جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

# انتشار ومقاومة مضادات الميكروبات والتوصيف الجزيئي للايشريكيا القولونية في المزارع السمكية والأسواق المحلية في مدينة الموصل

نور عبد الجبار يونس الطائي

رسالة ماجستير

الصحة العامة البيطرية

بإشراف

الاستاذ الدكتور

رعد عبدالغني بشير السنجري

---

1444 هـ

2023 م

# الخلاصة

تسبب جراثيم الايشريكيا القولونية العديد من الأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء الى المستهلك ولاسيما التسمم الغذائي بسبب تلوث المنتجات الغذائية ومن ضمنها الأسماك والاغذية البحرية . هدفت الدراسة إلى عزل جرثومة الايشيريكيا القولونية من الأسماك المتوفرة في الأسواق المحلية والمزارع السمكية في مدينة الموصل وتوصيفها بالطرائق الحديثة . تم جمع عينات الأسماك والبالغ عددها 153عينة للمدة من 2021/11/1 الى 2022/1/30 منها 75 عينة سمك من مزارع الأسماك و 78 عينة سمك من الأسواق المحلية في مدينة الموصل . تم وضع العينات في حاويات مبردة ونقلت العينات الى مختبر فرع الصحة العامة البيطرية /كلية الطب البيطري /جامعة الموصل وأجريت عليها الفحوصات التقليدية والاختبارات الكيموحيوية التاكيدية وكذلك إجراء الاختبارات الجزيئية باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) وذلك للكشف عن الجين الخاص بجرثومة الايشريكيا القولونية *uidA* فضلاً عن الكشف عن عوامل الفوعة الخاصة بالجرثومة والمسؤولة عن انتاج سموم الشيغا وحدوث التسمم الغذائي وتشمل كل من جين *Stx1* و *Stx2* كما وتم تحديد مصدر التلوث اعتماداً على تحليل بصمة تفاعل البلمرة المتسلسل التكرارى بين الجينات للجراثيم المعوية ( ERIC-PCR). ايضاً تم اجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية لمعرفة حساسية الجرثومة للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة .

أوضحت نتائج الدراسة أن عدد العينات التي أعطت نتيجة موجبة لجراثيم الايشريكيا القولونية في أسماك الأسواق المحلية كانت 28 عينة وبنسبة 35.9 %، أما عدد الأسماك التي أعطت نتيجة موجبة لجراثيم الايشريكيا القولونية في أسماك المزارع هي 18 عينة موجبة وبنسبة 24%. أما عدد العزلات التي أظهرت نتيجة موجبة لجراثيم الايشريكيا القولونية ذات النمط المصلي O157:H7 بالعزل التقليدي من عينات أسماك الأسواق المحلية فكانت 11 عزلة وبنسبة 39.2% في حين كانت العزلات من أسماك المزارع هي 7 عزلة وبنسبة 38.9%. وتم اجراء التوصيف الجزيئي للجرثومة باستخدام تقنية ال PCR أذ أظهرت نتائج الدراسة ان جميع عزلات جراثيم الايشريكيا القولونية والتي تم عزلها من عينات الأسماك سواءً من الأسواق المحلية او من المزارع السمكية كانت موجبة وتمتلك الجين الخاص بها *uidA* ذو الوزن الجزيئي 623 زوجاً قاعدياً .

بالاضافة الى ذلك أظهرت نتائج دراسة التحري عن وجود جينات الفوعة الخاصة بالجرثومة والمسؤولة عن انتاج السموم وباستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل والبادئات الخاصة بها حيث أن عدد العزلات لجراثيم الأيشريكيا القولونية المعزولة من عينات أسماك المزارع كانت 16 عزلة تمتلك جين *Stx1* وبنسبة 88.9 % في حين أن العزلات من عينات أسماك الأسواق المحلية البالغ عددها 25 عزلة كانت تمتلك جين*Stx1* وبنسبة 89.3%، وبوزن جزيئي 347 زوج قاعدي كذلك أظهرت نتائج دراستنا أن جرثومة

الأيشريكيا القولونية المعزولة من عينات أسماك المزارع وعددها 13 عزلة وبنسبة 72.2 % كانت *تمتلك* جين *Stx2* أما بالنسبة لعزلات عينات أسماك الأسواق المحلية وعددها 24 عزلة وبنسبة 85.7% كانت تمتلك جين *Stx2* ذو الوزن الجزيئي 589 زوج قاعدي .

وتم ايجاد مصدر التلوث بالاعتماد على تحليل بصمة تفاعل البلمرة المتسلسل التكرارى بين الجينات للجراثيم المعوية ERIC-PCR في كل عزلة، فقد أظهرت النتائج أن هناك تشابه بين العزلات وكان يتراوح بين 51-100%. وتم تقسيم عترات إلى 7 أنماط جينية بناءً على حد التشابه بنسبة 90% (من 1 إلى 7) ، أذ كانت العترات الأكثر انتشاراً ضمن النمط الجيني 1. كان النمط الجيني 1 بواقع 4 عترات. بعد ذلك تم تجميع سلالتين ضمن الأنماط الجينية وهي 3 و 5. في حين ان الانماط الجغرافية الجينية 2 و 4 و 6 و 7 تشتمل على عترة واحدة فقط . وفيما يتعلق بالاختلافات الوراثية في الموقع ، كان هناك تشتت نسيلي عالٍ لأكثر العترات الايشريكيا القولونية المعزولة 12/10 وبنسبة 83.3% في مواقع جغرافية مختلفة كما يتضح ذلك من تجميع العترات المختلفة جينيا من موقع جغرافي مختلف لنفس النمط الجيني وأيضاً تجميع العترات المختلفة جينيا من نفس الموقع الجغرافي إلى أنماط جينية مختلفة.

