



جامعة الموصل  
كلية الطب البيطري

الكشف عن بعض الجينات الممرضة للنمط المصلي  
O157:H7 لجراثيم الاشريكيا القولونية المعزولة من لحوم  
العجول ومحلات القصابة في مدينة الموصل

شاكر محمود عثمان عبدالله البياتي  
رسالة ماجستير  
الطب البيطري / الصحة العامة البيطرية

بإشراف  
الأستاذ المساعد  
الدكتور عمر هاشم شيت

الكشف عن بعض الجينات الممرضة للنمط المصلي  
O157:H7 لجراثيم الاشريكيا القولونية المعزولة من لحوم  
العجول ومحلات القصابة في مدينة الموصل

رسالة تقدم بها

شاكر محمود عثمان عبدالله البياتي

إلى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل  
وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير  
في اختصاص الطب البيطري / الصحة العامة البيطرية

بإشراف

الأستاذ المساعد

الدكتور عمر هاشم شيت

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فَنَعَلَى اللَّهِ الْمَلِكُ الْحَقُّ وَلَا تَعْجَلْ بِالْقُرْآنِ مِنْ قَبْلِ أَنْ يُقْضَىٰ  
إِلَيْكَ وَحْيُهُ وَقُلْ رَبِّ زِدْنِي عِلْمًا ﴿١١٤﴾

صَدَقَ اللَّهُ الْعَظِيمُ

سورة طه: الآية (١١٤)

## الإهداء

- إلى والدي ووالدتي عرفانا بعبائهما وجميلهما.
- إلى زوجتي وبنائي نجوم سمائي.
- إلى من كان معي قلبا وقالبا أخي الدكتور احمد اعتزازا
- إلى ذكري وذخيرتي اخوتي واخواتي.
- وإلى كل من كان له بصمة خير وإيجابية في حياتي.

أهدي جهدي هذا

شاكر محمود عثمان

## شكر وتقدير

بدءاً: اشكر الله سبحانه وتعالى على ان ألهمني الطموح وسدد خطاي.

وانتقدم بالشكر الجزيل الى عمادة كلية الطب البيطري المتمثلة بالسيد العميد وانتقدم بجزيل الشكر الى وزارة

الزراعة / اقليم كردستان على اتاحة الفرصة لي لإكمال دراستي للماجستير.

وأنتقدم بآيات الشكر والعرفان للدكتور **عمر هاشم شيت** لاقتراحه موضوع ومفردات خطة البحث

وتوجيهاته السديدة ودعمه العلمي والمعنوي وإشرافه على هذا العمل ولم يبخل بجهد أو نصيحة وكان مثلاً

للعالم المثابر ادامه الله. كما واشكر الكادر التدريسي في فرع الصحة لأبدائهم الكثير من الدعم والنصح

حول كيفية انجاز البحث.

واخيرا اتوجه بالشكر والامتنان الى جميع طلبة الدراسات العليا ولكل من أعانني بكلمة او فعل فجزاهم الله

خير الجزاء.

شاكر محمود عثمان

## إقرار المشرف

أشهد أن إعداد هذه الرسالة قد جرى تحت إشرافي في جامعة الموصل وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص الصحة العامة البيطرية.

التوقيع:

المشرف: أ.م.د. عمر هاشم شيت

التاريخ:

## إقرار المقوم اللغوي

أشهد أن هذه الرسالة الموسومة (الكشف عن بعض الجينات الممرضة في جراثيم الإشريكية القولونية المعزولة من لحوم العجول في مدينة الموصل) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية وبذلك أصبحت مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر بسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د. أحمد محمد علي رحيم

التاريخ:

## إقرار رئيس فرع الصحة العامة البيطرية

بناءً على التوصيتين المقدمتين من المشرف والمقوم اللغوي أشرح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د. ضياء محمد طاهر جوهر

التاريخ:

## إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات التي تقدم بها المشرف والمقوم اللغوي ورئيس فرع الصحة العامة البيطرية أشرح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: أ.م.د. رعد عبد الغني السنجري

التاريخ:

## إقرار لجنة المناقشة

نشهد باننا اعضاء لجنة التقويم والمناقشة قد اطلعنا على هذه الرسالة وناقشنا الطالب في محتوياتها وفيما له علاقة بها بتاريخ / / ٢٠٢٢م وانه جدير لنيل شهادة الماجستير في اختصاص الصحة العامة البيطرية.

عضو لجنة المناقشة	عضو لجنة المناقشة
أ.م. د. زانان محمد امين طه	أ. د. ضياء محمد طاهر جوهر
التاريخ: / / ٢٠٢٢	التاريخ: / / ٢٠٢٢
عضو لجنة المناقشة (المشرف)	رئيس لجنة المناقشة
أ.م. د. عمر هاشم شيت	أ. د. رعد عبدالغني بشير
التاريخ: / / ٢٠٢٢	التاريخ: / / ٢٠٢٢

## قرار مجلس الكلية

اجتمع مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل وبجلسته ( والمنعقدة بتاريخ:

/ / ٢٠٢٢ م وقرر منحه شهادة الماجستير في اختصاص الصحة العامة البيطرية وبتقدير

عميد الكلية	مقرر مجلس الكلية
أ.د. ظافر محمد عزيز	أ.د. رعد عبد الغني السنجري
التاريخ: / / ٢٠٢٢	التاريخ: / / ٢٠٢٢

## الخلاصة

يؤثر تلوث اللحوم بجراثيم الإشريكية القولونية على جودته لأنها تمتلك العديد من عوامل الضراوة ومن أهمها (سموم الشيكات) التي تسبب التسمم الغذائي ومن المحتمل ان تؤدي الى موت الإنسان. هدفت هذه الدراسة إلى عزل جراثيم الإشريكية القولونية والكشف عن الجينات *uidA* و *Stx1* و *Stx2* وكذلك تحديد النمط المصلي O157: H7 المعزولة من لحوم العجول ومحلات القصابة في مدينة الموصل.

جمعت (٥٠٤) عينة مختلفة من اللحوم ومحلات القصابة من مناطق مختلفة من مدينة الموصل شملت العينات (لحوم العجول ومسحات من السكاكين والكلاب وايدي القصابين ومكائن الفرم والمناضد) بواقع ٨٤ عينة لكل نوع من العينات. جمعت العينات بواسطة مسحات وعلب معقمة ونقلت مباشرة الى مختبرات الصحة العامة البيطرية في كلية الطب البيطري/جامعة الموصل، زرعت العينات على الأوساط التقليدية الانتقائية والتفريقية لغرض عزل وتشخيص جراثيم الإشريكية القولونية واجريت اختبارات الكيموحيوية على جراثيم الإشريكية القولونية مثل الأوكسيديز والكاتاليز واختبار ثلاثي السكر والحديد واختبار الاندول والمثيل الأحمر واختبار فوكس بروسكاور واختبار استهلاك السترات. فضلاً عن ذلك تم استخدام طريقة البيولوجيا الجزيئية حيث استخدمت تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل بالاعتماد على الحامض النووي الريبوزي منقوص الاوكسجين للتأكد من النتائج التي تم الحصول عليها من الطرق التقليدية.

أظهرت نتائج هذه الدراسة نمو جراثيم الإشريكية القولونية على وسط الأيوسين مثيلين الأزرق حيث نمت مستعمرات الإشريكية القولونية ذات لون اخضر لامع تسمى ظاهرة البريق المعدني (Metallic Sheen) بينما زرعت الجراثيم المعزولة على وسط الماكونكي (كاختبار تأكيدي) وكانت مستعمرات جراثيم الإشريكية القولونية ذات لون وردي وزرعت جراثيم الإشريكية القولونية على وسط الكروم الخاص بالنمط المصلي O157:H7 لتحديد هذا النمط المصلي من بين عزلات جراثيم الإشريكية القولونية حيث ظهرت المستعمرات على هذا الوسط بلون بنفسجي فاتح. وأخيراً تم صبغ جراثيم الإشريكية القولونية بصبغة كرام إذ ظهرت تحت المجهر على شكل عصيات سالبة الكرام.

