات سنگین نقش این باکتری های غیر بیماریزا را در ارتباط با حفظ ژن های مقاومت به آنتی بیوتیک ها و احتمال انتقال آنها به سویه های بیماری زا در محیط هایی که این باکتری ها در تماس با هم قرار گیرند، تأیید می کند (۸،۹). این تحقیق نیز با هدف بررسی مقاومت چندگانه به فلزات سنگین و آنتی بیوتیک ها در سه سویه از سودوموناس آئروژینوزا غیر بیماریزا جدا شده از سه منطقه با زیستگاه متفاوت انجام گرفت.

روش بررسی

نمونه ها از خاک های آلوده به پسماند حاصل از تبدیل زغال سنگ به کک در اطراف ذوب آهن اصفهان، از خاک

های آلوده به ترکیبات نفتی در منطقه نفتی آب تیمور در اطراف اهواز و از لوله گوارش لیسه جنگلی از شمال ایران در منطقه جنگلی زیراب جداسازی شد. برای جداسازی باکتری ها از نمونه های خاک ۱ گرم در ۱۰ ml آب استریل ریخته و پس از تکان دادن آنها رقت هایی معادل 10^{-1} تا 10^{-3} تهیه شد و از هر رقت ۱۰۰ µl بر روی سطح پلیت نوترینت آگار به روش گسترده کشت داده شدند. برای جداسازی باکتری از لیسه ابتدا در یک پلیت شیشه ای استریل لیسه توسط کلروفورم بیهوش شد و بدن و سطوح خارجی آن توسط اتانول ۷۰ درصد شست شو داده و سپس توسط اسپاتول استریل اندام گوارشی خارج گردید و درون سرم فیزیولوژی قرار داده شد. در نهایت با تکه تکه کردن دستگاه گوارش و قرار دادن در سرم فیزیولوژی و تکان دادن آن برای مدت ۱ ساعت، ۱۰۰ µl از سرم فیزیولوژی روی پلیت نوترینت آگار مطابق با روش قبل کشت داده شد. سپس ۲۴ ساعت در دمای ۳۵ درجه گرماگذاری شدند. به منظور شناسایی باکتری های تحت مطالعه شکل کلنی ها و شکل میکروسکوپی سلول ها به همراه رنگ آمیزی گرم صورت گرفت. آزمون های بیوشیمیایی نظیر اکسیداز، کاتالاز، نیتریفیکاسیون، دنیتریفیکاسیون، حرکت، هیدرولیز ژلاتین، نشاسته، رشد روی محیط مک کانکی و چندین آزمون شاخص سودوموناس ها انجام پذیرفت (۱۰). به منظور اطمینان از نتایج آزمون های بیوشیمیایی آنالیز فیلوژنی قطعه rDNA ۱۶S مطابق با روش Sambrook انجام گرفت (۱۱). برای تکثیر ژن S rDNA ۱۶ از پرایمرهای اختصاصی با توالی های forward (۵'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-۳') و Reverse (۵'-ACGGCTACCTTGTTACGACTT-۳') استفاده گردید و محصول PCR بدست آمده تعیین توالی شد. برای تعیین میزان نزدیکی با باکتری های دیگر کاوش هایی در بانک های اطلاعاتی EMBL/GenBank انجام شد و با استفاده از www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST/ BLASTN جستجوهای همولوژی به عمل آمد. بررسی مقاومت به آنتی بیوتیک های استرپتومایسین، پنی سیلین، پلی میکسین، ریفامپاسین، آمپی سیلین، تتراسایکلین، اریترومایسین، نوویوسین، آمیکاسین،

