جمهورية العراق
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة الموصل
كلية العلوم البيئية
قسم علوم البيئة

تقييمُ مخاطرِ الصحَّةِ العامَّةِ المرتبطةِ بالبكتريا المُقَاومةِ للمضاداتِ الحيويَّةِ في النفاياتِ السائلةِ مِن مَجزَرة ومَحلات القِصابَة وأَساليبِ العلاجِ المُحتَمَلَةِ

رحمة نجم الدين عبدالله فتحي النجار

رسالة ماجستير

في العلوم البيئية

بإشراف

الأُستاذ المساعد

الدكتور أَيمن محمد جبر البناء

١٤٤٧هـ ٢٠٢٥ م

الخلاصة Abstract

يُمثل تزايد وانتشـار البكتيريا المقاومة للمضـادات الحيويَّة من الحيوانات والإنسـان خطرًا كبيرًا على الصحة العامة والسلامة البيئية ولاسيَّما في البيئات المرتبطة بالإنتاج الحيواني؛ إذ هدفت هذه الدراسة على تحديد ومراقبة مؤشـرات مقاومة المضـادات الحيويَّة في البكتيريا المعزولة من مياه الصـرف الصـحي للمجازر و محلات القصابة بدمج المنهجيات الميكروبيولوجية والجزيئية.

جُمعت عينات من مياه الصرف الصحي من مجزرة وعدد من محلات القصابة؛ و عُزلت 56 عزلة بكتيرية تضمنت *Escherichia coli, Bacillus spp., Pseudomonas aeruginosa, Enterococcu spp., Klebsiella pneumoniae, Proteus spp.,* فضلًا عن عديدة أَنواع من جنس*Staphylococcu* باستخدام ثلاثة أنواع من الأوساط الكروموجينية و إختبار حساسية المضادات الحيويَّة، و أظهرت النتائج مقاومة واسعة لمضادات رئيسية تمثل خطوطاً علاجية أساسية للإنسان و الحيوان، مثل الميثيسيلين، الإيميبينيم، الفانكومايسين، الأزيثروميسين، والسيبروفلوكساسين.

ثم اختيار عشرة جينات مقاومة، منها mecA وblaIMP وvanA وMefA وgyrA وaac وrpoB، للتحليل باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي Real-Time PCR .

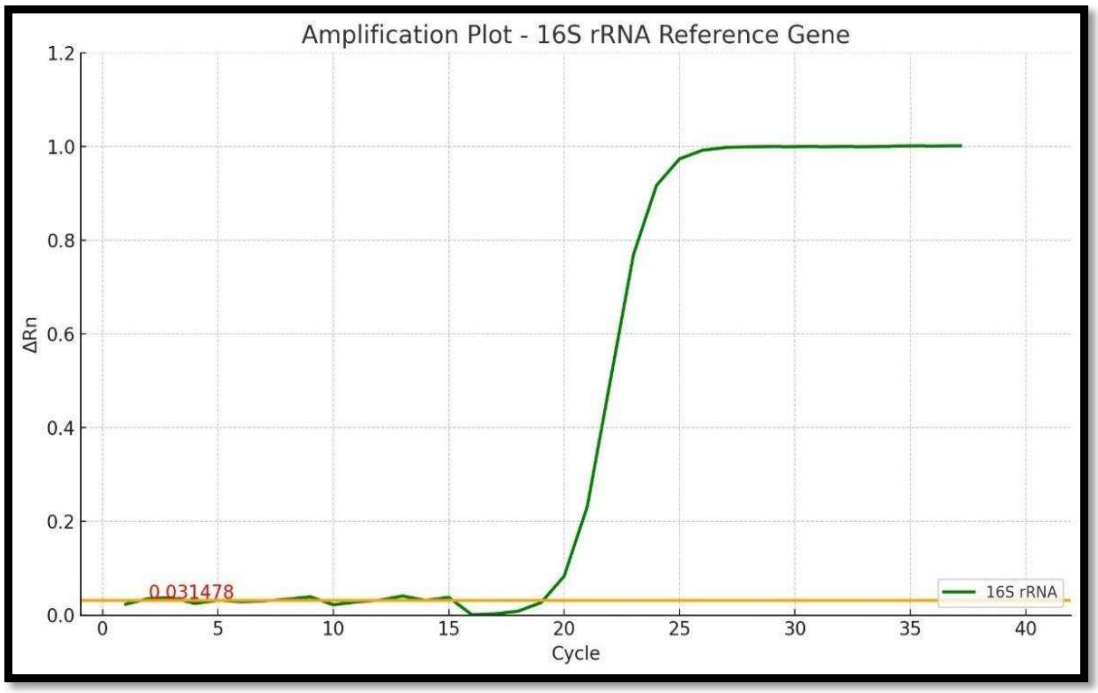
أَظهرت النتائج أَنَّ جينات mecA وblaIMP وVanA من بين أَكثر الجينات انتشارًا، مِمَّا يُظهر توافقًا ملحوظًا مع أَنماط المقاومة الظاهرية للعزلات الفردية. وقد سهّل تفاعل البلمرة المتسلسل الكمي (Real-Time PCR) الكشف السريع والحساسية في العثور على جينات المقاومة، والتعرف المبكر على البكتيريا المقاومة للأَدوية المتعددة دون الحاجة إِلى زراعتها.