أظهرت نتائج الدراسة بان نسبة العزل لجراثيم الإشريكية القولونية كانت 27.4% (١٣٨/٥٠٤) ونسبة عزل النمط المصلي O157:H7 كانت ٩.٤% (١٣٨/١٣) وقد توافقت جميع هذه النتائج مع اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل للكشف عن الجين الخاص بجرثومة الإشريكية القولونية *uidA* حيث كانت النسبة ١٠٠% (١٣٨/١٣٨). فضلاً عن ذلك أظهرت نتائج الدراسة بان عوامل الفوعة لجين *Stx1* تم تحديده في بعض من جراثيم الإشريكية القولونية وبنسبة ٢١.٧% (١٣٨/٣٠) بينما تم تحديد جين *Stx2* وفي بعض من جراثيم الإشريكية القولونية وبنسبة ١٢.٣% (١٣٨/١٧) فضلاً عن ذلك فقد

أظهرت النتائج بان أعلى نسبة تحديد جينات *Stx1* و *Stx2* معا في جراثيم الاشريكية القولونية كانت ٦٦% (١٣٨/٩١). علاوة على ذلك تم تحديد جين *uidA* في النمط المصلي O157:H7 وبنسبة ١٠٠% و جين *Stx1* وبنسبة ٩٢.٣% و أخيرا جين *Stx2* وبنسبة ١٠٠%. وتمت دراسة مدى تأثير المضادات الحيوية على العزلات المستخدمة في الدراسة بإجراء اختبار حساسية لاثني عشر نوعا من المضادات الحيوية حيث اشتملت على (التتراسيكلين والايثرثروميسين والجنتاميسين والكلورامفينيكول والأموكسيسيلين وسيبروفلوكساسين و نتروفورانتونين وسيفالوثين وسيفكسيم و تريميثوبريم وسيفترياكسون وستربتومايسين). كانت نتيجة هذه الفحوصات لبكتريا *E. Coli* المتعايشة ١٠٠% و ٩٤% و ٨٠% لمقاومة البكتريا للمضادات الحيوية التالية (سيفالوثين و إريثروميسين و أموكسيسيلين) ، بينما كانت حساسية البكتريا للمضادات الحيوية ١٠٠% ل (جنتاميسين و سيبروفلوكساسين). و ٩٦% إلى تريميثوبريم و ٩٠% إلى (سيفكسيم و سيفترياكسون). نتيجة هذه الاختبارات لـ *E. Coli* O157: H7 كانت ١٠٠% للحساسية البكتيرية للمضادات الحيوية التالية (سيبروفلوكساسين و سيفكسيم و الكلورامفينيكول و تريميثوبريم و الجنتاميسين و سيفترياكسون وستربتومايسين). بينما كانت مقاومة البكتريا للمضادات الحيوية ١٠٠% لكل من (الايثرثروميسين و سيفالوثين و أموكسيسيلين).

## ثبت المحتويات

الصفحة	العنوان
أ - ب	الخلاصة
ج - ط	ثبت المحتويات
ط - ي	ثبت الجداول
ك - م	ثبت الأشكال
م - س	ثبت المصطلحات والمختصرات
٣_١	الفصل الأول: المقدمة
38_٤	الفصل الثاني: استعراض المراجع
٤	١-٢: نبذة تاريخية
٥	٢-٢: العائلة المعوية <i>Enterobacteriaceae</i>
٦	٢-٣: تصنيف جراثيم الأشريكية القولونية
٧	٢-٤: جراثيم الأشريكية القولونية
٧	٢-٥: الصفات العامة لجراثيم الأشريكية القولونية
٨	٢-٦: الخصائص الكيموحيوية والصفات المظهرية لجراثيم الأشريكية القولونية
٩	٢-٧: التركيب المستضد لجراثيم الأشريكية القولونية
١٠	٢-٨: أهمية جراثيم الأشريكية القولونية
١٠	٢-٩: تواجد جراثيم الأشريكية القولونية
١١	٢-١٠: تصنيف جراثيم الأشريكية القولونية
١١	٢-١٠-١: جراثيم الأشريكية القولونية الغازية للأمعاء EIEC
١٢	٢-١٠-٢: جراثيم الأشريكية القولونية المعوية الممرضة EPEC

الصفحة	العنوان
١٣	٢-١٠-٣: جراثيم الاشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي ETEC
١٤	٢-١٠-٤: جراثيم الاشريكية القولونية المعوية التكتلية EAEC
١٥	٢-١٠-٥: جراثيم الاشريكية القولونية المسببة للإنتان الدموي SEPEC
١٥	٢-١٠-٦: جراثيم الاشريكية القولونية المعوية النزفية EHEC
١٦	٢-١١: خصائص النمط المصلي O157:H7
١٧	٢-١٢: عوامل الضراوة Virulent factors
١٨	٢-١٢-١: عوامل ضراوة الالتصاق والاستعمار Adhesion and Colonization Virulence Factors
١٩	٢-١٢-٢: المحفظة Capsule
١٩	٢-١٢-٣: السموم Toxins
٢٠	٢-١٢-٤: نظام إفراز النوع الثالث Type 3 Secretion System T3SS
٢١	٢-١٢-٥: السيكلومودولين Cyclomodulins
٢٢	٢-١٢-٦: حاملات الحديد Siderophores
٢٣	٢-١٢-٧: جدار الخلية Cell Wall
٢٣	٢-١٣: سموم الشيكات Shiga Toxin
٢٣	٢-١٣-١: التسمية
٢٥	٢-١٣-٢: تركيب سموم الشيكات Shiga Toxin
٢٦	٢-١٣-٣: آلية عمل سموم الشيكات
٢٦	2-13-4: آلية حدوث الإسهال بسبب الذيفانات Mechanism of Inducing Diarrhea by Toxins
٢٧	٢-١٤: الخصائص الوبائية للإشريكية القولونية

الصفحة	العنوان
٢٨	٢-١٤-١: مصادر جراثيم الإشريكية القولونية في اللحوم
٣٠	٢-١٤-٢: تلوث ايدي القصابين بجراثيم الإشريكية القولونية
٣١	٢-١٤-٣: تلوث مكائن فرم اللحم بجراثيم الإشريكية القولونية
٣٢	٢-١٤-٤: تلوث المناضد بجراثيم الإشريكية القولونية
٣٣	٢-١٤-٥: تلوث السكاكين بجراثيم الإشريكية القولونية
٣٣	٢-١٤-٦: تلوث الكلابيب بجراثيم الإشريكية القولونية
٣٣	٢-١٥: تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction
٣٤	٢-١٦: إختبار الحساسية Sensitivity test
٣٥	٢-١٦-١: أساليب اختبار حساسية المضادات الحيوية
٦٠-٣٩	الفصل الثالث: المواد وطرائق العمل
٣٩	٣-١: المواد Materials
٣٩	٣-١-١: الاجهزة والادوات المستخدمة في الدراسة
٤١	٣-١-٢: المواد الكيميائية والكواشف والمحاليل والصبغات
٤٢	٣-١-٣: الاوساط الزرعية والكيموحيوية
42	٣-١-٤: العدد المختبرية الجاهزة Commercial Laboratory Kits
43	٣-٢-٤-٥-٤: البادئات
43	٣-٢-٤-٥-٥: تحضير مكونات مزيج تفاعل البلمرة
46	٣-٢: طرائق العمل
46	٣-٢-١: التعقيم
46	٣-٢-١-١: تعقيم الأوساط الزرعية والأوساط المغذية والمحاليل
46	٣-٢-١-٢: التعقيم بالترشيح

