جامعة الموصل
كلية الزراعة والغابات

تأثير بعض عوامل النمو في قدرة تَكوين الأغشية الحيوية لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa*

محمد سعود أحمد أدهام

رسالة ماجستير
علوم الأَغذية

اشراف
الدكتور طارق زيد إبراهيم
مدرس

1443 هـ 2022 م

تركزت الدراسة الحالية حول تأثير بعض المواد الطبيعية في تَكوين الأغشية الحيوية لبكتريا *Pseudomonas aeruginosa* في مُختبر التسمم التابع لكلية الرزاغة والغابات \ قسم علوم الاغذية للمدة بين8/15 /2020 إلى 5\8\2021 و جُمعت لذالك ثلاث عزلات مشخصة من بكتريا *P.aeruginosa* بواقع عُزلتين من مختبرات كلية العلوم \ قسم علوم الحياة وعزلة واحدة من مُستشفى السلام التعليمي في مدينة الموصل.

أجري اختبار تشخيصي للتأكد من التشخيص السابق للبكتريا وأضهرت نتيجة الاختبار بأن جميع العزلات هي تابعة لبكتريا *P.aeruginosa* . تبين من نتائج التحري المظهري عن تكوين الغشاء الحيوي بطريقة صفيحة الزرع النسيجي TCP (Tissue Culture Plate) إمتلاك العُزلات الثلاثة قابلية لتكوين الغشاء الحيوي وكذلك أعطت صور المجهر الضوئي بأستخدام صبغة الكرستال البنفسجية انطباعاً واضحاً عن الشكل والتركيب الذي يكون عليه الغشاء الحيوي بعد 24 ساعة من الحضن.

أظهرت نتائج التحري عن تأثير درجة الحرارة على لوغاريتم ^{10} لعدد الخلايا الحية للأغشية الحيوية, ان أمثل نمو عند درجة حرارة 25م^{0} للعزلة رقم 1 والعزلة رقم 3 بعد مرور 48 ساعة من الحضن إذ بلغ 9.164 و9.255 وكانت درجة حرارة 37م^{0} أكثر ملائمة لتكوين الأغشية الحيوية للعزلة رقم 2 بعد مرور 48 ساعة من الحضن ,إذ بلغ لوغاريتم ^{10} لعدد الخلايا الحية لها 9.190 أما عند درجة حرارة 8م^{0}لم يحصل تطور للأغشية الحيوية في الـ 24 ساعة الأولى من الحضن إلا بعد مرور 48 ساعة وكان أعلى معدل نمو عند العزلتين 1 و3 إذ بلغ لوغارتم^{10} لعدد الخلايا الحية 8.477 ، 8.477على التوالي.

كما أظهر تأثير الآس الهيدروجيني عند درجة حرارة 37 م^{0} ولمدة حضن 24 ساعة تأثيرا واضحاً على تكوين الأغشية الحيوية لبكتريا *P.aeruginosa* إذ كان أعلى معدل نمو لكل من العزلات الثلاثة عند الآس الهيدروجيني 8 وبلغ لوغارتم ^{10} لعدد الخلايا الحية للأغشية الحيوية 9.198 و 9.042 و 9.123على التوالي وأقل نمو لها عند الآس الهيدوجيني 4 للعزلات الثلاثة وبعدد 8.363 و 8.363 و 8.177 خلية حية للعزلات الثلاثة على التوالي.

كان تأثير وسط مرق التربتكيس والصويا المضاف اليه سكر السكروز بنسبة 1.5% ايجابياً في تطور الأغشية الحيوية للبكتريا ويأتي بعده سكر الكلوكوز بالتراكيز نفسه خلال درجة حرارة 37 و8 م^{0} المستخدمة في التجربة. وقد تبين من تأثير الاحماض العضوية الطبيعية في تكوين الاغشية الحيوية لبكتريا *P.aeruginosa* ان التركيز المثبط الأدنى لكل من حامض الستريك وحامض اللاكتيك