كما بينت الدراسة أن المعالجة بالأكرِدين البرتقالي أدت إِلى توقف أَو انخفاض نشاط الجينات المقاومة للمضادات الحيويَّة، وقُيِّم ذلك بقياس مستوى التعبير الجيني، ويُشير الانخفاض الطفيف في

تعبير بعض الجينات مثل rPOB وLINB وdfrA إلى وجود انخفاض فعلي في نشـاطها الجيني نتيجة المعالجة.

أظهرت نتائج التحليل أن أنماط التعبير الجيني التي تم رصـدها عبر تقنية qPCR بطريقة ΔΔCt وفرت مؤشـراً واضـحاً على اسـتجابات النسـخ الجيني بعد التعرض للأكردين البرتقالي (Acridine Orange – AO)، مما أتاح معلومات دقيقة حول تأثيره على مسـتوى الجينات المقاومة للمضـادات الحيوية. وقد لوحظ أن هذه المعالجة أدت إلى تقليل أو تثبيط نشاط بعض الجينات المقاومة، وهو ما يُسهم في تسـهيل معالجة مياه الصـرف الصـحي الناتجة عن إحدى المجازر وعدد من محلات القصـابة قبل تصريفها إلى البيئة المباشرة، وبدرجة فعالية يمكن مقارنتها بالمعقمات أو المنظفات التقليدية.

وتقود هذه النتائج إلى استنتاج أن مياه الصرف الصحي للمسالخ تُعد مستودعاً أساسياً وناقلاً فعالاً للبكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة وجيناتها، مما يشـكل خطراً على الصـحة العامة والبيئة. لذلك توصـي الدراسـة بضـرورة إدماج المراقبة الجزيئية في اسـتراتيجيات الرصـد، وتطوير محطات معالجة متخصـصـة قادرة على إزالة البكتيريا المقاومة وجيناتها. كما تدعم النتائج تطبيق نهج الصحة الواحدة (One Health) للحد من انتشـار المقاومة عبر تحسـين إدارة النفايات الحيوانية، وتقليل الاسـتخدام غير المبرر للمضـادات الحيوية في الزراعة الحيوانية، إلى جانب تعزيز التعاون البحثي وتطوير مختبرات متخصـصـة لرصـد هذه الظاهرة على المستويين المحلي والدولي.

HIGHLITS	GRAPHICAL ABSTRACT
الشكل: **يمثل منحنى التضخيم النمط الكلاسيكي لـ qPCR لجين ١٦ S rRNA المرجعي، حيث يبدأ بمرحلة خط الأساس، ثم تضخيم أسي، ويتبعها مرحلة الاستقرار. تظهر قيمة Ct قرب الدورة ٢٠، مشيرةً إلى تجاوز التألق مستوى الخلفية ودلالة على وفرة mRNA. ويُستخدم الجين لتطبيع التعبير الجيني وفق طريقة ΔΔCt.**	

Keywords:

التعبير الجيني

جينات المقاومة للمضادات الحيوية

qPCR

ΔCT

ΔΔCT

16S rRNA

Acridine Orange (AO)

الخلاصة: تم تقييم التعبير الجيني لعدد من جينات المقاومة للمضادات الحيوية في سلالات بكتيرية مختلفة قبل وبعد المعالجة بصبغة Acridine Orange (AO) باستخدام تقنية تفاعل البوليميراز المتسلسل الكمي في الزمن الحقيقي (qPCR) وفق طريقتي ΔCT وΔΔCT، مع اعتماد جين 16S rRNA كجين مرجعي داخلي (CT = 20) كما في الشكل (٣٤).