الصفحة	العنوان
46	٣-٢-١-٣: التعقيم بالتلهيب المباشر
46	٣-٢-١-٤: التعقيم بالمحاليل
46	٣-٢-١-٥: التعقيم بالأشعة فوق البنفسجية (UV rays)
47	٣-٢-٢: تحضير الأوساط الزرعية
47	٣-٢-٢-١: تحضير وسط الايوسين مثيلين الازرق
47	٣-٢-٢-٢: تحضير وسط الماكونكي
47	٣-٢-٢-٣: تحضير وسط المتالق أكار
47	٣-٢-٢-٤: تحضير وسط الكروم أكار
48	٣-٢-٢-٥: تحضير وسط مولر هنتون
48	٣-٢-٢-٦: تحضير وسط اختبار إنتاج الاندول
48	٣-٢-٢-٧: تحضير وسط المثيل الاحمر
48	٣-٢-٢-٨: تحضير وسط فوكس- بروسكاور
49	٣-٢-٢-٩: تحضير وسط استهلاك السترات
49	٣-٢-٢-١٠: تحضير وسط الحديد والسكر الثلاثي
49	٣-٢-٣: تحضير الكواشف والمحاليل
49	٣-٢-٣-١: تحضير كاشف اختبار الأوكسديز
49	٣-٢-٣-٢: تحضير كاشف اختبار الكتاليز
50	٣-٢-٣-٣: تحضير كاشف كوفاكس
50	٣-٢-٤: عزل الجراثيم
50	٣-٢-٤-١: جمع العينات
50	٣-٢-٤-٢: التعامل مع العينات

الصفحة	العنوان
50	٣-٤-٢-٣: التشخيص المزرعي
51	٣-٤-٢-٣-١: الزرع على وسط الأيوسين مثيلين الأزرق
51	٣-٤-٢-٣-٢: الزرع على وسك الماكونكي
51	٣-٤-٢-٣-٣: الزرع على وسط المتالق
51	٣-٤-٢-٣-٤: الزرع على وسط الكروم
51	٣-٤-٢-٣-٥: الزرع على وسط مولر هنتون
52	٣-٤-٢-٣-٤: التشخيص الكيموحيوي
52	٣-٤-٢-٣-١: إختبار الأوكسيدز
52	٣-٤-٢-٣-٢: إختبار الكتاليز
53	٣-٤-٢-٣-٣: إختبار الإندول
53	٣-٤-٢-٣-٤: إختبار المثيل الأحمر
53	٣-٤-٢-٣-٥: إختبار الفوكس بروسكاور
54	٣-٤-٢-٣-٦: إختبار استهلاك السترات
54	٣-٤-٢-٣-٧: إختبار وسط ثلاثي سكر الحديد
54	٣-٤-٢-٣-٥: التشخيص البايولوجي الجزيئي
54	٣-٤-٢-٣-٥-١: الخصائص الجزيئية لجراثيم الاشريشيا القولونية
55	٣-٤-٢-٣-٥-٢: إستخلاص الحامض النووي DNA
57	٣-٤-٢-٣-٥-٣: قياس نقاوة وتركيز الحامض النووي
58	٣-٤-٢-٣-٥-٦: تحضير هلام الاكاروز
59	٣-٤-٢-٣-٥-٧: الترحيل الكهربائي بالهلام
56	٣-٤-٢-٣-٦: إختبار الحساسية للمضادات الحيوية

الصفحة	العنوان
٦٠	٣-٢-٤-٧: حفظ وإدامة العزلات البكتيرية
٦٠	٣-٢-٤-٧-١: الحفظ قصير المدى
٦٠	٣-٢-٤-٧-٢: الحفظ طويل المدى
٦٠	٣-٢-٤-٨: التحليل الاحصائي Statistical Analysis
77-61	الفصل الرابع: النتائج
61	٤-١: عزل جراثيم الإشريكية القولونية
64	٤-٢: عزل النمط المصلي O157: H7
64	٤-٣: التشخيص المظهري Morphological Identification
65	٤-٣-١: العزل الجرثومي لجراثيم الإشريكية القولونية باستخدام وسط الأيوسين المثلين الأزرق
66	٤-٣-٢: العزل الجرثومي لجراثيم الإشريكية القولونية باستخدام وسط الماكونكي
66	٤-٣-٣: النمو الجرثومي على الوسط اللماع الانتخابي للإشريكية القولونية
67	٤-٣-٤: النمو الجرثومي على الوسط الكروم Chromogenic <i>E. coli</i> O157:H7 agar
67	٤-٤: التشخيص الكيموحيوي Biochemical Identification
70	٤-٦: التشخيص الجزيئي لجرثومة الإشريكية Molecular identification القولونية
70	٤-٦-١: الكشف عن جينات <i>uidA</i> و <i>Stx1</i> و <i>Stx2</i> في جراثيم الإشريكية القولونية
73	٤-٦-٢: الكشف عن جينات <i>uidA</i> و <i>Stx1</i> و <i>Stx2</i> في النمط المصلي O157:H7
74	٤-٧: اختبار فحص الحساسية لجراثيم إشريكية القولونية
74	٤-٧-١: اختبار فحص الحساسية لـ Commensal <i>E. coli</i>
75	٤-٧-٢: اختبار فحص الحساسية لـ O157:H7 <i>E. coli</i>

الصفحة	العنوان
78	٥: الفصل الخامس: المناقشة
89-88	٦: الفصل السادس: الاستنتاجات والتوصيات
88	٦-١: الاستنتاجات
89	٦-٢: التوصيات
١٢٦-٩٠	ثبت المصادر
١٢٦-٩٠	المصادر الأجنبية
b-a	الخلاصة باللغة الإنكليزية

### ثبت الجداول

الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
9	خصائص نمو جراثيم الإشريكية القولونية على الأوساط الزرعية	١-٢
25	الخصائص الفيزيائية والكيميائية لـ <i>Stx</i> و <i>Stx1</i> و <i>Stx2</i>	٢-٢
29	التركيب الكيميائي للحوم لحيوانات بالغة نموذجية بعد الصمّل الرمي	٣-٢
39	الأجهزة والادوات المستخدمة في الدراسة	١-٣
41	المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة في الدراسة	٢-٣
42	الأوساط الزرعية والكيموحيوية	٣-٣
43	مكونات مزيج التفاعل البلمرة المتسلسل	٤-٣
43	البادئات وتسلسلها وحجم الناتج	٥-٣
44	العدة المستخدمة لاستخلاص الـ DNA والعدة المستخدمة في مزيج تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR).	٦-٣

الصفحة	عنوان الجدول	رقم الجدول
45	أنواع المضادات الحيوية	7-3
57	برنامج طريقة التفاعل البلمرة المتسلسل الخاص بتشخيص جين <i>uidA</i>	8-3
58	برنامج طريقة التفاعل البلمرة المتسلسل لخاص بتشخيص جين <i>Stx1</i> و <i>Stx2</i>	9-3
62	عدد العينات ونسب العزل لجراثيم الاشريكية القولونية المعزولة	1-4
63	نسب عزل الاشريكية القولونية من اللحوم ومحلات القصابة لجانبي مدينة الموصل الأيمن والايسر	2-4
64	عدد ونسبة عزل النمط المصلي O157:H7 من اللحوم ومحلات القصابة	3-4
71	تحديد جينات <i>uidA</i> و <i>Stx1</i> و <i>Stx2</i> في جراثيم الاشريكية القولونية	4-4
73	تحديد جينات <i>uidA</i> و <i>Stx1</i> و <i>Stx2</i> في النمط المصلي O157:H7	5-4
76	نسب مقاومة وحساسية لجراثيم الاشريكية القولونية للمضادات الحيوية	6-4
77	نسب مقاومة وحساسية للنمط المصلي O157:H7 للمضادات الحيوية	7-4

