مسح لمجتمع بكتيريا للبحر الأحمر المقاومة لمضادات حيوية ولعوامل مضادة ميكروبياً

إعداد الطالب

رياض الله كمران خان

إشراف

أ. د. عبدالباسط ابراهيم اسماعيل الصينى

الدكتوراحمد عبدالله خلف الغامدى

المستخلص

يعتبر البحر الأحمر بيئة غير مكتشفة بالنسبة لمجتمعها البكتيري و مقاومتها للمضادات الحيوية. تم مؤخراً تطوير رقم قياسي لمناطق ترفيهية و تجمعات صناعية على شاطئ البحر الأحمر. تعتبر أشجار المانجروف (القرم ، الشورى) مهمة في النظام البيئي العام لوقوعها تحت إجهاد شديد عالمياً بسبب التغيرات البيئية و الأنشطة البشرية. في هذه الدراسة، تم استخدام تقنية تسلسل 16s rDNA للتعرف على العزلات التي تم الحصول عليها من 12 عينة رسوبية مجمعة من المواقع الساحلية و البعيدة عن الساحل و مناطق نمو المانجروف. تم إستخدام تقنية PCR الكمي لتقدير كميات المورثات المقاومة للمضادات البكتيرية (ARGs) في تغير المحتوى الوراثي للمواقع المدروسه. تم عزل 470 سلاله بكتيرية و صنفت إلى 137 من الأنواع المتميزة كما كان ظاهراً إستيطان مجتمعات بكتيرية في مناطق معينة في البحر الأحمر. علاوة على ذلك فقد تم إستخدام تقنية 16S rRNA التتابع العميق الجيني لإكتشاف المجتمعات البكتيرية في الأنظمة البيئية لساحل البحر الأحمر و المناطق البعيدة عن الساحل و بيئة المانجروف. أمكن بشكل نسبي إستعادة عزلات من الشاطئ أكثر مقاومة و بكتيريا مقاومة لكثير من العقاقير (MDR) و التي كانت سائدة في العينات البعيدة عن الساحل إجمالياً تم التعرف على 32 شعبة من المنطقة المحيطة بجذور المانجروف مع البروتيوبكتيريا السائدة في كل من المواقع المدروسة ، و مع ذلك فإن الكثرة النسبية انخفضت بشكل معنوي في المواقع الساحلية (مستورة ، MG-MS و الريّس ، MG-AR) بالمقارنة مع موقع الجزيرة القديمة بالقرب من دهبان (MG-ZB) تم العثور بشكل كبير نسبياً على أكثر من 1% من شعب اكتينوبكتيريا و الفيروميكيوتس و أسيدو بكتيريا و كلوروفليكسي و سيانوبكتيريا و بلانكومايسيتات في المواقع MG-MS و MG-AR . و لكن تراكيزها كانت اقل من 1% في موقع MG-ZB ، تم التعرف على إجمالي 1659 وحدة تصنيفية عملية (OTUs) على مستوى النوع و تقريباً 945 (OTUs) كانت مشتركة عبر مواقع اخذ العينات المختلفة . بشكل إجمالي تم العثور على 32 شعبة في المواقع الساحلية و البعيدة عنها و قد سجلت شعبة البروتوبكتيريا النسبة السائدة في جميع المواقع .كانت هناك غزارة نسبية من برويتوباكتيريا في المناطق البعيدة عن الشاطئ و CS-19 ، كانت هناك شعب أخرى ذات غزارة وهي : باكتيروديتس و فيرميكيوتس و الأكتينوباكتيريا . وتم التعرف على إجمالي 532 بكتيريا على مستوى الجنس ، و قد تم في هذه الدراسة إكتشاف ثمانية عشر ARGs المشفرة لمقاومة أمينوجليكوسيدات و بيتا لاكتام و السلفاناميد و الماكروليد و و الكونيولون و التتراسيكلين . وقد وجد بشكل شائع المورثات *bla*TEM-1 , *qnrS, aacC2, ermC* في المواقع الساحلية و البعيدة عن الساحل . و قد وجد بشكل نسبي مزيد من ARGs في المواقع الساحلية بشكل أساسي في العينات الملوثة بواسطة النشاط الادمي تشمل aaC2 , aaC3 و