شمل التحليل ثلاثة عشر جينًا مقاومًا تمثل آليات مختلفة للمقاومة، منها جينات بيتا لاكتاماز (mecA، blaIMP)، ومقاومة الجليكوببتيد (vanA)، والماكرولايد (mefA)، والأمينوغليكوزيد (aac)، واللينكوساميد (LINB)، والفلوروكينولون (gyrA، gyrB، rpoB، dfrA).

تمت الدراسة على سلالات بكتيرية ذات أهمية إكلينيكية تشمل *Escherichia coli*، *Bacillus spp.*، *Enterococcus spp.*، *Pseudomonas aeruginosa*، *Klebsiella pneumoniae*، *Proteus spp.*، و*Staphylococcus aureus*.

أظهرت نتائج qPCR أنماط تضخيم مميزة لكل جين، حيث عُرضت قيمة ΔRn مقابل رقم الدورة لأزواج البادئات الثلاثة عشر (من ١ إلى ١٣)، وتم تحديد التضخيم الإيجابي عند عتبة فلورية = ٠,٠٣١٤٧٨.

2025 M.sc. Thesis @Univ. of Mosul, College of Fac. Env. Scie. Dept. Env. Scie. (https://www.uomosul.iq/).

E-mail:central library@uomosul.edu.iq

rahma.23evp2@student.uomosul.edu.iq

Republic of Iraq

Ministry of Higher Education

University of Mosul

College of Environmental Sciences

Department of Environmental Sciences

Assessment of Public Health Risks Associated with Antibiotic-Resistant Bacteria from Slaughterhouse and Butcher Shops Wastewater and Potential Treatment Strategies

Rahma Najemaldeen Abdullah Fathi AL-Njar

M.Sc / Thesis

Environmental Sciences

Supervised by

Assistant Professor

Dr.Ayman.M.J Al-banna

2025 A.D **1447 A.H**

Abstract

The increasing spread of antibiotic-resistant bacteria originating from animals poses a significant threat to public health and environmental safety, particularly in environments associated with animal production. This study focused on identifying and monitoring indicators of antimicrobial resistance (AMR) in bacteria isolated from slaughterhouse and butcher shops wastewater by integrating microbiological and molecular approaches.

Samples were collected from slaughterhouse and butcher shops wastewater, and 56 bacterial isolates were recovered, including Escherichia coli, Bacillus spp., Pseudomonas aeruginosa, Enterococcus spp., Klebsiella pneumoniae, Proteus spp., as well as several Staphylococcus species. Using three types of chromogenic media and antibiotic susceptibility testing, the results revealed widespread resistance to key antibiotics that represent essential therapeutic lines in both humans and animals, such as methicillin, imipenem, vancomycin, azithromycin, and ciprofloxacin.

Ten resistance genes, including mecA, blaIMP, vanA, MefA, gyrA, aac, and rpoB, were selected for analysis using Real-Time PCR. The results showed that mecA, blaIMP, and vanA were among the most prevalent genes, demonstrating a clear correlation with the phenotypic resistance patterns of individual isolates. Real-Time PCR provided a rapid and sensitive tool for detecting resistance genes and for the early identification of multidrug-resistant bacteria without the need for culture.

The study also demonstrated that treatment with Acridine Orange (AO) led to inhibition or reduction of resistance gene activity, as assessed through gene expression levels. A slight decrease in the expression of certain genes, such as rpoB, linB, and dfrA, indicated an actual decline in their transcriptional activity following treatment.

The expression patterns observed using the qPCR ΔΔCt method provided a clear indication of transcriptional responses after AO exposure, offering valuable insights into its impact on resistance gene activity. The treatment was shown to suppress or inhibit the activity of certain resistance genes, thereby contributing to the potential facilitation of slaughterhouse and butcher shops wastewater treatment before its release into the environment, with a degree of effectiveness comparable to that of conventional disinfectants.

These findings lead to the conclusion that slaughterhouse and butcher shops wastewater constitutes a major reservoir and effective vector for multidrug-resistant bacteria and their resistance genes, posing a risk to both public health and the environment. Therefore, this study recommends the integration of molecular surveillance into monitoring strategies and the development of specialized treatment facilities capable of eliminating resistant bacteria and their genes. The results also support the application of the One Health approach to limit the spread of resistance through improved animal waste management, the reduction of unjustified antibiotic use in animal agriculture, and the promotion of research collaboration and specialized laboratories to monitor this phenomenon at both local and international levels.