## ثبت الاشكال

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
4	عدد المنشورات في الموقع PubMed عن مصطلح البحث " <i>Escherichia coli</i> " في الإطار الزمني من ١ يناير ١٩٣٢ إلى ٣١ ديسمبر ٢٠١٨	١-٢
6	أفراد العائلة المعوية	٢-٢
11	أنواع الإشريكية القولونية	٣-٢
12	مراحل الإصابة بجراثيم الإشريكية القولونية الغازية (EIEC)	٤-٢
13	امراضية جراثيم الإشريكية القولونية الممرضة (EPEC)	٥-٢
14	الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي (ETEC)	٦-٢
14	امراضية جراثيم الإشريكية القولونية التكتلية (EAEC)	٧-٢
16	امراضية جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية (EHEC)	٨-٢
18	عوامل الضراوة في جراثيم الإشريكية القولونية	٩-٢
21	تركيب نظام إفراز النوع الثالث T3SS	١٠-٢
22	فعالية Siderophores باتحادها مع ايونات الحديد وادخالها الى داخل الخلية الجرثومية	١١-٢
26	الية عمل سموم الشيكات Shiga Toxin	١٢-٢
27	حدوث الإسهال بسبب الذيفانات المعوية	١٣-٢
29	استهلاك اللحوم (مليون طن متري) في مناطق مختلفة من العالم	١٤-٢
35	طريقة الانتشار لفحص الحساسية	١٦-٢
36	طريقة التخفيف لفحص الحساسية	١٧-٢
37	اختبار Epsilonmeter (E test)	١٨-٢
38	طرق AST الوراثية	١٩-٢

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
62	نسب العزل لجراثيم الإشريكية القولونية في هذه الدراسة	١-٤
63	مقارنة بين نسب عزل جراثيم الإشريكية القولونية من لحوم العجول ومحلات القصابة لجانبى مدينة الموصل	٢-٤
65	نسب عزل النمط المصلي O157:H7 في لحوم العجول ومحلات القصابة في مدينة الموصل	٣-٤
65	نمو جراثيم الإشريكية القولونية على وسط EMB	٤-٤
66	نمو جراثيم الإشريكية القولونية على وسط الماكونكي	٥-٤
66	وسط Brilliance <i>E. coli</i> /coliform المستخدم للكشف عن مستعمرات جراثيم الإشريكية القولونية	٦-٤
67	نمو النمط المصلي O157:H7 على وسط Chromogenic <i>E. coli</i> O157:H7 agar	٧-٤
67	نمو <i>E. coli</i> O157:H7 و Non- <i>E. coli</i> O157:H7 على وسط Chromogenic <i>E. coli</i> O157:H7	٨-٤
68	اختبار Indole المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية	٩-٤
68	اختبار Methyl Red المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية	١٠-٤
69	اختبار Citrate utilization المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية	١١-٤
69	اختبار فوكس بروسكاور للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية	١٢-٤
69	اختبار Oxidase test المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية	١٣-٤
70	اختبار Triple Sugar Iron المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية	١٤-٤
70	اختبار Catalase test المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية	١٥-٤
72	اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل يحدد الوزن الجزيئي للجين <i>uidA</i> ذات الوزن	١٦-٤

الصفحة	عنوان الشكل	رقم الشكل
	الجزئي 623 bp لجراثيم الاشريكية القولونية الموجبة	
73	اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل يحدد الوزن الجزيئي للجين <i>Stx1</i> ذات الوزن الجزيئي 347 bp لجراثيم الاشريكية القولونية الموجبة	١٧-٤
74	اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل يحدد الوزن الجزيئي للجين <i>Stx2</i> ذات الوزن الجزيئي 592 bp لجراثيم الاشريكية القولونية الموجبة	١٨-٤
74	اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل يحدد الوزن الجزيئي للجين <i>uidA</i> ذات الوزن الجزيئي 623 bp لجراثيم الاشريكية القولونية الموجبة نوع O157:H7	١٩-٤
75	اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل يحدد الوزن الجزيئي للجين <i>Stx1</i> ذات الوزن الجزيئي 347 bp لجراثيم الاشريكية القولونية الموجبة نوع O157:H7	٢٠-٤
75	اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل يحدد الوزن الجزيئي للجين <i>Stx2</i> ذات الوزن الجزيئي 347 bp لجراثيم الاشريكية القولونية الموجبة نوع O157:H7	٢١-٤

### ثبت المصطلحات والمختصرات

الاختصار	المصطلحات
<b>K Antigen</b>	Capsular Antigen
<b>O Antigen</b>	Somatic Antigen
<b>APC</b>	Aerobic Plate Count
<b>AST</b>	Antimicrobial susceptibility testing
<b>ATP</b>	Adenosine TriPhosphate
<b><i>bfp</i></b>	Bundle forming pilus
<b>cAMP</b>	Cyclic Adenosine Monophosphate
<b>CC</b>	Coliform Count

الاختصار	المصطلحات
<b>CDC</b>	Centers for Disease Control and Prevention
<b>CDT</b>	Cytolethal distending toxin
<b>CFTR</b>	Cystic Fibrosis Transmembrane
<b>CFU</b>	Colony Forming Unit
<b>Cif</b>	Cycle inhibiting factor
<b>Cnf</b>	Cytotoxic necrotizing factor
<b>ddH<sub>2</sub>O</b>	Double distal water
<i>eae</i>	Intimine
<b>Gb3</b>	Globotriaosylceramide
<b>GTPases</b>	hydrolase enzymes of nucleotide guanosine triphosphate
<b>H Antigen</b>	Flagellar Antigen
<b>HC</b>	Hemorrhagic colitis
<b>HEp-2</b>	cell line contains HeLa marker chromosomes
<b>HlyA</b>	$\alpha$ -hemolysin
<b>HUS</b>	Hemolytic Uremic Syndrome
<b>kDa</b>	Kilodalton
<b>LEE</b>	Locus of Enterocytes effacement
<b>LP<sub>s</sub></b>	Lipopolysaccharides
<b>LT</b>	heat-labile enterotoxin
<b>MDR</b>	Multidrug resistant
<b>MR-VP</b>	Methyl Red-Voges Proskauer

الاختصار	المصطلحات
<b>PAIs</b>	pathogenicity islands
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>Rho</b>	Ras homologous protein
<b>RIPs</b>	Ribosome-Inactivating Proteins
<b>RTX</b>	Repeats in Toxin
<b>SLT</b>	Shiga Like Toxin
<b>SMAC</b>	Sorbitol MacConkey agar
<b>ST</b>	heat-stable enterotoxin
<b>STEC</b>	Shigatoxogenic <i>Escherichia Coli</i>
<b>Stx</b>	Shiga Toxin
<b><i>Stx1</i></b>	Shiga toxin 1 gene
<b><i>Stx2</i></b>	Shiga-toxin 2 gene
<b>T3SS</b>	Type 3 secretion system
<b>TBE buffer</b>	Tris-borate-EDTA buffer
<b>TTP</b>	Thrombotic Thrombocytopenic Purpura
<b><i>uidA</i></b>	Gene encodes for $\beta$ -glucuronidase enzyme

## الفصل الأول

### المقدمة

#### Introduction

تعد عائلة المعويات *Enterobacteriaceae* واحدة من أهم العوائل الجرثومية داخل شعبة البروتيوبيكتريا Proteobacteria. تشمل هذه المجموعة جراثيم المعويات الممرضة مثل السالمونيلا *Salmonella* والشايغيلا *Shigella* والإشريكية القولونية *Escherichia coli* (Octavia and Lan, 2014) حيث تتكون من أجناس عديدة معروفة باستيطانها الأمعاء الدقيقة والغليظة في الثدييات بما في ذلك الانسان (Wallace et al., 2020). تشمل الجراثيم المعوية العديد من الاجناس منها مسببات للعديد من الأمراض واجناس انتهائية مرتبطة بحدوث الأمراض المعوية والتهابات المسالك البولية والإنتان والتهاب السحايا عند الانسان (Guanghui et al., 2020). علاوة على ذلك ربطت التحليلات الجزيئية الجرثومية وفرة جراثيم المعوية للاضطرابات المعوية مثل التهاب القولون التقرحي والقولون العصبي والتهاب الرتج ومرض كرون (Bai et al., 2021). وكذلك زيادة ارتباط هذه العائلة الجرثومية بحدوث مرض الكبد الدهني غير الكحولي وسرطان القولون والمستقيم (Liu et al., 2020).

