جـامـعـة الموصل
كـلـيـة الطب البيطري

الكشف عن بعض الجينات الممرضة للنمط المصلي O157:H7 لجراثيم الاشريكيا القولونية المعزولة من لحوم العجول ومحلات القصابة في مدينة الموصل

شاكر محمود عثمان عبدالله البياتي

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الصحة العامة البيطرية

بأشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور عمر هاشم شيت

١٤٤٤ هـ ٢٠٢٢ م

الخلاصة

يؤثر تلوث اللحوم بجراثيم الإشريكيا القولونية على جودته لأنها تمتلك العديد من عوامل الضراوة ومن اهمها (سموم الشيكا) التي تسبب التسمم الغذائي ومن المحتمل ان تؤدي الى موت الإنسان. هدفت هذه الدراسة إلى عزل جراثيم الاشريكيا القولونية والكشف عن الجينات *uidA* و*Stx1* و *Stx2* وكذلك تحديد النمط المصلي O157: H7 المعزولة من لحوم العجول ومحلات القصابة في مدينة الموصل.

جمعت (٥٠٤) عينة مختلفة من اللحوم ومحلات القصابة من مناطق مختلفة من مدينة الموصل شملت العينات (لحوم العجول ومسحات من السكاكين والكلاليب وايدي القصابين ومكائن الفرم والمناضد)بواقع ٨٤ عينة لكل نوع من العينات. جمعت العينات بواسطة مسحات وعلب معقمة ونقلت مباشرة الى مختبرات الصحة العامة البيطرية في كلية الطب البيطري/جامعة الموصل، زرعت العينات على الأوساط التقليدية الانتقائية والتفريقية لغرض عزل وتشخيص جراثيم الأشريكيا القولونية واجريت اختبارات الكيموحيوية على جراثيم الاشريكيا القولونية مثل الأوكسيديز والكاتاليز واختبار ثلاثي السكر والحديد واختبار الاندول والمثيل الأحمر واختبار فوكس بروسكاور واختبار استهلاك السترات. وفضلاً عن ذلك تم استخدام طريقة البيولوجيا الجزيئية حيث استخدمت تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل بالاعتماد على الحامض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين للتأكد من النتائج التي تم الحصول عليها من الطرق التقليدية.

أظهرت نتائج هذه الدراسة نمو جراثيم الاشريكيا القولونية على وسط الأيوسين مثيلين الأزرق حيث نمت مستعمرات الاشريكيا القولونية ذات لون اخضر لامع تسمى ظاهرة البريق المعدني (Metallic Sheen) بينما زرعت الجراثيم المعزولة على وسط الماكونكي (كاختبار تأكيدي) وكانت مستعمرات جراثيم الاشريكيا القولونية ذات لون وردي وزرعت جراثيم الاشريكيا القولونية على وسط الكروم الخاص بالنمط المصلي O157:H7 لتحديد هذ النمط المصلي من بين عزلات جراثيم الاشريكيا القولونية حيث ظهرت المستعمرات على هذا الوسط بلون بنفسجي فاتح. وأخيرا تم صبغ جراثيم الاشريكيا القولونية بصبغة كرام إذ ظهرت تحت المجهر على شكل عصيات سالبة الكرام.

اظهرت نتائج الدراسة بان نسبة العزل لجراثيم الاشريكيا القولونية كانت27.4% (١٣٨/٥٠٤) ونسبة عزل النمط المصلي O157:H7 كانت ٩.٤% (١٣/١٣٨) وقد توافقت جميع هذه النتائج مع اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل للكشف عن الجين الخاص بجرثومة الأشريكيا القولونية *uidA* حيث كانت النسبة ١٠٠% (١٣٨/١٣٨). وفضلاً عن ذلك اظهرت نتائج الدراسة بان عوامل الفوعة لجين *Stx1* تم تحديده في بعض من جراثيم الاشريكيا القولونية وبنسبة ٢١.٧% (١٣٨/٣٠) بينما تم تحديد جين *Stx2*وفي بعض من جراثيم الاشريكيا القولونية وبنسبة ١٢.٣% (١٣٨/١٧) وفضلاً عن ذلك فقد

