جامعة الموصل
كلية العلوم

التشخيص الجزيئي لبعض مسببات التلوث البكتيري لمياه الآبار المنزلية في مدينة الموصل

إيلاف محمد جاسم محمد السامرائي

رسالة ماجستير
علوم الحياة / علم الأحياء المجهرية

باشراف
الأستاذ الدكتورة أميرة محمود محمد الراوي

1439هـ
2018م

الخلاصة

اولت الدراسة الحالية اهتماماً بعزل بعض أنواع البكتيريا الملوثة لمياه الآبار المنزلية في الجانب الأيسر من مدينة الموصل والتحري عن قابليتها على تكوين الأغشية الحيوية Biofilm، إذ جمعت عينات مياه الآبار من 16 بئراً من مناطق مختلفة من المدينة شملت أحياء المالية والضباط والمهندسين والنور والوحدة والميثاق والزهور والقادسية الاولى والثانية والسماح والغفران، وأخذت العينات في شهر نيسان عام 2017 وأخضعت العينات كلها للفحوصات الفيزيائية والكيميائية والبكتريولوجية، وشخصت أنواع البكتيريا باستخدام أشرطة API20E وجهاز VITEK 2 Compact.

أظهرت الدراسة عدم وجود اختلاف كبير في درجة الحرارة والأس الهيدروجيني بين جميع الآبار في مدة الدراسة، في حين أظهرت تبايناً ملحوظاً في فحوصات المواد الصلبة الذائبة الكلية Total Dissolved Solids (T.D.S.) والتوصيل الكهربائي Electrical Conductivity (E.C.) فضلاً عن تقدير نسب أملاح الفوسفات والكبريتات والنترات.

تم الحصول على 118 عزلة بكتيرية مثلت الأنواع الموجبة لصبغة كرام منها 24.58% في حين بلغت نسبة الأنواع السالبة لصبغة كرام 75.42% وبعد تشخيصها تبين أنها تعود للأنواع *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Pseudomonas putida* و *Aeromonas hydrophila* و *Aeromonas salmonicida* و *Enterobacter aerogenes* و *Pantoea spp.* و *Shigella spp.* و *Klebsiella pneumonia* و *Serratia odorifera2* و *Acinetobacter boumanni* و *Acinetobacter haemolyticus* و *Grimontia hallisae* و *Burkholderia spp.* و *Kocuria rosea* و *Globicatella sulfidifaciens* و *Staphylococcus epidermidis* .

أُكد تشخيص الأنواع الجرثومية باستخدام الجين 16S rRNA بعد عزل DNA من الأنواع البكتيرية *P. aeruginosa* و *E. aerogenes* و *A. boumanni* و *K. rosea* و *G. sulfidifaciens* وأجريت تقانة Polymerase Chain Reaction (PCR) باستخدام زوج من البوادئ العامة universal primer للتحري عن جين 16S rRNA إذ يوجد هذا الجين في جميع أنواع البكتيريا، ويُعد أداة تشخيص سريعة ودقيقة للأحياء المجهرية.

أجري تحديد تسلسل الجين (Gene sequencing) وتحليل تتابع القواعد النيتروجينية لجين 16S rRNA المضخم والمعزول من البكتيريا ثم مقارنة نتائج تتابعات القواعد النيتروجينية للجين ضمن المركز الوطني لمعلومات التقانات الاحيائية

وهو موقع الكتروني National Centre for Biotechnology Information (NCBI) تابع للولايات المتحدة وذلك باستخدام برنامج (BLAST) Basic Local Alignment Search Tool حيث وجد توافق بين بعض العزلات المشخصة بجهاز VITEK 2 Compact وأخرى لم تتوافق معه على الرغم من وجود تشابه كبير في التسلسلات النيوكليوتيدية.

شملت الدراسة أيضاً التحري عن الأغشية الحيوية في عينات مياه الآبار ودرست مراحل تكوينها باوقات مختلفة شملت زمن الصفر و6 و24 و48 و72 ساعة، وأظهرت النتائج تكوّن الأغشية الحيوية في 72 ساعة مع تكوّن عدة طبقات.

University of Mosul

College of Sciences

Molecular identification of some of the causes of bacterial contamination of domestic well water in Mosul city

Elaaf M. J. M. Alsamarraui

M.Sc. Thesis

Biology / Microbiology

Supervised by

Dr.

Amera M. M. Al Rawi

2018 A.D. 1439 A.H.

Abstract

The present study paid attention to isolation of some contaminating bacteria in home wells water at left side of Mosul city and detection of the formation of biofilms in it. Wells water samples were collected from 16 wells from different neighborhoods of the city which included Al-malyia, Al-Thubbat, Al-Muhandisin, Al-Noor, Al-Wahda , Al-Mithaq, Al-Zuhur, Al-Qadisiyah the first and second, Al-Samah, Al-Ghufran. The samples were taken during April 2017 and all samples were subjected to physical, chemical and microbiological tests.

Bacterial isolates were identified by using API 20E strips and others by VITEK 2 Compact for Gram positive and Gram negative bacteria.

The results showed that there were no great differences in water temperatures and PH among the wells during study while showed marked difference in Total Dissolved Solids (T.D.S.) and Electrical Conductivity (E.C.) as well as estimation of Sulfate, Nitrate and Phosphate salts.

A total of 118 bacterial isolates were obtained, gram positive and gram negative represented 24.58% and 75.42% respectively after identification, *Escherichia coli* , *Pseudomonas aeruginosa* , *Pseudomonas putida* , *Aeromonas hydrophila* , *Aeromonas salmonicida* , *Enterobacter aerogenes* , *Pantoea spp.* , *Shigella spp.* , *Klebsiella pneumonia* , *Serratia odorifera2 , Acinetobacter boumanni* , *Acinetobacter haemolyticus* , *Grimontia hallisae , Burkholderia spp.* , *Kocuria rosea* , *Globicatella sulfidifaciens* and *Staphylococcus epidermidis* were the identified species.

The diagnosis of bacterial species was confirmed using the 16S rRNA gene after isolating DNA from bacterial species *P.aeruginosa*, *E. aerogenes*, *A.boumanni*, *K.rosea*, and *G. sulfidifaciens*.

The polymerase chain reaction (PCR) was done after extraction of DNA by using kit from Jena Bioscience GmbH (Germany) and the concentration and purity of the extracted DNA were assayed. A pair of universal primer for the detection of 16S rRNA gene was used. This gene is present in all bacterial species and is a rapid and accurate diagnostic tool for microorganisms.

Finally gene sequencing and sequencing of the nitrogen bases of the 16S rRNA gene amplified and isolated from the bacteria were done and homology searches were conducted between the sequences of standard gene BLAST program which is available at the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and Basic Local Alignment Search program Tool (BLAST). We found corresponding between some isolates that identified by VITEK 2 Compact and others didn't corresponding although there was high similarity in nucleotide sequences.

This study also included detection of biofilm in well water samples. The biofilm formation stages were studied in different times from zero time, 6, 24, 48 to 72 hours. The results showed biofilm formation during 72 hours with multilayers.