خضعت عائلة المعويات *Enterobacteriaceae* لتغيرات في الصفات المظهرية الخارجية وبشكل كبير جدا في تاريخها الذي يزيد عن ٨٥ عامًا ولا سيما خلال العقدين الماضيين (٢٠٠٠ إلى ٢٠٢٠). أدى تطوير وإدخال طرق جزيئية جديدة ومبتكرة إلى جانب التقنيات المخبرية احدث تغيرات كبيرة في التصنيف الاحيائي إذ اشارت العديد من نتائج دراسات التصنيف الجزيئي وعلم الوراثة إلى أنه من المحتمل تقسيم عائلة المعويات الحالية إلى سبع عوائل منفصلة أو أكثر (Janda and Abbott, 2021).

تعيش جراثيم الإشريكية القولونية بصورة طبيعية في امعاء الانسان والحيوان وهي في الوقت نفسه جراثيم انتهائية Opportunistic Pathogens مسببة للعديد من الامراض مثل الاسهال وتسمم الدم وتجرثم الدم وتعد من أكثر انواع الجراثيم المسببة لإصابات التسمم المعوي.

تعود امراضية هذه الجراثيم الى امتلاكها العديد من عوامل الضراوة ومن هذه العوامل هي امتلاكها سموم الشيكا Shiga Toxin وحاملات الحديد Siderophores وعامل التنخر السمي Cytotoxic Necrotizing Factor وامتلاكها للتراكيب السطحية مثل الاسواط Flagella والمحفظة Capsule والسكريات المتعددة الدهنية Lipopolysaccharides (LPs) التي تمنح الجراثيم صفات مستضدة وذلك بإنتاجها للمستضد السوطي (H) Flagellar Antigen (H) والمستضد الجسمي (O) Somatic Antigen (O) والمستضد المحفظي (k) Capsular Antigen (k) ايضا تمتلك الاهداب Pili او fimbriae التي تساعدها على الالتصاق في انسجة المضيف فتتمتعها القابلية على تكوين الغشاء الحيوي Biofilm (Terlizzi et al., 2017).

لعوامل الضراوة التي تفرزها الجراثيم والتي تلعب دورا كبيرا في حدوث المرض ومن أهم هذه العوامل هي ذيفانات الشيكا Shiga toxin التي تسبب أضرارا في البطانة الوعائية المعوية ولوحظ هذا التأثير في الاشخاص الذين يعانون من التهاب القولون النزفي ومتلازمة حال الدم اليوريمي HUS (Fatima and Aziz, 2019).

عرفت جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) أو جراثيم الإشريكية القولونية المنتجة لذيفان الشيكا Stx والتي تسمى Shiga toxin *E. coli* (STEC) لأول مرة كمسبب للإسهال الدموي ومتلازمة حال الدم اليوريمي عام ١٩٨٢ عندما سجلت حالتين وبائيتين من التهاب القولون النزفي نتيجة تناول همبركر غير مطبوخ جيدا في أحد مطاعم الوجبات السريعة في احدى الولايات الامريكية حيث بينت نتائج التشخيص أن المسبب هو النمط المصلي O157:H7 (Dudley, 2022). ويسبب النوع المصلي O157:H7 حوالي ٧٣.٥٨٨ إصابة لكل سنة في الولايات المتحدة الأمريكية حيث سجلت نسبة اندلاع حالات متلازمة حال الدم اليوريمي في الولايات المتحدة الأمريكية بنسبة 17% (Sharapov et al., 2016).

خلال مراحل تصنيع الاغذية تحدث عمليات انتشار الجراثيم في المقام الأول من خلال اللحوم الطازجة أو غير المطبوخة جيدا او عن طريق التلوث المتبادل أثناء إعداد الطعام بطريقة غير الصحية (Bai et al., 2021). حيث تحتوي لحوم الابقار الطازج على عدداً كبير من جراثيم الإشريكية القولونية أثناء الذبح بسبب الممارسات غير الصحية في جميع مراحل إعداد اللحوم في المسالخ ومحلات القصابة (Bhunja, 2018). وتعد المجترات (الابقار) الخزان

الرئيسي لجراثيم الأشريكية القولونية ولا سيما النمط المصلي (O157:H7) اذ يمكن عزلها من براز الأبقار التي لا تظهر عليها علامات مرضية (Bonardi *et al.*, 2015).

تتميز جراثيم الأشريكية القولونية بامتلاكها صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية الحيوية (MDR) multidrug resistance اذ تمتاز بمقاومتها العالية للمضادات الحيوية نتيجة امتلاكها انزيمات المقاومة مثل انزيمات البيتا لاكتاميز  $\beta$ -lactamases التي تمنح المقاومة لمضادات البيتا لاكتام  $\beta$ -lactams والانزيمات التي تمنح المقاومة لمضادات الامينوكلايوسايد aminoglycosides ولمضادات الكينولونات quinolones (Laird, 2016). كما تمتلك هذه الجراثيم اليات اخرى تمنحها المقاومة للمضادات الحيوية مثل تغيير نفاذية الغشاء الخلوي تغيير في الموقع الهدف تثبيط تصنيع البروتينات وامتلاك الجراثيم لمضخات التدفق Efflux Pumps اذ تمنح الجراثيم المقاومة للمضادات الحيوية مثل مجاميع Macrolides ومضادات Novobiocin (Kapoor *et al.*, 2017).

### اهداف الدراسة:

ونظرا لخطورة وجود جراثيم الإشريكية القولونية في اللحوم وتأثيرها على صحة المستهلك ولقلة الدراسات عنها في العراق جاءت أهداف هذه الدراسة:

- ١- تحديد الخصائص المظهرية والجينية لجراثيم الإشريكية القولونية.
- ٢- عزل جراثيم الأشريكية القولونية النوع المصلي O157:H7 .
- ٣- التأكد من جراثيم الأشريكية القولونية من خلال تحديد الجين *uidA*.
- ٤- الكشف عن الجينات المسؤولة عن تكوين الذيفان *Stx1* و *Stx2*.
- ٥- التعرف على أنواع المضادات الحيوية التي أظهرت مقاومة أو حساسية لجراثيم الأشريكية القولونية.

