

University of Mosul
College of Veterinary Medicine



Epidemiological study of *Staphylococcus aureus* and the related virulence genes from chicken farms

Ramadhan Fatah Miro Abdel Rahman

MSc. / Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Public Health

Supervised by

Prof. Dr. Dhyaa Mohammad Taher Jwher

Abstract

Despite receiving great attention to the poultry industry in Iraq, it is still affected by various problems that have led to great economic losses. Including *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*), which causes invasive diseases such as arthritis and septicemia, as well as food poisoning in humans. This study aimed to assess the levels of biosecurity measures in poultry farms by evaluating the prevalence of *S. aureus* contamination in broiler farms, determination of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), provide epidemiological data regarding the overall occurrence of this microorganism in the chickens and its surrounding environment and detection of virulent gene of the isolates.

The study randomly targeted 26 broiler farms in the governorates of Duhok, Nineveh, and Erbil in northern Iraq. A questionnaire form was adopted to investigate the application of biosecurity procedures in poultry farms within the different study areas, for three main axes including: cleaning and disinfection, isolation, and monitoring, during the period from September 2024 to January 2025, It also collected (234), swabs and samples, including workers hand, chicken (skin), ventilator, feeder, water source, soil, bedding, grass and chicken feed, from each farm, and then transferred directly to the Scientific Research Laboratory at the College of Veterinary Medicine/University of Mosul for necessary bacteriological laboratory tests.

Traditional methods were used for isolation and identification of *S. aureus* including culture on differential media and biochemical tests. Chromogenic agar culture was used to diagnose MRSA, while molecular methods were used to detect the *nuc* gene to identify *S. aureus* and the *mecA* gene to identify MRSA. Pearson correlation test was used to find the relationship between the applied biosecurity measures and isolation rate.

The virulence factors *hlg*, *ebpS*, *fnbB* and *ica* genes were also investigated among MRSA isolates.

The isolation results of *S. aureus* showed that (101) samples out of (234) samples were positive, i.e. (43.16%) of the total samples included in the study (workers hand, chicken, ventilator, feeder and water, soil, bedding, grass and chicken feed). The highest isolation rate was from workers' hand, chicken at 53.85%, and the lowest isolation rate was from feeder and water at 34.61%, The highest prevalence rate of *S. aureus* was recorded among samples from different fields and from areas, from workers' hands and chickens at 13.86%, while the lowest prevalence rate was in the feeder and water samples at 8.91%.

The highest prevalence rates were recorded in Duhok Governorate, followed by Erbil and then Nineveh, at a rate of 50.50%, 37.62%, and 11.88%, respectively.

Regarding biosecurity measures, 19 categories were applied in No. 6 at the age of 7 days, representing 86.36% of the categories, and no isolation rate was recorded. In contrast, field No. 22, which is 40 days old, 5 categories were applied, representing 22.73%, and an isolation rate of 100% was recorded in the samples studied.

The results of MRSA isolation showed that 38 samples out of 101 samples of *S. aureus*, were positive, i.e. 37.62%

The highest prevalence rates of MRSA were recorded among the samples of different fields and from different areas, from the bedding and chicken at 23.68% and 18.42% respectively, while the lowest prevalence rates were in the Grass, Soil and Chicken feed samples at 2.63%, 5.26% and 5.26% respectively.

The study also revealed the presence of *fnbB*, *ica A*, *hlg*, and *ebp S* genes at rates of 63.2%, 57.9%, 60.5%, and 50%, respectively, of 38 MRSA isolates from different sources.

The high isolation rates of *S. aureus* and MRSA, along with their virulence genes, indicate their potentiality to cause infections that may be difficult to treat, and all components of the poultry environment under study are considered potential reservoirs.



جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

دراسة وبائية للمكورات العنقودية الذهبية مع جينات الضراوة ذات الصلة من حقول الدجاج