در جدایه Q مثبت و در دو جدایه دیگر منفی بود. آنالیز فیلوژنی ژن rDNA ۱۶S شباهت هر سه جدایه های ICT1، Abt2 و Q را به ترتیب با درصد شباهت های ۹۸، ۹۸ و ۹۸ به سودوموناس آئروژینوزا نشان داد. نتایج مقاومت به آنتی بیوتیک ها برای سه سویه تحت مطالعه و میزان حساسیت آنها با اندازه گیری قطر هاله عدم رشد و با استفاده از استاندارد CLSI مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۲). بیشترین مقاومت آنتی بیوتیکی مربوط به پنی سیلین، آمپی سیلین، نوویوسین و سفازولین بود که هر سه سویه مقاومت بالایی نشان دادند (جدول ۱). مقاومت به استرپتومایسین، تتراسایکلین و جنتامایسین در سویه های ICT1 و Abt2 مشاهده شد، در حالیکه جدایه Q مقاومت ضعیفی نسبت به این آنتی بیوتیک ها داشت. پلی میکسین B در این آزمایش تنها آنتی بیوتیکی بود که همه سویه ها به آن حساس بودند. بیشترین مقاومت برای فلزات روی، منگنز، کبالت، آهن و مس بدست آمد (جدول ۲). هر سه جدایه نسبت به نیکل، کروم و سرب مقاومت متوسطی نشان دادند. در حالی که مقاومت به جیوه تنها بطور ضعیف در جدایه Abt2 مشاهده شد و نسبت به نقره هیچ گونه مقاومتی وجود نداشت. علاوه بر این جدایه Q نسبت به کادمیوم نیز حساسیت نشان داد. نتایج مقاومت به آرسنیک نشان دهنده مقاومت نسبتاً کم در جدایه های ICT1 و Abt2 بود.

جنتامایسین، کلرامفنیکل، کربنی سیلین، سفازولین و اکسی تتراسایکلین با روش انتشار دیسک بر روی محیط مولر هینتون آگار انجام گرفت (۱۲). مقاومت باکتری های جدا شده به فلزات سنگین از طریق رقت سازی در آگار انجام گرفت. رقت هایی از ۵۰-۵۰۰ µg/ml برای فلزاتی شامل مس، کروم، کبالت، آهن، روی، منگنز، مولیبدن، سرب، کادمیوم، نقره و آرسنیک تهیه شد و باکتری ها از کشت تازه با رقتی معادل ۰/۵ مک فارلند (۱۰^۶ Cfu/ml) تهیه شد. سپس ۱۰ µl از آن برداشته و به صورت نقطه ای بر سطح آگار قرار داده شد. در انتها پلیت ها به مدت ۴۸ ساعت در ۳۵ °C گرماگذاری شدند. مقاومت به هر فلز در رقت های مذکور با مشاهده رشد باکتری و تشکیل کلنی مشخص شد (۱۳).

یافته ها

مطالعه خصوصیات بیوشیمیایی و شکل ظاهری باکتری ها نشان داد که هر سه باکتری متعلق به جنس سودوموناس بوده و به صورت میله ای دوتایی و گاهی منفرد بودند. اگرچه هر سه باکتری در اکثر خصوصیات متابولیسمی به یکدیگر شباهت داشتند اما در برخی خصوصیات مانند تولید بیوسورفکتانت، توانایی نیتریفیکاسیون در جدایه های ICT1 و Abt2 مثبت و در جدایه Q منفی بود. با این وجود توانایی تولید آنزیم اوره آز تنها

جدول ۱- نتایج ارزیابی مقاومت آنتی بیوتیکی جدایه ها بر اساس روش انتشار دیسک و ایجاد هاله عدم رشد

آنتی بیوتیک	جدایه ICT1	جدایه Abt2	جدایه Q
استرپتومایسین	مقاوم	مقاوم	متوسط
پنی سیلین	مقاوم	مقاوم	مقاوم
پلی میکسین B	حساس	حساس	حساس
ریفامایسین	متوسط	حساس	متوسط
آمپی سیلین	مقاوم	مقاوم	مقاوم
تتراسایکلین	مقاوم	مقاوم	متوسط
اریترومایسین	حساس	مقاوم	مقاوم
نوویوسین	مقاوم	مقاوم	مقاوم
آمیکاسین	مقاوم	حساس	حساس
جنتامایسین	مقاوم	مقاوم	حساس
کلرامفنیکل	متوسط	حساس	متوسط
کربنی سیلین	حساس	متوسط	متوسط
سفازولین	مقاوم	مقاوم	مقاوم
اکسی تتراسایکلین	متوسط	متوسط	متوسط