وحامض الخليك عند درجة حرارة 37م^0 و 25م^0 خلال 24 ساعة من الحضن كان 0.312% للعزلات الثلاثة أما التركيز القاتل الادنى للحوامض الثلاثة خلال الظروف نفسها كان 0.312 , 0.625 , 0.625% للعزلات الثلاثة على التوالي ,وانتقالاً إلى تأثير تلك الحوامض عند درجة حرارة 8م^0 خلال 48 ساعة من الحضن كان التركيز المثبط الادنى للعزلات الثلاث عند 0.312%والتركيز القاتل الأدنى في نفس الظروف للحوامض الثلاثة 0.312 , 0.625 , 0.312 % للعزلات الثلاثة على التوالي وقد تبين ان أكثر أثر تثبيطي كان لحامض الستريك من بين الحوامض المستخدمة الأخرى، إذ لم يتأثر باختلاف درجة الحرارة فضلاً عن كون التركيز المثبط الأدنى والتركيز القاتل الأدنى له كان في التركيز نفسه عند 0.312%.

Summary

The current study was conducted on the effect of some natural materials on the formation of biofilms of *Pseudomonas aeruginosa* in the poisoning laboratory of the College Agriculture and Forestry/University of Mosul /Department of Food Sciences for the period between 15/8/2020 to 5/8/2021, when three diagnosed isolates were collected of *P. aeruginosa* bacteria from two isolates from laboratories of the College of Science /Department of Life Sciences and other sample from Al Salam Teaching Hospital in Mosul city.

A diagnostic test was carried out to confirm the previous diagnosis of the bacterium, and the result of the test was that all isolates belong to *P. aeruginosa*. The results of the phenotypic investigation of biofilm formation using the Tissue Culture Plate (TCP) showed that the three isolates had the ability to form a biofilm. Also, the optical microscopy images using crystal violet dye gave a clear impression of the shape and structure of the biofilm after 24 hours of incubation.

The results of the investigation of the effect of temperature on the Log^{10} for the number of live cells of the biofilms showed that the optimum growth at a temperature of 25C° for isolate No.1 and isolate No.3 after 48 hours of incubation reached 9.164 and 9.255, and the temperature of 37C° was more suitable for the formation of The biological membranes of isolate No.2, after 48 hours of incubation, reached the Log^{10} for the number of live cells for it (9.190), but at a temperature of 8C°, no development of biological membranes took place in the first 24 hours of incubation until 48 hours had passed, and the highest growth rate was in isolate No.1 and Isolate No.2, which reached Log^{10} for the number of live cells 8.477, 8.167, respectively.

The effect of pH at a temperature of 37 °C for a period of 24 hours also showed a clear effect on the formation of biofilms of *P. aeruginosa* bacteria, as the highest growth rate was for each of isolates No.1, No.2, and No.3 at pH 8 and reached the Log^{10} for the number of live cells of biofilms. 9.198, 9.042 and 9.123, respectively, and the lowest growth at pH 4 to the third isolates, with a number of 8.363, 8.363 and 8.177 live cells for the three isolates.

Moving on to the effect of complex and simple media, in addition to the scarce nutrients, the effect of the medium of Tryptic and soy broth which sucrose was added 1.5% was positive in the development of bacterial biofilms, followed by glucose sugar with the same effect during the temperature of 37 and 8C° used in the experiment.

The effect of natural organic acids on the formation of biofilms of *P. aeruginosa* showed that the minimum inhibitory concentration of citric acid, lactic acid and acetic acid at a temperature of 37C° and 25C° during 24 hours of incubation was 0.312% for the three isolates, while the minimum bactericidal concentration of the three acids During the same conditions, it was 0.312, 0.625, 0.625% for the three isolates, and moving to the effect of those acids at a temperature of 8C° within 48 hours of incubation, the minimum inhibitory concentration of the three isolates was at 0.312% and the minimum bactericidal concentration in the same conditions for the three acids 0.312, 0.625 , 0.312% for the three isolates respectively, and it was found that the most inhibitory effect was citric acid among the other used acids, as it was not affected by the difference in temperature, in addition to the fact that the minimum inhibitory concentration and the minimum bactericidal concentration were in the same concentration at 0.312%.

University of Al Mosul
College of Agriculture and Forestry

The effect of some growth factors on the biofilm-forming ability of *Pseudomonas .aeruginosa*

Mohamd saoud ahmed idham

M.Sc. Thesis

Food Science

Supervised

by

Dr. Tariq Zaid Ibrahim

Lecturer

2022A.D **1443 A.H**