وأوضحت النتائج وجود تفاوت في مقاومة وحساسية الجرثومة للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة أذ كانت أعلى نسبة حساسية جراثيم الايشريكيا القولونية للمضاد الحيوي سايبروفلوكساسين وترايمثبريم وجنتأمايسين وبنسبة 96% ،94% ,86% على التوالي، في حين كانت أعلى مقاومة لجراثيم الايشريكيا القولونية للمضاد الحيوي سيفالوفين وتتراسيكلين والاموكسلين وبنسبة 100%، 64% ،62% على التوالي.

University of Mosul

College of Veterinary Medicine

# Prevalence, antimicrobial resistance and molecular characterization of *Escherichia coli* in fish farms and local markets in Mosul city

**Noor Abdul-Jabbar Younis Al-Taie**

**M.Sc. Thesis**

**Veterinary Public Health**

**Supervised by**

**Professor**

**Dr. Raad Abdulghany Basheer Alsanjary**

---

**2023 A.D** **1444 A.H.**

# Abstract

*Escherichia coli* bacteria cause many diseases transmitted through food to the consumer, especially food poisoning due to contamination of food products including fish and seafood. The aim of this study was to isolate *Escherichia coli* from fish available in local markets and fish farms in the Mosul city using modern methods. One Hundred fifty three fish samples were collected for the period between 1 Nov 2021 to 30 Jan 2022, including 75 fish samples from fish farms and 78 fish samples from local markets. The samples were placed in cool box and transferred to the laboratory of the Department of Veterinary Public Health / College of Veterinary Medicine / University of Mosul . Conventional methods and biochemical tests were performed on them, as well as molecular tests using polymerase chain reaction (PCR) technique to confirme the presence of *UidA* gene in the *Escherichia coli*. In addition the detection of bacteria-specific virulence factors responsible for the production of toxins and that cause food poisoning, including *Stx1* and *Stx2* genes. The source of contamination was determined based on the Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus Polymerase Chain Reaction (ERIC-PCR) analysis of intestinal bacteria. An antibiotic sensitivity test was also conducted to determine the sensitivity of the bacteria to the antibiotics used in the study.

The results of the study showed that the number of samples that gave a positive result for *E. coli* bacteria in local market was 28 samples 35.9%, while the number of fish that gave a positive result for *E. coli* bacteria in farmed fish was 18 positive samples 24%. As for the number of isolates that showed a positive result for *E. coli* with serotype O157:H7 in the traditional isolate from local market fish samples, it was 11 isolates 39.2%, while the isolates from farmed fish were 7 isolates 38.9%. Molecular characterization of the bacterium was carried out using PCR technique, where the results of the study showed that all isolates of *E. coli* that were isolated from fish samples, whether from local

markets or from fish farms, were positive and possessed, *uidA* gene with a molecular weight of 623 base pairs.

The results of our study investigating the presence of bacteria-specific virulence genes responsible for the production of toxins using the polymerase chain reaction pathogenic *E. coli* was isolated from farmed fish samples 16 isolates possessed the *Stx1* gene at a rate of 88.9%, while the isolates from the local market fish samples were 25 isolates possessed the *Stx1* gene at a rate of 89.3%, with a molecular weight of 347 base pairs. Further more the results of our study showed that 13 *E. coli* isolates from the farmed fish samples were posscssed *Stx2*gene with a percentage of 72.2%, while the 24 isolates of local market fish samples were possessed *Stx2* gene with a rate of 85.7%, molecular weight of 589 base pairs .

The relationship between isolation and deographical location was determined based on the ERIC-PCR fingerprint analysis between the genes in each isolates. The results showed that there are a similarity between the isolates and they ranged between 51-100 %. The strains were divided into 7 genotypes based on the 90% similarity limit (from 1 to 7), with high relationship between strain being the most prevalent within genotype1. Genotype 1 was the largest group containing 4 strain. Two strains were then grouped into genotypes 3 and 5. In contrast, genotype 2, 4, 6 and 7 included only one strain and with respect to genetic differences at the site,tenout of 12 isolate showed diversity. 83.3% diversity geographical locations as evidenced by the collection of genetically different strains from a different geographical location for the same genotype and also the collection of genetically different strains from the same geographical location into different genotypes.

The results showed a varity in the resistance and sensitivity of the *E. coli* to the antibiotics used in the study, where the highest percentage of sensitivity of *E. coli* to the antibiotic Ciprofloxacin, Trimethoprim and Gentamycin were

96%, 94%, 86%, respectively, while the highest percentage of resistance of *E.coli* was to the antibiotic Cephalothin , Tetracycline and Amoxicillin were 100%, 64% and 62%, respectively.