جدول ۲- ارزیابی مقاومت به ترکیبات فلزی در دامنه غلظتی ۵۰ تا ۵۰۰ میکروگرم در میلی لیتر

بیشترین غلظت مقاومت به ترکیب فلزی (µg/ml)			نوع ترکیب فلزی
جدایه Q	جدایه Abt2	جدایه ICT1	
۴۰۰	۲۰۰	۳۰۰	نیکل (Ni)
-	۵۰	-	جیوه (Hg)
۲۰۰	۳۰۰	۳۰۰	کروم (Cr)
۴۰۰	۳۰۰	۴۰۰	روی (Zn)
۴۰۰	۴۰۰	۴۰۰	منگنز (Mn)
۴۰۰	۴۰۰	۵۰۰	کبالت (Co)
۴۰۰	۵۰۰	۵۰۰	آهن (Fe)
۴۰۰	۲۰۰	۴۰۰	مس (Cu)
-	-	-	نقره (Ag)
-	۳۰۰	۲۰۰	کادمیوم (Cd)
۲۰۰	۴۰۰	۲۰۰	سرب (Pb)
-	۵۰	۱۰۰	آرسنیک (As)

بحث

سودوموناس ها به عنوان متنوع ترین گروه از باکتری ها که فعالیت متابولیکی بسیار وسیعی دارند، ژن های مقاومت بسیار زیادی را با خود حمل می کنند (۱۳). این جنس از باکتری ها به دلیل توانایی بالای آنها برای تحمل نمودن شرایط محیطی نامساعد مانند pH های قلیایی یا اسیدی، محیط های حاوی انواع فلزات سمی و محیط های آلوده به ترکیبات آلی مضر نقش مهمی در حفظ و انتقال ژن های مقاومت در طبیعت را به عهده دارند (۱۴، ۱۵). تا کنون گزارش های متعددی درباره وجود پلاسمید های حامل ژن های مقاومت به فلزات سنگین و آنتی بیوتیک ها در سودوموناس ها منتشر شده است. در مطالعه ای که شیوع مقاومت به فلزات سنگین و آنتی بیوتیک ها را بین سویه های سودوموناس آئروژینوزا جداسازی شده از محیط های بیمارستانی و سویه های محیطی مطالعه نموده، ارتباط بین مقاومت به مس و روی را با ایمی پنم گزارش شده است (۱۶). با وجود این برخی از محققین رابطه بین مقاومت در باکتری های محیطی با مقاومت در باکتری های پاتوژن رد کرده اند. Deredjian و همکاران ارتباط معناداری بین مقاومت به فلزات سنگین و آنتی بیوتیک ها در دو گروه باکتری سودوموناس آئروژینوزا با منشا محیطی و بیمارستانی مشاهده نکردند (۹). در این تحقیق مقاومت به آنتی بیوتیک هایی چون استرپتومایسین، نوویوسین، تتراسایکلین، آمپی سیلین، پنی سیلین و تا اندازه ای اکسی تتراسایکلین به صورت