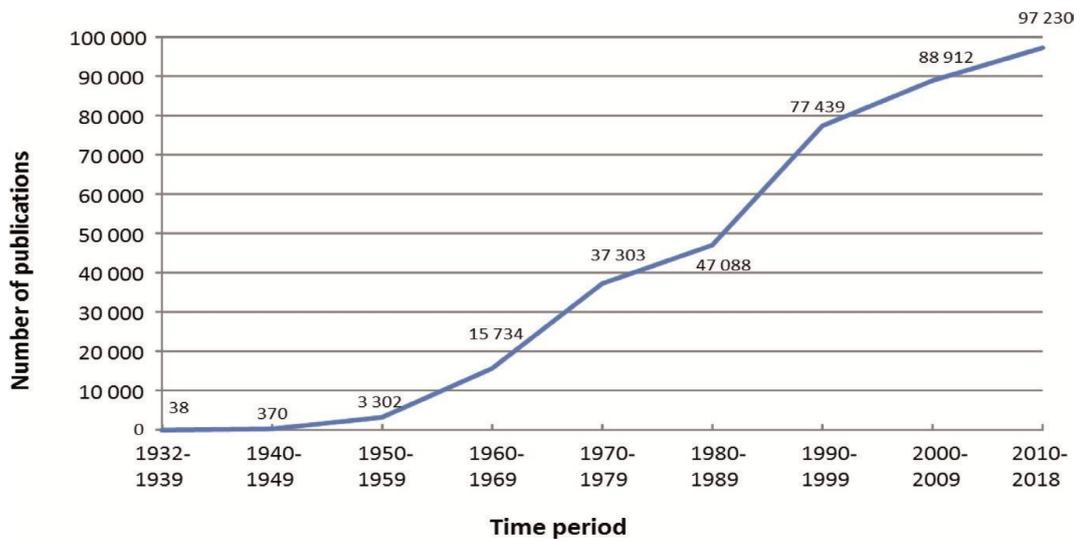
## الفصل الثاني

### مراجعة المصادر

#### Literature Review

##### ١-٢: نبذة تاريخية

في عام ١٨٨٥ قدم العالم الألماني Escherich محاضرة بعنوان "الجراثيم المعوية لحديثي الولادة والرضع" لجمعية علم الشكل وعلم وظائف الأعضاء حيث وصف الشكل الخارجي وخصائص الجرثومة وأطلق عليها تسمية "جراثيم القولون". وفي عام ١٨٨٦ بعد ١٨ شهراً من البحث المكثف قدم أطروحة التأسيسية بعنوان "الجراثيم المعوية لحديثي الولادة وعلاقتها ووظائف أعضاء الهضم" وهي مجموعة من الأعمال التي رسخته بوصفه واحداً من رواد علماء الجراثيم في عصره وقد تم تسميتها بجرثومة القولونية لأنها موجودة في الأمعاء الغليظة (Hacker and Blum-Oehler 2007). وضعت التصنيفات المبكرة لبدائيات النواة هذه في عدد قليل من الأجناس بناءً على شكلها وحركتها (في ذلك الوقت كان تصنيف أرنست هيكل للجرثومة في المملكة مونيرا) (Whittaker and Margulis 1978). تم تصنيفها باسم جرثومة *Bacillus coli* وفي عام ١٨٩٥ وأعيد تصنيفها لاحقاً في جنس الاشريكية *Escherichia* (Yu et al., 2021) والذي تم تسميته على اسم مكتشفه الأصلي منذ ذلك الحين استخدمت الجراثيم القولونية لأبحاث التجارب المختبرية البيولوجية وبشكل كبير كما هو موضح في الشكل (١-٢) (Erjavec, 2019).



شكل (١-٢): عدد المنشورات في الموقع PubMed عن مصطلح البحث "*Escherichia coli*" في الإطار الزمني من ١ يناير ١٩٣٢ إلى ٣١ ديسمبر ٢٠١٨ (Erjavec, 2019).

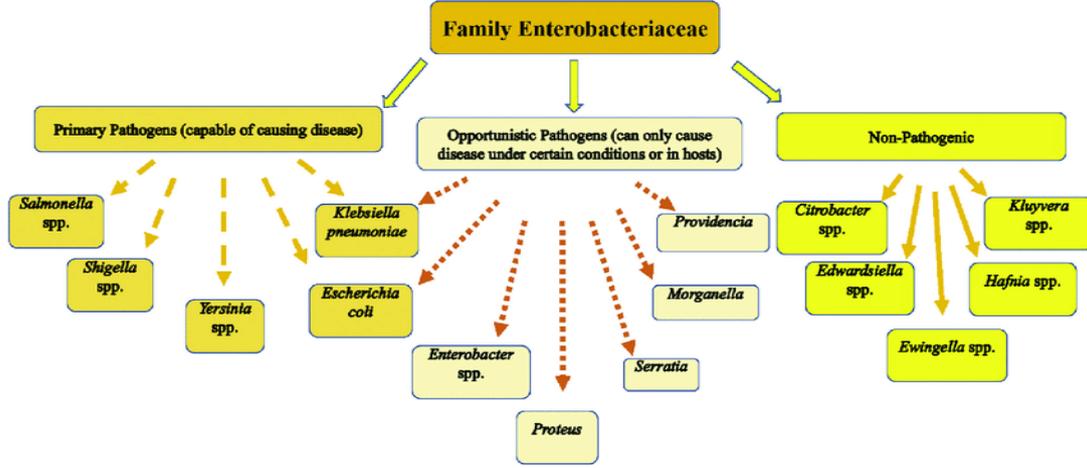
عزلت جراثيم الإشريكية القولونية لأول مرة من قبل العالم الألماني ثيودور إيشيرش عام ١٨٨٥ من براز الأطفال المصابين بالإسهال المعوي (Friedmann, 2006), وفي عام ١٩٤٥ م وجد العالم Bray ان سلالة من جراثيم الإشريكية القولونية كانت السبب الرئيسي لإسهال الاطفال الرضع في انكلترا واطلق عليها (EPEC) Enteropathogenic *Escherichia (E.) coli* (Bray, 1945). تعد جراثيم الإشريكية القولونية من الجراثيم المتعايشة في الأمعاء وتشكل النسبة العظمى من جراثيم الأمعاء عند البالغين. تدخل جراثيم الإشريكية القولونية الى الجسم عبر الرضاعة خلال ساعات الأولى من الولادة ولها عوامل فوعة مختلفة عند الإنسان والحيوان وأثبتت الدراسات التي أجريت من قبل العالم إيشيرش أن سلالات معينة من جراثيم الإشريكية هي المسؤولة عن الاسهال عند الرضع واسهال المسافرين الذي يستمر من ١-٣ أيام والتهاب المعدة والأمعاء.

## ٢-٢: العائلة المعوية *Enterobacteriaceae*

تنتمي مجموعة كبيرة ومتنوعة من الجراثيم التي تعيش بشكل طبيعي في أمعاء كل من البشر والحيوانات إلى عائلة الأمعائيات وتشمل خصائص أفراد هذه العائلة كونها ذات شكل عصوي وسالبة لصبغة كرام وتكون اما هوائية أو لاهوائية اختيارية Facultative Anaerobic وتسبب هذه العائلة العديد من الأمراض مثل التهابات الجروح والاصابات المكتسبة من المستشفيات Nosocomial Infections وأخماج الجهاز التنفسي Respiratory Infections والتهابات المسالك البولية Urinary Tract Infections ويمكن أن تحدث هذه الاصابات في كل من الانسان والحيوان على حدٍ سواء (Oliveira et al., 2017). تمتلك أفراد هذه العائلة أيضاً مجموعة متنوعة من عوامل الضراوة بما في ذلك السموم والإنزيمات. بالإضافة إلى ذلك فإن الأمعائيات تخمر مجموعة متنوعة من الكربوهيدرات والتي يتم تحويل معظمها إلى سكر اللاكتوز Lactose. كما أنها تجتاز اختبار الكتاليز بنتيجة إيجابية ويمكنها تحويل النترات إلى نترت لإنتاج الطاقة ومعظم افراد هذه العائلة غير مكونة للأبواغ ولها القدرة على الحركة بواسطة الاسواط Flagella ودرجة الحرارة المثلى لنموها ٣٧م° (Jawetz et al., ٢٠١٦).

