جامعة الموصل

كلية الطب البيطري

التشخيص الجزيئي لجراثيم الإشيريكيا القولونية المعزولة من حليب النعاج المرضعة وحملانها والبيئة المحيطة بها في بعض مناطق محافظة نينوى

أيمن هاني طه سليمان

رسالة ماجستير

الطب البيطري / الصحة العامة البيطرية

بإشراف

الاستاذ الدكتور

ضياء محمد طاهر جوهر

1444 هـ

2022 م

الخلاصة

أُجرِيَتْ الدِّراسة خلال المُدَّة من 2022/2/26 ولغاية 2022/4/26، أذ جمعت 400 عينة من خمسة مناطق مختلفة تمثل بعض مراكز وتجمعات الأغنام في محافظة نينوى شملت الكَصر والسَلّامِية والدرناج وكوكجلي والعبَّاسِية ولحقول بأنظمة تربية مختلفة (المفتوحة وشبه المغلقة والمغلقة). إذ جُمِعَتْ 50 عَيِّنَة لكل من الحليب والبراز والأعلاف الجافة والحشائش الخضراء من الحقول والماء و الأرضية و 50 مُسحَة لكل من أفواه الحملان الرضيعة وأيادي العاملين، وَوِضِعَتْ في حاوية مبردة ونُقِلَتْ الى مختبرات الصحة العامَّة البيطرية في كلية الطب البيطري في جامعة الموصل للكشف عن جراثيم الإشيريكيا القولونية. إذ أجريت عليها الفحوصات الجرثومية التقليدية من العزل والتصبيغ والإختبارات الكيميائية الحَيَوِيَّة، كما أُجرِيَتْ عليها الإختبارات الجزيئة بإستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction (PCR) بالإعتماد على جين *uidA*، فضلاً عن التحري الجزيئي لجينات سموم الشيكا *Stx1* و *Stx2*، وإجراء إختبار الحَسَّاسِية للمُضَادَّات الحَيَوِيَّة وإختبار إنتاج الغشاء الحيوي للعزلات الجرثومية من العينات المختلفة.

أوضَحَتْ نتائج الدراسة ان 253 عينة من مجموع العينات المختلفة الكلية البالغة 400 عينة أي بنسبة 63.3% كانت موجبة للعزل لجرثومة الإشيريكيا القولونية، وكانَتْ نتائج طريقة PCR مُطَابِقَة مع نتائج الطرائق التقليدية للكشف عن جراثيم الإشيريكيا القولونية. إذ بلغت نسب عزل جراثيم الإشيريكيا القولونية من عينات الحليب والبراز ومسحات الفم للحملان والاعلاف الجافة والحشائش الخضراء والماء والارضية وايادي العاملين من المناطق المختلفة، 36% و 100% و 54% و 48% 82% و 46% و98% و 42% على التوالي. وأظهَرَتْ نتائج الفحص الجزيئي للعزلات الجرثومية للإشيريكيا القولونية ظهور حُزَم على هُلام الأكاروز والتي تعود لجين *uidA* وبِوَزن جزيئي 623 زوج قاعدي. كما وأظهرت نتائج التحري الجزيئي عن جينات سموم الشيكا *Stx1* و *Stx2* أن جميع عزلات جراثيم الإشيريكيا القولونية من العينات المختلفة لحقول الأغنام والبيئة المحيطة بها تمتلك وبصورة متفاوتة الجينات الخاصة بسموم الشيكا 1 و 2 وبِوَزن جزيئي 347 و 589 زوج قاعدي على التوالي.

وبَيَّنَتْ نتائج فحص الحساسية للمُضَادَّات الحَيَوِيَّة وجود تفاوت في مقاومة وحساسية العزلات الجرثومية للإشريكيا القولونية، إذ بَلَغَتْ النسب المئوية لمقاومة العزلات للسيفالوثين والإريثرومايسين والأموكسيسيلين، 100% و 88% و 77% على التوالي، في حين كانت مقاومة العزلات الجرثومية للتيتراسايكلين والستريبتومايسين والترايميثوبريم بنسبة 54% و 46% و 33% على التوالي، بينما بلغت نسبة حسَّاسِية العزلات الجرثومية للإشيريكيا القولونية للجنتاميسين والسيفترياكسون والسيبروفلوكساسين

والسيفيكسيم والترايميثوبريم والكلورامفينيكول 94% و 85% و 81% و 75% و 67% و 65% على التوالي.