همزمان با فلزاتی چون روی، منگنز، کبالت و آهن مشاهده شد. با این وجود مقاومت به جنتامایسین در دو سویه جدا شده از محیط های آلوده تشخیص داده شد. در حالی که سویه Q نسبت به این آنتی بیوتیک حساس بود. این نتایج نشان داد که ارتباط بین مقاومت به آنتی بیوتیک ها در باکتری های محیطی ممکن است در ارتباط با برخی از فلزات سنگین باشد. این ارتباط می تواند به دلیل استفاده از برخی فلزات مانند جیوه به عنوان میکروب کش باشد که به محیط وارد می شود (۱۷). گاهی اوقات نیز ورود برخی فلزات سمی به محیط سبب ایجاد یک فشار انتخابی بر جمعیت باکتری ها شده و در این شرایط سویه های مقاوم به فلزات مورد نظر حفظ می شوند. این فشار انتخابی می تواند در مورد آنتی بیوتیک ها نیز رخ دهد و منجر به بقای سویه های مقاوم گردد. در این خصوص Kaszab در سال ۲۰۱۰ وجود مقاومت به آنتی بیوتیک ها را در باکتری های جدا شده از فاضلاب و محیط های طبیعی، ناشی از وجود باکتری های تولید کننده آنتی بیوتیک و ورود آنتی بیوتیک ها به واسطه انسان ها ذکر کرده است (۱۸). انتقال مقاومت با پلاسمیدهای حامل این ژن ها از طریق کانزوگاسیون، اینتگرون یا از طریق باکتریوفاژها در مطالعات متعددی گزارش شده است. بنابراین تماس باکتری های محیطی با سویه های بیماری زا در فاضلاب ها می تواند عامل ایجاد سویه های مقاوم جدید باشد (۱۹).

نتیجه گیری

سویه های محیطی به عنوان مخزن ژن های مقاومت در طبیعت می توانند موجب ایجاد سویه مقاوم بیماری زای شوند. در محیط های آلوده که باکتری های حساس توانایی بقا ندارند، سویه های مقاوم به فلزات سنگین و آنتی بیوتیک ها عامل اصلی حذف ترکیبات آلی و چرخه مواد می باشد و از این باکتری ها می توان در جهت پاکسازی و حذف ترکیبات سمی از محیط بهره برد.

تشکر و قدردانی

این تحقیق در دانشکده علوم زیستی دانشگاه شهید بهشتی انجام شده است و نویسندگان مقاله از جناب آقای دکتر جواد فخاری به خاطر لطف بی دریغ و کمک های شایانی که نمودند به ویژه در اختیار گذاشتن دیسک های استاندارد آنتی بیوتیک ها سپاسگزاری می نمایند.

References

- Osman O, Tanguichi H, Ikeda K, Park P, Tanabe-Hosoi S, Nagata S. *Copper-resistant halophilic bacterium isolated from the polluted Maruit Lake, Egypt*. J Appl Microbiol. 2010; 108(4): 1459-1470.
- Zhou DN, Zhang FP, Duan ZY, Liu ZW, Yang KI, Guo R, et al. *Effects of heavy metal pollution on microbial communities and activities of mining soils in Central Tibet, China*. J Food Agri Environ. 2013; 1: 676-6811.
- Hassen A, Saidi N, Cherif M, Boudabous A. *Resistance of Environmental Bacteria to Heavy Metals*. Biores Technol. 1998; 64(1): 7-15.
- Aly MEA, Essam TM, Amin MA. *Involvement of Virulence Genes and Antibiotic Resistance in Clinical and Food Borne Diarrheagenic Escherichia coli Isolates From Egypt*. World J Med Sci. 2012; 7(4): 276-284.
- Matyar F. *Antibiotic and Heavy Metal Resistance in Bacteria Isolated from the Eastern Mediterranean Sea Coast*. Bull Environ Contam Toxicol. 2012; 89(3): 551-556.
- Davies J, Davies D. *Origins and Evolution of Antibiotic Resistance*. Microbio Mol Biol Rev. 2010; 74(3): 417-433.
- Zhang R, Pan L, Zhao Z, Gu JD. *High incidence of plasmids in marine Vibrio species isolated from Mai Po Nature Reserve of Hong Kong*. Ecotoxicology. 2012; 21(6): 1661-1668.
- Czekalski N, Diez EG, Burgmann H. *Wastewater as a point source of antibiotic-resistance genes in the sediment of a freshwater lake*. ISME Journal. 2014; 8: 1381-1390.
- Deredjian A, Colinson C, Brothier E, Favre-Bonte S, Cournoyer B, Nazaret S. *Antibiotic and metal resistance among hospital and outdoor strains of Pseudomonas aeruginosa*. Res Microbiol. 2011; 162(7): 689-700.
- Goldman E, Green LH. *Practical Handbook of Microbiology*. New York: Taylor & Francis Group, CRC Press. 2009.
- Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. *Molecular cloning: a laboratory manual*. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press. 2001.
- CLSI. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; sixteenth informational supplement*. 2006; 309-317.
- Kacar A, Kocyigit A. *Characterization of Heavy Metal and Antibiotic Resistant Bacteria Isolated from Aliaga Ship Dismantling Zone, Eastern Aegean Sea, Turkey*. Int J Environ Res. 2013; 7(4): 895-902.
- Teitzel GM, Parsek MR. *Heavy Metal Resistance of Biofilm and Planktonic Pseudomonas aeruginosa*. Applied and environmental microbiology. 2003; 69(4): 2313-2320.
- Ceylan Ö, Aysel U. *Bio-Monitoring of Heavy Metal Resistance in Pseudomonas and Pseudomonas Related Genus*. J Biol Environ Sci. 2012; 6(18): 233-242.
- Caille O, Rossier C, Perron K. *A copper-activated two-component system interacts with zinc and imipenem resistance in Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol. 2007; 189: 4561-4568.
- Hammond SA, Morgan JR, Russell AD. *Comparative susceptibility of hospital isolates of gram-negative bacteria to antiseptics and disinfectants*. J Hosp Infect. 1987; 9(3): 255-264.
- Kaszab E, Kriszt B, Atzel B, Szabo G, Szabo I, Harkai P, Szoboszlai S. *The occurrence of multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa on hydrocarbon-contaminated sites*. Microb Ecol. 2010; 59(1): 37-45.
- Ndi OL, Barton MD. *Resistance Determinants of Pseudomonas Species from Aquaculture in Australia*. J Aquac Res Development. 2012; 3(1): 1-6.

