University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Molecular detection of some virulence genes and antimicrobial profile of *Escherichia coli* causing colibacillosis in lambs

Khalid Waleed Mohammad

MSc. / Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Microbiology

Supervised by

Professor

Dr. Mohammad Ali Hamad

2025 A.D. **1446 A.H.**

Abstract

Colibacillosis, caused by pathogenic strains of *E. coli*, is a significant disease affecting newborn lambs, leading to high mortality rates and substantial economic losses in sheep farming. Despite its impact, there are limited research on this disease and its causative agents in Iraq, particularly in Mosul city. This study aimed to molecularly confirm the presence of virulence genes in *E. coli* strains isolated from lambs with colibacillosis in Mosul, Iraq, and to assess their antibiotic resistance profiles. A total of 100 rectal swabs were collected from diarrheic lambs (less than one month old) across various farms and veterinary clinics in Mosul from October to December 2024. The samples were processed using conventional microbiological methods, including culture on selective and differential media, biochemical tests, and chromogenic agar for phenotypic detection of *E. coli*. Molecular techniques, specifically polymerase chain reaction (PCR), were employed to confirm *E. coli* isolates using the *uidA* gene and to detect virulence genes (*stx1, stx2,* and *eaeA*). Antibiotic susceptibility testing was performed using the disk diffusion method against 12 commonly used veterinary antibiotics.

The conventional diagnosis results revealed an *E. coli* isolation rate of 84% (84/100). All isolates were confirmed as *E. coli* via PCR depending on the *uidA* gene. Among the 65 isolates tested for virulence genes, 92.3% harbored *stx1*, 72.3% harbored *stx2*, and 26.15% carried e*aeA*. Notably, 40% of isolates possessed both *stx1* and *stx2*, while 26.15% carried all three virulence genes (*stx1, stx2, and eaeA*). Based on these findings, 98.5% of isolates were classified as STEC, with only 1.5% lacking any virulence genes. Antibiotic resistance profiling showed that all isolates were completely resistant to lincomycin, spiramycin, ceftriaxone, and metronidazole. High

resistance rates were observed for amoxicillin (83.3%) and oxytetracycline (83.3%), indicating multidrug resistance (MDR). In contrast, fluoroquinolones, including norfloxacin, ciprofloxacin, and ofloxacin, retained their high inhibitory capacity for the majority of the isolates studied (sensitivity 83.3%).

This study highlights the prevalence of highly virulent *E. coli* strains in lambs infected with colibacillosis in Mosul city, necessitating effective treatment strategies and appropriate antibiotic management to reduce economic losses and the risk of zoonotic diseases. The findings accentuate the importance of molecular diagnostics in identifying pathogenic *E. coli* strains, and highlight the growing interplay of biological pathogens between veterinary medicine and public health.

جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

التحري الجزيئي لبعض جينات الفوعة وصفة الحساسية للمضادات الجرثومية للإشريكيا القولونية المسببة لداء العصيات القولونية في الحملان

خالد وليد محمد

رسالة ماجستير

في اختصاص الطب البيطري/ احياء المجهرية

باشراف الأستاذ الدكتور

محمد علي حمد

1447 هـ

2025 م

الخلاصة

داء العصيات القولونية، الذي تسببه سلالات ممرضة من الإشريكيا القولونية، هو مرض خطير يصيب الحملان حديثة الولادة، مما يؤدي إلى ارتفاع معدلات النفوق وخسائر اقتصادية كبيرة في تربية الأغنام. وعلى الرغم من تأثيره، إلا أن هناك أبحاثًا محدودة حول هذا المرض ومسبباته في العراق، وخاصة في الموصل. هدفت هذه الدراسة إلى التأكيد الجزيئي على وجود جينات الضراوة في سلالات الإشريكيا القولونية المعزولة من الحملان المصابة بداء العصيات القولونية في الموصل، العراق، وتقييم أنماط مقاومتها للمضادات الحيوية. تم جمع 100 مسحة شرجية من الحملان المصابة بالإسهال (أقل من شهر واحد) من مختلف القطعان والعيادات البيطرية في الموصل من تشرين الأول إلى كانون الأول 2024. تمت معاملة العينات باستخدام طرق التشخيص الجرثومي التقليدية، بما في ذلك الزراعة على أوساط انتخابية وتفريقية، والاختبارات الكيميائية الحيوية، وأكار الكروموجينيك للكشف المظهري عن الإشريكيا القولونية. استُخدمت تقنيات جزيئية، وتحديدًا تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR)، لتأكيد عزلات الإشريكيا القولونية باستخدام جين uidA، وللكشف عن جينات الضراوة (stx1، stx2، وeaeA). كما أُجري اختبار حساسية المضادات الحيوية باستخدام طريقة انتشار الاقراص لتقييم كفاءة 12 مضادًا حيويًا بيطريًا شائع الاستخدام.

أظهرت نتائج التشخيص التقليدي معدل عزل لجراثيم الإشريكيا القولونية بنسبة 84% (100/84). وتم التأكيد بأن جميع العزلات هي جراثيم الإشريكيا القولونية عن طريق تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) باعتماد جين uidA، ومن بين العزلات الـ 65 التي خضعت للاختبار لجينات الضراوة، كانت 92.3% منها حاملة لجين stx1، و72.3% منها لجين stx2، و26.15% منها لجين eaeA. والجدير بالذكر أن 40% من العزلات حملت جينَي stx1 وstx2 معًا، بينما حملت 26.15% منها جينات الضراوة الثلاثة (stx1، stx2، و eaeA). وبناء على هذه النتائج، تم تصنيف 98.5% من العزلات على أنها من الإشريكيا القولونية المنتجة لذيفانات الشيجا STEC، مع افتقار 1.5% فقط إلى أي جينات ضراوة.

أظهر إختبار المقاومة للمضادات الحيوية أن جميع العزلات مقاومة تمامًا للينكومايسين، والسبيراميسين، والسيفترياكسون، والميترونيدازول. ولوحظت معدلات مقاومة عالية للأموكسيسيلين (83.3%) والأوكسيتتراسيكلين (83.3%)، مما يشير إلى مقاومة متعددة للأدوية (MDR). في

المقابل، احتفظت الفلوروكينولونات، بما في ذلك النورفلوكساسين، والسيبروفلوكساسين، والأوفلوكساسين بفدرتها التثبيطية العالية لغالبية العزلات قيد الدراسة (حساسية 83.3%).

تُسلّط هذه الدراسة الضوء على انتشار سلالات الإشريكيا القولونية شديدة الضراوة لدى الحملان المصابة بداء العصيات القولونية في الموصل، مما يتطلب اتباع استراتيجيات علاجية فعّالة وإدارة نوعية لاستخدامات المضادات الحيوية في المعالجة للحدّ من الخسائر الاقتصادية ومخاطر الأمراض الحيوانية المنشأ. وتُؤكّد النتائج على أهمية التشخيص الجزيئي في تحديد سلالات الإشريكيا القولونية المُمرضة، وايضاً الانتباه لتنامي التداخلات البيولوجية المرضية بين الطب البيطري والصحة العامة.