رمضان فتاح ميرو عبد الرحمن

رسالة ماجستير

في اختصاص الطب البيطري/ الصحة العامة البيطرية

بإشراف

الأستاذ الدكتور ضياء محمد طاهر جوهر

الخلاصة

على الرغم من الاهتمام الكبير الذي تحظى به صناعة الدواجن في العراق، إلا أنها لا تزال تعاني من مشاكل متعددة أدت إلى خسائر اقتصادية فادحة، من بينها المكورات العنقودية الذهبية، التي تسبب أمراضًا عديدة مثل التهاب المفاصل وتسمم الدم، بالإضافة إلى التسمم الغذائي لدى البشر. هدفت هذه الدراسة إلى تقييم مستويات تدابير الأمن الحيوي في مزارع الدواجن من خلال تقييم انتشار التلوث بالمكورات العنقودية الذهبية في حقول الدواجن اللاحم، وتحديد المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين، فضلا عن توفير بيانات وبائية حول انتشار هذه الكائنات الدقيقة في الدجاج وبيئتها المحيطة، بالإضافة إلى الكشف عن جينات الفوعة للعزلات الجرثومية. استهدفت الدراسة وبصورة عشوائية 26 مزرعة دجاج لحم في محافظات دهوك ونيوى وأربيل في شمال العراق. تم اعتماد استمارة استبيان للتحقق من تطبيق إجراءات الأمن الحيوي في مزارع الدواجن ضمن مناطق الدراسة المختلفة، لثلاثة محاور رئيسية شملت: التنظيف والتطهير، والعزل، والمراقبة، وذلك خلال الفترة من سبتمبر 2024 إلى يناير 2025، كما تم جمع 234 مسحة وعينة، شملت أيدي العمال وجلد الدجاج ومفرغات الهواء والمعالف ومصادر المياه والتربة والفرشة والعشب وأعلاف الدجاج، من كل مزرعة، ثم نقلت مباشرة إلى مختبر البحوث العلمية في كلية الطب البيطري / جامعة الموصل لإجراء الفحوصات المخبرية البكتريولوجية اللازمة.

استخدمت الطرق التقليدية لعزل وتحديد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية، بما في ذلك الزراعة على الأوساط الانتخابية والاختبارات الكيموحيوية. استخدم وسط الاكار الكروموجيني لتشخيص المكورات العنقودية المقاومة للميثيسيلين، بينما استخدمت الطرق الجزيئية للكشف عن جين *nuc* لتحديد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية وجين *mec A* لتحديد المكورات العنقودية المقاومة للميثيسيلين. استخدم اختبار ارتباط بيرسون لإيجاد العلاقة بين تطبيق إجراءات الأمن الحيوي ونسبة العزل لجراثيم المكورات العنقودية الذهبية. تم الكشف أيضًا عن جينات وعوامل الضراوة *hlg* و *ebpS* و *fnbB* و *ica* بين عزلات المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين (MRSA).

أظهرت نتائج عزل المكورات العنقودية الذهبية أن 101 عينة من أصل 234 عينة كانت إيجابية، أي بنسبة 43.16% من إجمالي العينات المشمولة في الدراسة (أيدي العمال، الدجاج، مفرغات الهواء، المعالف والماء، التربة، الفرشة، العشب، وأعلاف الدجاج). سُجِّلَت أعلى نسبة عزل من أيدي العمال والدجاج بنسبة 53.85%، وأقل نسبة عزل من المعالف والماء بنسبة

34.61%، وسُجِّلت أعلى نسبة انتشار للمكورات العنقودية الذهبية بين عينات من حقول ومناطق مختلفة من أيدي العمال والدجاج بنسبة 13,86%، بينما سُجِّلت أقل نسبة انتشار من المعالف والماء بنسبة 8,91%. سُجِّل أعلى معدل انتشار في محافظة دهوك، تلتها أربيل ثم نينوى، بنسبة 50.50%، و37.62%، و11.88%، على التوالي.

وفيما يتعلق بإجراءات الأمن الحيوي، سُجِّل تطبيق 19 فئة من إجراءات الامن الحيوي، أي ما نسبته 86.36%، في الحقل رقم 6 بعمر 7 أيام، بالمقابل كانت نسبة العزل 0%، على العكس من ذلك، في الحقل رقم 22 بعمر 40 يومًا وثُقَّ تطبيق 5 فئات من إجراءات الامن الحيوي، بنسبة 22.73%، وسجل نسبة عزل 100% في العينات المدروسة.

أظهرت نتائج عزل المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين أن 38 عينة من أصل 101 عينة من المكورات العنقودية الذهبية كانت إيجابية، أي بنسبة 37.62%. سُجِّلت أعلى نسبة انتشار للمكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين بين عينات من حقول ومناطق مختلفة من فرشة الدجاج والدجاج، بنسبة 23.68% و18.42%، على التوالي، بينما كانت أقل نسبة انتشار في عينات العشب والتربة وأعلاف الدجاج، بنسبة 2.63% و5.26% و5.26% على التوالي. كشفت الدراسة عن وجود جينات *ica A* و *hlg* و *ebp S* بنسبة 63.2% و57.9% و60.5% و50%، على التوالي، من أصل 38 عينة من المكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين ومن المصادر المختلفة.

تشير معدلات العزل العالية للمكورات العنقودية الذهبية والمكورات العنقودية الذهبية المقاومة للميثيسيلين، إلى جانب عوامل الضراوة الخاصة بها، إلى قدرتها على التسبب في عدوى قد يكون من الصعب علاجها، على اعتبار ان جميع مكونات بيئة الدواجن قيد الدراسة خزانات محتملة للجراثيم.