تعد جراثيم هذه العائلة من أكثر المجاميع الجرثومية انتشاراً وأهمية وتوجد بصورة طبيعية في القناة المعوية للإنسان والحيوان وهي ذات إنتشاراً واسع في الطبيعة حيث تتواجد هذه الجراثيم في المياه والتربة. إن جراثيم العائلة المعوية لها دور كبير في مجالات عديدة مثل الطب والوراثة الجزيئية والصحة العامة. وتضم هذه العائلة حوالي ١٣ جنساً و٢٠٨ نوعاً وتقسم العائلة المعوية حسب الامراضية الى الممرضات الرئيسية والممرضات الانتهازية (*Salmonella spp., Escherichia coli & Yersinia*)

spp. والغير ممرضة التي تعزل من فضلات الحيوانات والبيئة وتعد ملوثات فقط مثل (*Erwinia* spp. ) و(*Hafnia* spp. ) والممرضات الرئيسية التابعة للعائلة المعوية تسبب كلا الخمجين الهضمي والجهازي (Brenner and Farmer III 2015) كما موضح في الشكل (٢-٢) (Ebomah and Okoh 2020).



الشكل (٢-٢): أفراد العائلة المعوية (Ebomah and Okoh 2020).

### ٢-٣: تصنيف جراثيم الإشريكية القولونية:

جراثيم الإشريكية القولونية تندرج مع أربعة أنواع أخرى وهي (*E. albertii*, *E. vulneris*, *E. hermannii*, *E. fergusonii*) ضمن جنس الإشريكية بجانب هذا 13 جنسا من الجراثيم التي تنتمي إلى العائلة المعوية التي تعود إلى رتبة Enterobacteriales التي تعود مع 23 رتبة أخرى إلى صنف Gamma Proteobacteria ضمن شعبة Protobacteria ضمن حقل Bacteria من مملكة Eubacteria وتصنف جراثيم الإشريكية القولونية حسب (Krieg et al. 2010, Imbens and Rubin 2015) وكما يأتي :

Domain: bacteria

Kingdom: Eubacteria

Phylum: proteobacteria

Class: Gammaproteobacteria

Order: Enterobacteriales

Family: *Enterobacteriaceae*

Genus: *Escherichia*

Species: *Coli*

## ٢-٤ : جراثيم الإشريكية القولونية:

تعد جراثيم الإشريكية القولونية أكثر أهمية وشيوعاً بين جراثيم العائلة المعوية التي يكون موطنها الطبيعي القناة الهضمية للإنسان والحيوان كما إن بعض سلالات هذه الجراثيم تستطيع أن تسبب أضراراً للجهاز الهضمي والبولي. تعد جراثيم الإشريكية القولونية الموجودة في القناة الهضمية بصورة طبيعية من الجراثيم المفيدة للمضيف من خلال إنتاجها لفيتامين K وتتنافسها مع الممرضات الأخرى التي تدخل القناة المعوية. تندرج ضمن العائلة المعوية عدد كبير من الأجناس الجراثيم التي تكون ذات صلة فيما بينها وجنس الإشريكية القولونية ذو صلة من الناحية الوراثية مع باقي الأجناس ضمن العائلة المعوية وخاصة *Shigella* وان جراثيم الإشريكية القولونية هي الأكثر أهمية وشيوعاً في إمراضية الإنسان والحيوان (Gillen and Augusta 2018).

تحتوي جراثيم الإشريكية القولونية على ثلاثة أنواع من المستضدات المصلية وهم المستضد الجسمي (Somatic Antigen O) والذي يتكون في طبيعته من متعدد السكاريد الشحمي  $LP_S$  (Lipopolysaccharide) ويكون موجوداً على الغشاء الخارجي للخلية الجرثومية و ثابتاً بالحرارة (Liu *et al.* 2020) والمستضد السوطي (Flagella Antigen H) فهو مادة بروتينية ويتواجد في الأنواع المتحركة من جراثيم الإشريكية القولونية و مستضد المحفظة (Capsule Antigen K) الذي يكون في طبيعته متعدد السكري ويوجد في الجراثيم الحاوية على الأغلاب والمحفظة ويعتمد على هذه المستضدات في التصنيف المصلي لجراثيم الإشريكية القولونية (Gebisa *et al.*, 2019). إن جراثيم الإشريكية القولونية تعد من الممرضات الانتهازية إذا توفرت لها الظروف المناسبة وتسبب أضراراً مختلفة منها الإسهال في الحيوانات والإنسان خصوصاً الأعمار الصغيرة وتسمى (Diarrheagenic *E. coli*) DEC وأضرار المسالك البولية وتسمى (Uropathogenic *E. coli*) UPEC (Abdelrahim *et al.*, 2021). إضافة إلى أضرار السحايا Meningitis وأضرار الجروح وذات الرئة Pneumonia وتعفن الدم Septicemia هناك عوامل تزيد من نسبة وشدة الإصابة من ضمنها العمر الحالة المناعية طبيعة الغذاء إضافة إلى الجرعة الجرثومية الخمجية (Deisingh and Thompson 2004).

## ٢-٥ : الصفات العامة لجرثومة الإشريكية القولونية

جراثيم الإشريكية القولونية هي عبارة عن عصيات سالبة لصبغة كرام متحركة بواسطة الأسواط المحيطية Peritrichous Flagella التي تحيط بكامل الجسم وغير مكونة للأبواغ، ومستعمراتها ملساء ناعمة ومحدبة قليلاً رطبة غير مخاطية أو مخاطية عند امتلاكها لتركيبة المحفظة

Capsule ذات حافة حادة كاملة وتكون لون مستعمرات جراثيم الإشريكية القولونية اخضر معدني لماع Green Metallic Sheen عند نموها وسط الأيوسين مثيلين الأزرق بسبب تفاعل الصبغتين الأيوسين والمثيلين عند تخمر سكر اللاكتوز وتوفير وسط حامضي (Boyce *et al.*, 1995)، بينما يكون لون المستعمرات وردياً لماعاً على وسط اكار الماكونكي MacConkey agar غير مخمرة لسكر السليلوبايوز Cellulobios وأكثر من 89% منها مخمرة لسكر الرامنوز Ramenose وأكثر من 90% منها مخمرة لسكر السوربتول Sorbitol واطافة الى ذلك فإنها غير محللة للجيلاتين Gelatin وغير منتجة لغاز كبريتيد الهيدروجين H<sub>2</sub>S في وسط ثلاثي السكر الحديد Triple Sugar Iron agar (TSI) (Tang, *et al.*, 2013) ومعظمها منتجة لأنزيم  $\beta$ -glucuronidase ولا تنمو بوجود سيانيد البوتاسيوم (KCN) وتنمو في الوسط الحامضي ذات الاس الهيدروجيني 4.4 ودرجة الحرارة المثلى لنموها هي (36 – 37م°) (Procop *et al.*, 2020) كما انها تكون موجبة لاختبار الكتاليز Catalase وسالبة لاختبار الأوكسيداز Oxidase وموجبة لاختبار الاندول Indole الذي يعد الاختبار الذي يميزها عن افراد العائلة المعوية الاخرى. فضلا عن انها غير مستهلكة للسترات Citrate كمصدر للكربون وكما انها موجبة لاختبار المثل الاحمر Methyl Red وسالبة لاختبار الفوكس بروسكاور (Bauzad *et al.*, 2019, Bruslind, 2020).

