



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

تشخيص جراثيم الايشريشيا القولونية النمط المصلي 0157:H7
المعزولة من لحوم الدواجن والأبقار باستخدام تقنية تفاعل البلمرة
المتسلسل (PCR)

أوفى عزا لدين عزيز الطائي

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الصحة العامة البيطرية

بإشراف

الأستاذ المساعد

منتهى غازي حسن

الخلاصة

تضمنت الدراسة تشخيص جراثيم الايشريشيا القولونية *Escherichia coli* النمط المصلي O157:H7 في لحوم الأبقار والدواجن المحلية والمستوردة والمتضمنة كل من اللحم المفروم والهمبركر والكباب بالنسبة للحوم الأبقار, في حين تضمنت لحوم الدواجن الدجاجة الكاملة وهمبركر الدجاج والأفخاذ والصدر والأجنحة للمدة من شهر تشرين الثاني ٢٠١١ ولغاية حزيران ٢٠١٢, وقد اعتمد تشخيص الجرثومة على الخصائص الشكلية والمزرعية والكيموحيوية, فضلا عن استخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل بوصفها تقانة حديثة لتوثيق التشخيص للنمط المصلي O157:H7 بالاعتماد على وجود الجينات *rfbO157* و *flicH7*.

وبلغ المجموع الكلي لعينات الدراسة ٢٧٥ عينة, وقد تم عزل جراثيم الايشريشيا القولونية الجين *rfbO157* في أربع عينات ونسبة ١,٤٥ % في لحوم الدواجن المحلية والمستوردة فقط. و تم تشخيص وجود الجين *flicH7* في ١٣ عينة ونسبة ٤,٧٢ % لعينات لحوم الأبقار والدواجن المحلية والمستوردة بنوعها.

وعند فحص ١٠٠ عينة للحوم الأبقار المحلية والمستوردة, و ١٧٥ عينة للحوم الدواجن المحلية والمستوردة عزلت جراثيم الايشريشيا القولونية الجين *flicH7* بتقانة تفاعل البلمرة المتسلسل من سبع عينات للحوم الأبقار المستوردة ونسبة عزل ١٤ %, في حين كانت نسبة عزل هذا الجين موجبة في عینتين في لحوم الأبقار المحلية ونسبة ٤ %, وكانت نسبة العزل موجبة لهذا الجين في ثلاث عينات للحوم الدواجن المستوردة بنسبة عزل ٢,٤ %, وعينة واحدة للحوم الدواجن المحلية ونسبة عزل ٢ %.

وعند فحص لحوم الأبقار والدواجن بتقانة تفاعل البلمرة المتسلسل في الكشف عن الجين *rfbO157* أعطت ثلاث عينات للحوم الدواجن المستوردة نتيجة موجبة لهذا الجين, ونسبة ٢,٤ % وأعطت عينة واحدة للحوم الدواجن المحلية نتيجة موجبة ونسبة ٢ %, في حين لم يثبت تشخيص هذا الجين في عينات لحوم الأبقار المحلية والمستوردة باستخدام هذه التقانة.

وكان تركيز الدنا المستخلص من جراثيم الايشريشيا القولونية يتراوح بين (١٤٦,٥ - ٢١,٨) نانوغرام/ مايكروليتر.

وتم الحصول على حزمة متضاعفة متخصصة ذات وزن جزيئي ٦٢٥ زوجا" قاعديا للجين *flicH7*, بينما كانت الحزمة المتضاعفة التي تم الحصول عليها من الجين *rfbO157* بوزن جزيئي ٢٥٩ زوجا" قاعديا".

و ظهرت هذه الحزم لهذه الانواع من الجينات عند ترحيلها على هلام الاكاروز ١٪ وصبغها بصبغة الايثيديومبرومايد, ومن ثم مقارنتها مع الدليل الحجمي القياسي DNA Ladder. وعند دراسة حساسية جراثيم الايشريشيا القولونية المعزولة من لحوم الدواجن للمضادات الحيوية أبدت هذه المضادات حساسية عالية Cefotaxime بالتركيز ١٠ مايكرو غرام في لحوم الدواجن المحلية والمستوردة في حين كانت هذه العزلات مقاومة للـ Tetracycline بالتركيز ١٠ مايكرو غرام.

وأظهرت عزلات جراثيم الايشريشيا القولونية المعزولة من لحوم الأبقار المستوردة والمحلية حساسية عالية للـ Neomycin و الـ Gentamicin, في حين أظهرت هذه العزلات مقاومة عالية للـ Doxycycline بالتركيز ١٠ مايكرو غرام , واختلفت حساسية هذه العزلات لبقية المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة.

University Of Mosul
Collage Of Veterinary Medicine



Detection of *Escherichia coli* Serotype O157:H7 Isolated From Beef and Poultry Meat Products Using Polymerase Chain Reaction

Awfa Ezzulddin Azeez

M.Sc. / Thesis

Veterinary Medicine

Veterinary Public Health

Supervised by:

Assistant professor

Dr. Muntaha Ghazi Hasan

Summary

The study was conducted for isolation and detection of *Escherichia coli* O157:H7 in imported and local beef and poultry meats represented with minced meat, beef burger and kebab for beef while the poultry meat samples were the whole chicken, chicken burger, drum stick, breast and wings, during the period from November 2011 till June 2012.

Detection of these organisms depends on cultural characteristic of colonies and biochemical tests, as well as using of polymerase reaction PCR as modern technique for confirmation. The serotyping depends on the presence of the gens *rfbO157* and *flicH7*.

Out of the total 275 sample, *E. coli* was isolated *rfbO157* gene in 3 samples (2.4%) in imported poultry meat and 1 sample (2%) for local poultry meat, while beef samples was negative for this gene. Also we detected *flicH7* gene in 7 samples (14%) of imported beef and 2 samples (4%) in local beef meat whereas imported poultry meat revealed this gene in 3 samples (2.4%) and 1 sample (2%) in local poultry meat.

The concentration of DNA extracted from *Escherichia coli* isolates was between 54ng/μl-146.5 ng/μl. And, we obtained specific duplicated band with molecular weight 625 bp for *flicH7* while *rfbO157* revealed 259 bp.

Antibiotic sensitivity profile of *E. coli* isolates toward (10) Antibiotics including (Ciprofloxacin, Amoxicillin/Clavulanic, Amikacin, Cefotaxime, Chloramphenicol, Doxycycline, Gentamicin, Neomycin, Nitrofurantoin and Tetracycline) was also investigated, and it shown high sensitivity toward Cefotaxime while high resistance toward Tetracycline in Poultry meat products .The *E. coli* strains in Beef meat products shown high sensitivity toward Gentamicin and Neomycin, while it shown high resistance toward Doxycycline.