اظهرت النتائج بان اعلى نسبة تحديد جينات *Stx1* و*Stx2* معا في جراثيم الاشريكيا القولونية كانت ٦٦% (١٣٨/٩١). علاوة على ذلك تم تحديد جين *uidA* في النمط المصلي O157:H7 وبنسبة ١٠٠% و جين *Stx1* وبنسبة ٩٢.٣% و اخيرا جين *Stx2* وبنسبة ١٠٠%. وتمت دراسة مدى تأثير المضادات الحيوية على العزلات المستخدمة في الدراسة بإجراء اختبار حساسية لاثني عشر نوعا من المضادات الحيوية حيث اشتملت على (التتراسيكلين والايرثرومايسين والجنتاميسين والكلورامفينيكول والأموكسيسيلين وسيبروفلوكساسين ونتروفورانتوين وسيفالوثين وسيفكسيم وتريميثوبريم وسيفترياكسون وستربتومايسين). كانت نتيجة هذه الفحوصات لبكتريا *E. Coli* المتعايشة ١٠٠٪ و ٩٤٪ و ٨٠٪ لمقاومة البكتريا للمضادات الحيوية التالية (سيفالوثين و إريثروميسين و أموكسيسيلين) ، بينما كانت حساسية البكتيريا للمضادات الحيوية ١٠٠٪ ل (جنتاميسين و سيبروفلوكساسين). و ٩٦٪ إلى تريميثوبريم و ٩٠٪ إلى (سيفكسيم و سيفترياكسون). نتيجة هذه الاختبارات لـ *E. Coli* O157: H7 كانت ١٠٠٪ للحساسية البكتيرية للمضادات الحيوية التالية (سيبروفلوكساسين و سيفكسيم و الكلورامفينيكول و تريميثوبريم و الجنتاميسين و سيفترياكسون وستربتومايسين). بينما كانت مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية ١٠٠٪ لكل من (الاريثروميسين و سيفالوثين و أموكسيسيلين).

University of Mosul
College of Veterinary Medicine

Detection of some pathogenic genes of serotype O157:H7 of *Escherichia coli* isolated from veal meat and butcher shops in Mosul city

Shaker Mahmood Othman Abdullah

M.Sc. Thesis
Veterinary Medicine
Veterinary Public Health

Supervised by
Assistant Professor
Dr. Omar Hashim Sheet

2022 A.D. **1444 A.H.**

Abstract

Contamination of meat with *E. coli* affects its quality because it has many virulence factors, the most important of which are (Shiga toxins) that cause food poisoning and are likely to lead to human death. This study aimed to isolate *E. coli*, detect the *uidA*, *Stx1* and *Stx2* genes, as well as determine the serotype O157:H7 isolated from veal and butcher shops in Mosul city.

(504) different samples of meat and butcher shops were collected from different areas of the city of Mosul, including samples (veal meat, swabs of knives, hooks, butchers' hands, mincing machines and tables) 84 samples for each type of samples. Samples were collected by sterile swabs and containers, samples were transferred directly by a cooler box to the Veterinary Public Health Laboratories at the College of Veterinary Medicine/Mosul University.

samples were grown on conventional selective and differential media for the purpose of isolating and diagnosing *E. coli*. Biochemical tests were conducted on *E. coli* such as oxidase, catalase, triple sugar iron test, indole test, Methyl Red test, Voges Proskauer test and citrate utilization test. In addition, the molecular biology method was used, where the polymerase chain reaction (PCR) technique was used based on Deoxyribonucleic acid to confirm the results obtained from conventional methods.

The results of this study showed the growth of *E. coli* colonies on eosin methylene blue agar, where colonies of *E. coli* were grown with a bright green color called metallic sheen, while the isolated colonies were planted on Maconkey agar (as a confirmatory test). *E. coli* on chromium agar of serotype O157:H7 to determine this serotype among the isolates of *E. coli*, where colonies appeared on this media in a light purple color.

The results of the study showed that the rate of isolation of Escherichia coli was 27.4% (138/504) and the rate of isolation of serotype O157:H7 was 9.4% (13/138). All these results were in agreement with the

polymerase chain reaction test to detect the gene of *E. coli uidA* Where the ratio was 100% (138/138). In addition, the results of the study showed that the virulence factors of *Stx1* gene were identified in some of the E. coli bacteria by 21.7% (30/138), while the *Stx2* gene was identified and in some of the E. coli bacteria at a rate of 12.3% (17/138). The results showed that the highest rate of identification of *Stx1* and *Stx2* genes together in *Escherichia coli* was 66% (91/138). Moreover, the *uidA* gene was identified in the serotype O157:H7 at 100%, *Stx1* gene at 92.3%, and finally, the *Stx2* gene at 100%. The effect of antibiotics on the isolates used in the study was studied by conducting a sensitivity test for twelve types of antibiotics, which included (tetracycline, erythromycin, gentamicin, chloramphenicol, amoxicillin, ciprofloxacin, nitrofurantoin, cephalothin, cefixime, trimethoprim, ceftriaxone and streptomycin). The result of these assays for commensal E. coli was 100%, 94% and 80% for the bacteria's resistance to the following antibiotics (cephalothin, erythromycin, and amoxicillin), while the bacteria's sensitivity to antibiotics was 100% to (gentamicin and ciprofloxacin). and 96% to trimethoprim and 90% to (cefixime and ceftriaxone). The result of these tests for E. Coli O157:H7 was 100% for bacterial sensitivity to the following antibiotics (ciprofloxacin, cefixime, chloramphenicol, trimethoprim, gentamicin, ceftriaxone, and streptomycin). While the resistance of bacteria to antibiotics was 100% for each of (erythromycin, cephalothin and amoxicillin).