University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Molecular detection of enterotoxin genes (*sea, seb, sec, sed, see, tsst*) for *Staphylococcus aureus* isolated from restaurants

Azer Salar Saber Rashid

M. Sc. Degree

In Veterinary Medicine / Veterinary Public Health

Supervised by

Assist Prof.

Dr. Omar Hashim Sheet

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

Abstract

Staphylococcus (*S.*) *aureus* is regarded as one of the most important foodborne bacteria which becomes a significant public health concern due to its ability to produce a variety of potent toxins, notably staphylococcal enterotoxins (SEs) that can cause food poisoning in consumers. The present study aimed to first isolate and identifying of *S. aureus* in restaurants kitchen using the classical methods, secondly, detecting some of the genes encoding virulence factors and some of the staphylococcal enterotoxin gene using the PCR technique, and thirdly establish the relationship between the *S. aureus* isolates in the present study and the *S. aureus* isolates from different regions of the world based on the phylogenetic tree. A total of 350 samples of various type of equipment (knife, table, hand, and machine) and meat were collected from different areas in Erbil, Iraq's Kurdistan Region during the period between August and November 2024. All types of samples (knife, table, hand, machine, and meat) were collected in sanitary containers and sent immediately to the laboratory at the Department of Veterinary Public Health/College of Veterinary Medicine/Mosul University. *Staphylococcus aureus* was identified using classical methods and molecular biology methods (PCR assay). The results of this study showed that the prevalence of *S. aureus* isolated from restaurants in the Erbil governorate was 152(43.4%). The prevalence of *S. aureus* isolated streets at 30, 40, 60, and 100 – meter intervals was 38.8%, 50%, 48%, and 36.7%, respectively. Statistical analysis showed no significant difference between the types of samples at 30, 40, and 100 meters of the street (P-value > 0.05), but there was a significant difference in knives and meat (P-value < 0.05) in 60 meters of the street's samples. In addition, the results revealed that all *S. aureus* isolates (n=40) possessed all the genes in varying proportions except the *sed* and *see* genes, which were not detected in any of the *S. aureus* isolates. Furthermore, *S. aureus* isolates were divided into 16 distinct gene profiles based on the presence of specific genes in each isolate, and the most frequently observed gene profile was Profile VII (*nuc* + *clfA* + *clfB* + *coa* + *sea* + *sec*), which counted for 32.5%. Additionally, the NCBI GenBank contains *S. aureus*

sequences indexed under the following accession numbers: PQ766555, PQ766556, PQ766557, PQ766558, PQ766559, and PQ766560. Based on the phylogenetic tree, *S. aureus* isolates of this study showed a close relationship with *S. aureus* isolated from various countries (Germany, Burkina Faso, Kazakhastan). This study concluded the widespread contamination of *S. aureus* in the working environment inside these restaurants. Additionally, *S. aureus* possessed the enterotoxin genes such as *sea, seb, sec*, and *tsst* genes.

جامعة الموصل
كلية الطب البيطري

الكشف الجزيئي لجينات السموم المعوية (sea, seb, sec, sed, see, tsst) لجراثيم المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من المطاعم

ئازەر سالار صابر رشيد

رسالة ماجستير
الطب البيطري / الصحة العامة البيطرية

بإشراف
الأستاذ المساعد الدكتور
عمر هاشم شيت

١٤٤٧هـ ٢٠٢٥م

الخلاصة

تعُد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية من أهم أنواع الجراثيم التي تنتقل عبر الغذاء، والتي تشُكل مصدر قلق كبير على الصحة العامة نظرًا لقدرتها على إنتاج مجموعة متنوعة من السموم القوية، ولا سيما السموم المعوية العنقودية (SEs) التي يمكن أن تسُبب التسمم الغذائي للمستهلكين. هدفت هذه الدراسة إلى عزل وتحديد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية من مطابخ المطاعم باستخدام الطرق التقليدية، والكشف عن بعض الجينات المُشفرة لعوامل الضراوة وبعض السموم المعوية العنقودية باستخدام تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)، اضافة الى إيجاد العلاقة بين عزلات جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في هذه الدراسة مع عزلات جراثيم المكورات العنقودية الذهبية من مناطق مختلفة من العالم بناءً على شجرة النشوء والتطور. جُمعت ثلاثمائة وخمسون عينة من أنواع مختلفة)السكاكين، واللحوم، والمناضد، وايدي العمال، ومكائن الفرم(من مناطق مختلفة في أربيل، إقليم كردستان العراق. بدأت الدراسة في أغسطس 2024 وانتهت في نوفمبر 2024. جُمعت جميع أنواع العينات)السكين، والمناضد، وايدي العمال، ومكائن الفرم(في حاويات معقمة وأرُسلت فورًا إلى مختبر قسم الصحة العامة البيطرية/كلية الطب البيطري/جامعة الموصل. تم تحديد جراثيم المكورات العنقودية الذهبية باستخدام الطرق التقليدية وطرق البيولوجيا الجزيئية)اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل(. أظهرت نتائج هذه الدراسة أن نسبة انتشار جراثيم المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من المطاعم في محافظة أربيل بلغت 4.43%. وبلغت نسبة انتشار المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من شوارع 30 و40 و60 و100 متر 8.38% و50% و48% و7.36% على التوالي. أظهر التحليل الإحصائي عدم وجود فرق كبير في عزل جراثيم المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من أنواع العينات في 30 و40 و100 متر من الشارع)القيمة الاحتمالية < 0.05(، ولكن كان هناك فرق كبير بين السكاكين واللحوم)القيمة الاحتمالية < 0.05(في 60 مترًا من الشارع.

بالإضافة إلى ذلك، وجدت النتائج أن جميع جراثيم المكورات العنقودية الذهبية)40 عزلة(تمتلك جميع الجينات بنسب مختلفة باستثناء جينات *sed* و *see* لم يتم اكتشافها في أي من عزلات جراثيم المكورات العنقودية الذهبية . علاوة على ذلك ،تمتلك جراثيم المكورات العنقودية الذهبية إلى 16 ملفاً جينياً مميزًا بناءً على وجود جينات محددة في كل عزلة وكان ملف الجين الأكثر ملاحظة هو الملف السابع (*nuc + clfA + clfB + coa + sea + sec*) وبنسبة 5.32٪. بالإضافة إلى ذلك ،تم تسجيل ستة عزلات من جراثيم المكورات العنقودية الذهبية في بنك جينات (NCBI) تحت تسلسلات جراثيم المكورات العنقودية الذهبية المفهرسة بأرقام الوصول التالية PQ766556، : PQ766555، PQ766559، PQ766558،PQ766557، و .PQ766560. واستناداً إلى شجرة النشوء والتطور، أظهرت عزلات المكورات العنقودية الذهبية في هذه الدراسة علاقة وثيقة مع المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من دول مختلفة. وخلصت هذه الدراسة إلى انتشار واسع النطاق لتلوث المكورات العنقودية الذهبية في بيئة العمل داخل هذه المطاعم. بالإضافة إلى ذلك، تمتلك المكورات العنقودية الذهبية جينات السموم المعوية مثل جينات *sea* و *seb* و *sec* و*tst*، وتحتوي عزلات المكورات العنقودية الذهبية على ستة عشر ملفاً جينياً يشير إلى التنوع الجيني في العزلات.