وأظَهَرَتْ نتائج إنتاج الأغشية الحيوية أنَّ 32 عزلة جرثومية من بين 48 عزلة أي بنسبة 66.7% كانت مُنتِجَة للغشاء الحيوي، أعلاها في البراز والحليب بنسبة 83.3% تليها الأرضية والماء ومسحات أيادي العاملين والمسحات الفمية للحملان بنسبة 66.7% ثم الأعلاف الجافة والحشائش الخضراء بنسبة 50%. تَوَزَعَتْ العزلات المنتجة للغشاء الحيوي بين 22 عزلة قوية الإنتاج و10 عزلة متوسطة الإنتاج أي بنسبة 45.8% و 20.8% على التوالي، كما أشَارَتْ النتائج إلى وجود ترابط بين نِسَب المُقَاوَمَة المُرتَفِعَة للمُضَادَّات الحَيَوِيَّة وإنتَاج الأغشِية الحَيَوِيَّة القَوِيَّة والمُتَوَسِطة في عزلات جراثيم الإشيريكيا القولونية.

University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Molecular detection of *Escherichia coli* isolated from the milk of lactating ewes, their lambs, and the surrounding environment in some regions of Nineveh province

Ayman Hani Taha Sulaiman

M.Sc. / Thesis

Veterinary Medicine / Veterinary Public Health

Supervised by

Prof. Dr. Diaa Mohammad Taher Jwher

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

Abstract

The study was conducted during the period from 26/2/2022 to 26/4/2022, where 400 samples were collected from five different regions representing some sheep-breeding and gathering centers in Nineveh governorate, including Al-Kasr, Al-Salamiya, Al-Dernaj, Gogjali and Al-Abbasiya, and for fields with different breeding systems (open, semi-closed and closed). Fifty samples were collected for each of milk, feces, dry feed, green grasses from the fields, water, and the floor, and 50 swabs for each of the mouths of suckling lambs and the worker's hands. They were placed in an ice container and transferred to the veterinary public health laboratories at the college of veterinary medicine in the university of Mosul for detection of *Escherichia coli*. Traditional bacteriological tests were performed on them, such as isolation, staining, and biochemical tests. Molecular assays were also carried out using Polymerase Chain Reaction (PCR) technique based on the *uidA* gene, as well as the molecular detection of the shiga toxins genes *Stx1* and *Stx2*, with performing an antibiotics sensitivity test and a biofilm production test for bacterial isolates from different samples.

The results of the study showed that 253 samples out of the total of 400 different samples, i.e., 63.3%, were positive for *E.coli* by the classical methods and confirmed by the molecular method. The percentages of isolating *E.coli* from milk samples, feces, lambs mouth swabs, dry feed, green grasses, water, the floor and the workers' hands from different regions were 36%, 100%, 54%, 48%, 82%, 46%, 98%, and 42% respectively. The results of the molecular assay of the bacterial isolates of *E.coli* showed that bands appeared on the agarose gel, which belongs to the *uidA* gene and has a molecular weight of 623 pb. The results of molecular detection of the *shiga* toxin genes *Stx1* and *Stx2* showed that all isolates of *E.coli* from different samples of sheep fields and the surrounding environment possess, in varying degrees, the specific genes of *Stx1* and *Stx2* with a molecular weight of 347 bp and 589 bp respectively.

The results of the antibiotics sensitivity test revealed a difference in the resistance and sensitivity of *E.coli* isolates, where the percentage of resistance of isolates to Cephalothin, Erythromycin, and Amoxicillin were 100%, 88%, and 77% respectively, while the resistance of bacterial isolates to Tetracycline, Streptomycin, and Trimethoprim were 54%, 46%, and 33% respectively, while the percentage of sensitivity of *E.coli* bacterial isolates to Gentamicin,

Ceftriaxone, Ciprofloxacin, Cefixime, Trimethoprim and Chloramphenicol were 94%, 85%, 81%, 75%, 67%, and 65% respectively.

The results of biofilms production showed that 32 bacterial isolates out of 48 isolates, i.e., 66%, were biofilm producers, the highest in feces and milk at a rate of 83.33%, followed by floor, water, workers' hands swabs, and lambs' mouth swabs by 66.66%, then dry feed and green grasses by 50%. The biofilm-producing isolates were distributed among 22 highly producer isolates and 10 medium- producer isolates, i.e., 45.8% and 20.8% respectively. The results also indicated that there was a correlation between the high rates of resistance to antibiotics and the production of strong and medium biofilms in *E.coli* isolates.