التي وجدت بغزارة أعلى نسبياً من عينات الشاطئ. يستنتج من ذلك وجود زيادة نسبية في العزلات المقاومة للمضادات الميكروبية في البحر الأحمر مقارنة بدراسات أخرى ، وأن النشاطات الادمية من المحتمل مساهمتها في زيادة التنوع البكتيري و ARGs المحققة في المواقع الساحلية الملوثة بشكل واضح . أظهر تحليل البيانات المنسقة الأساسية للمتغيرات المتعددة انفصال تجمع موقع MG-AG عن MG-ZB و كانت سائدة MG-MS . وجد أن أصناف بكتيرية معينة كانت سائدة في موقع و الأجناس *Cobetia* و*Pseudoalteromonas* تم التعرف عليها على الأغلب في موقع MG-ZB مقارنة بالمواقع الساحلية المتأثرة بالنشاط الادمي في المواقع الساحلية . أظهر التنوع البيتا مجموعة منفصلة ساحلية و بعيدة عن الساحل و المانجروف .

Screening of Red Sea Bacterial Community for Antibiotics and Antimicrobial Resistance Agents

By

Riaz Ullah Kamran Khan

Supervised By

Prof. Abdulbasit Ibrahim Al-sieni

Dr. Ahmed Abdullah khalaf Al-Ghamdi

Abstract

The Red Sea is perceived an unexplored environment for its bacterial community and antibiotic resistance. A record number of recreational sites and industrial zones recently have been developed on the Red Sea coast. Mangrove habitats are ecologically important ecosystems that are under severe pressure worldwide because of environmental changes and human activities. In this study, 16S rDNA sequencing was used to identify the isolates obtained from 12 sediment samples collected from coastal, offshore and mangrove sites. Moreover, 16S rRNA gene amplicon deep-sequencing was used to explore bacterial communities in 13 samples from Red Sea coast, offshore and mangrove ecosystems. Quantitative PCR was used to estimate the quantity of antimicrobial resistance genes (ARGs) in the metagenomic DNA of the sites studied. The obtained bacterial isolates were classified into 137 distinct species, and site-specific bacterial communities inhabiting the Red Sea were apparent. Sixteen and seventeen isolates were recorded potentially active against *E. coli* and *S. aureus,* respectively. Relatively, more resistant bacteria were isolated from the coast, and multidrug-resistant (MDR) bacteria were predominantly present in the offshore samples. In total, 32 phyla were identified from the mangrove rhizospheres, with Proteobacteria predominating at each of the

studied sites; however, the relative abundance was significantly decreased at the coastal sites (Mastorah, MG-MS and Ar-Rayis, MG-AR) compared with the Pristine island site near Zahban (MG-ZB). The phyla Actinobacteria, Firmicutes, Acidobacteria, Chloroflexi, Spirochetes, and Planctomycetes were present at a relative abundance of >1% at the MG-MS and MG-AR sites, but their concentration was <1% at the MG-ZB site. A total of 1659 operational taxonomic units (OTUs) were identified at the species level, and approximately 945 OTUs were shared across the different sampling sites. Overall, 32 phyla were detected in coastal and offshore sites, proteobacteria were recorded as the dominant phylum across all sites. Relatively high abundance of Proteobacteria was detected in offshore and CS-19 sites. Other abundantly recorded phyla were: Bacteroidetes, Firmicutes and Actinobacteria. A total of 532 genera were detected. Eighteen ARGs were detected in this study encoding resistance to aminoglycoside, beta-lactam, sulfonamide, macrolide, quinolone and tetracycline. The *qnr*S, *aac*C2, *erm*C and $bla_{\text{TEM-1}}$ genes were commonly found in coastal and offshore sites. Relatively more ARGs were found in the coastal sites primarily in the apparently anthropogenically contaminated samples, including *aacC*2 and *aacC*3, that were detected in relatively higher abundance in beach samples. In conclusion, Multivariate principal coordinate data analysis separated the MG-ZB site from the MG-AR and MG-MS cluster. Specific bacterial taxa were found at each location, and, the genera *Pseudoalteromonas* and *Cobetia* were predominantly identified in the MG-ZB site compared with the anthropogenically influenced coastal sites. Beta-diversity showed coastal, offshore and mangroves samples clustered separately. A relative increase in antimicrobial-resistant isolates was found in the Red Sea compared to other studies, and the anthropogenic

activities are probably contributing to the increase in bacterial diversity and the ARGs detected in the apparently contaminated coastal sites.