Antibiotics and Heavy Metal Resistance of Three Strains of *Pseudomonas Aeruginosa* Isolated from Different Ecological Areas

Ebrahimipour, GH. (PhD)

Associate Professor of Microbiology,
Department of Microbiology, School
of Biological Sciences, Shahid
Beheshti University, Tehran, Iran

Moradi, A. (MSc)

PhD Student of Microbiology,
Department of Microbiology, School
of Biological Sciences, Shahid
Beheshti University, Tehran, Iran

Karkhane, M. (MSc)

MSc of Microbiology,
Gastroenterology and Liver Diseases
Research Center, Shahid Beheshti
University of Medical sciences,
Tehran, Iran

Marzban, AR. (MSc)

PhD Student of Pharmaceutical
Biotechnology, Biotechnology
Research Center, School of
Pharmacy, Mashhad University of
Medical Sciences, Mashhad, Iran

Corresponding Author: Marzban,
AR.

Email: Marzbana901@mums.ac.ir

Received: 25 Jun 2014

Revised: 27 Sep 2014

Accepted: 7 Oct 2014

Abstract

Background and Objective: most of environmental microorganisms have the genes resistance to antibiotics and metals. The aim of the current study was to survey resistance pattern to some antibiotics and heavy metals in three *pseudomonas aeruginosa* isolated from different ecological areas.

Material and Methods: first, the isolates were identified by biochemical methods and phylogenetic analysis. Then, the evaluation of antibiotic resistance was conducted by disc diffusion and that of Heavy metal resistant by agar dilution, in a range of 50-500 µg/ml.

Results: The results showed that all three isolates were resistant to beta lactam antibiotics. Although these isolates were highly resistant to heavy metals, no relationship was observed between ecological sources and the resistance pattern in ICT1 and Abt2 strains. However, strain Q isolated from digestive system of *Parmacella Iberica* showed high resistance to antibiotics and low resistance to heavy metals.

Conclusion: given that environmental bacteria have a high potentiality for carrying resistance genes and this can be an advantage environmentally, they could be used to remove heavy metals from polluted areas. On the other hand, resistance genes medically are a concern due to probability of transferring to pathogen strains.

Keywords: Antibiotic Resistance, Heavy Metal Resistance, *Pseudomonas Aeruginosa*