## ٦-٢: الخصائص الكيموحيوية والصفات المظهرية لجراثيم الإشريكية القولونية

يحدث النمو الأمثل لجراثيم الإشريكية القولونية عند ٣٧ م° ولكن بعض السلالات المختبرية يمكن أن تتكاثر في درجات حرارة تصل إلى ٤٩ م°. تنمو جراثيم الإشريكية القولونية في مجموعة متنوعة من الوسائط المختبرية المحددة مثل مرق اللايسوجيني أو أي وسط يحتوي على الكلوكوز وفوسفات الأمونيوم أحادي القاعدة وكلوريد الصوديوم وكبريتات المغنيسيوم وفوسفات البوتاسيوم ثنائي القاعدة والماء ويحدث النمو لجراثيم الإشريكية القولونية عن طريق التنفس الهوائي أو اللاهوائي اختياريًا باستخدام مجموعة كبيرة ومتنوعة من أزواج الأكسدة والاختزال بما في ذلك أكسدة حمض البيروفيك وحمض الفورميك والهيدروجين والأحماض الأمينية وتقليل الركائز مثل الأكسجين والنترات والفومات وثنائي ميثيل سلفوكسيد وثنائي ميثيل أمين أكسيد النيتروجين يستخدم الأوكسجين عندما يكون موجودًا ومتاحًا ومع ذلك يمكن أن تستمر في النمو في حالة عدم وجود الأوكسجين باستخدام التخمر أو التنفس اللاهوائي وتعد القدرة على الاستمرار في النمو في حالة عدم وجود الأوكسجين ميزة لجراثيم الإشريكية القولونية لأن بقائها يزداد في البيئات التي يسود فيها الماء (Tortora *et al.*, 2018). الجدول (٢-١) يوضح خصائص نمو جراثيم الإشريكية القولونية على الأوساط الزرعية.

الجدول (١-٢): خصائص نمو جراثيم الإشريكية القولونية على الأوساط الزرعية.

الخصائص الزرعية	Blood Agar	MacConkey Agar	Eosin Methylene Blue Agar	Nutrient Agar
شكل المستعمرة	دائري	دائري	دائري	دائري
حجم المستعمرة	1-3 mm	2-3 mm	2-3 mm	1-3 mm
ارتفاعها	محدبة	محدبة	محدبة	محدبة
سطح المستعمرة	Smooth (fresh isolation); Rough (repeated subculture); mucoid (capsulated strains)	Smooth (fresh isolation); Rough (repeated subculture); mucoid (capsulated strains)	Smooth (fresh isolation); Rough (repeated subculture); mucoid (capsulated strains)	Smooth (fresh isolation); Rough (repeated subculture); mucoid (capsulated strains)
لونها	ابيض رمادي	وردي	اخضر معدني لماع	ابيض رمادي
قوامها	شفافة - معتمة	معتمة	معتمة	شفافة - معتمة

## ٧-٢: التركيب المستضد لجراثيم الإشريكية القولونية

يتكون التركيب المستضد لجراثيم الإشريكية القولونية من متعدد السكريات الشحمي المستقر للحرارة (LPS) هو مستضد جدار الخلية الرئيسي لجراثيم الإشريكية القولونية الذي يحتوي على ٤ مستضدات مثل H و O و K و F (Gebisa, et al., 2019).

١. مستضد السوطي H : مركبات بروتينية غير مقاومة للحرارة والكحول توجد بشكل رئيسي في السوط تم التعرف على ٧٥ مستضد "H".

٢. **المستضد الجسدي O** : وهو مستقر للحرارة ومقاوم للغليان حتى ساعتين ويوجد على سطح الغشاء الخارجي. جزء لا يتجزأ من جدار الخلية تم التعرف على ١٧٣ مستضد "O".
٣. **المستضد المحفظي K**: مستضد حراري متعدد السكاريد الحمضي موجود في الغلاف. عند الغلي يزيل مستضد K ويمكن هذا المستضد الخلية الجرثومية مقاومة البلعمة تم التعرف على ١٠٣ مستضدات "K".
٤. **المستضد الهديبي F**: مركبات بروتينية مقاومة للحرارة المتغيرة موجودة في الاهداب .fimbriae

## ٨-٢: أهمية جراثيم الإشريكية القولونية

١. تُستخدم جراثيم الإشريكية القولونية لإنتاج الأنسولين باستخدام تقنية الهندسة الوراثية ( Siew and Zhang 2021).
٢. تنتج جراثيم الإشريكية القولونية فيتامين K في الأمعاء (Gillen and Augusta 2018).
٣. تستخدم جراثيم الإشريكية القولونية كدليل لتحديد التلوث البرازي لمياه الشرب والاطعمة (Raj, et al. 2020).
٤. تستخدم في علم الوراثة الجرثومية حيث يتم استخدامها لدراسة البلازميد ( Idalia and Bernardo 2017).
٥. تعتبر جراثيم الإشريكية القولونية من الخطوط الدفاعية لجسم الانسان والحيوان وذلك لهيمنتها ولتنافسها ضد الجراثيم الممرضة الدخيلة للأمعاء (Xu et al., 2019).

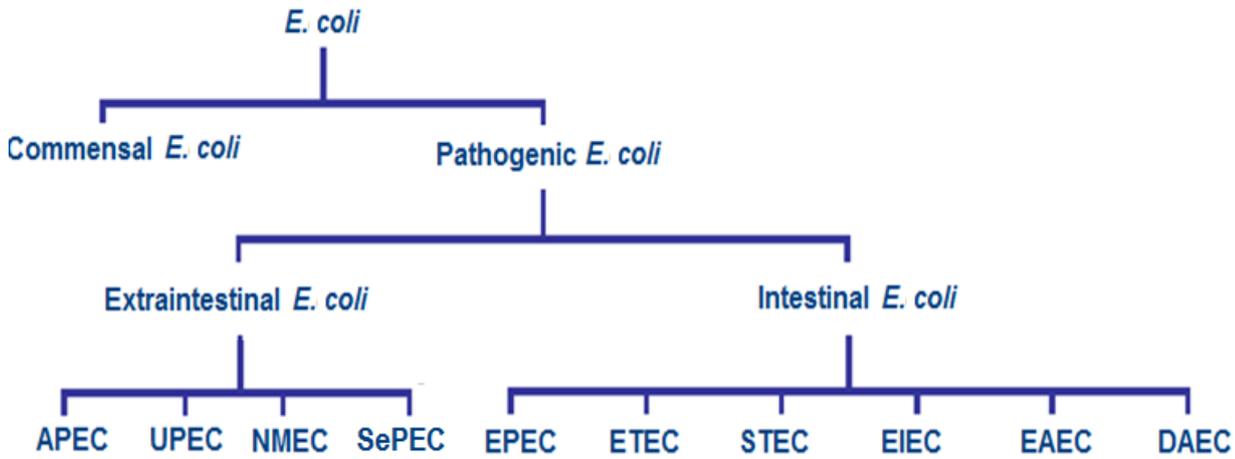
## ٩-٢: تواجد جراثيم الإشريكية القولونية

توافر المغذيات داخل أمعاء الكائنات المضيئة هو العامل الرئيسي الذي تعتمد عليه جرثومة الإشريكية القولونية ويعتبر الجهاز الهضمي للإنسان والعديد من الحيوانات ذوات الدم الحار الموطن الأساسي لجراثيم الإشريكية القولونية ويمكن أن توجد في المخاط أو الظهارة على جدار الأمعاء عادة في القولون من الأمعاء الغليظة وتكوين علاقة متبادلة مع مضيفه حيث تشكل حوالي ٠.١٪ إلى ١٪ من جراثيم الجهاز الهضمي. توجد جراثيم الإشريكية القولونية أيضاً في براز الإنسان والحيوانات اما خارج الأمعاء / خارج الجسم المضيف يمكنها البقاء على قيد الحياة لبضع ساعات فقط وكذلك خارج الجسم المضيف توجد بشكل أساسي في البيئات الملوثة بالبراز مثل الماء والطين والرواسب ( Stanford et al., 2012). إذا لامست جراثيم الإشريكية القولونية اللحم الطازجة فمن المحتمل أن تلتصق بها

وكذلك الحال مع بقية الأطعمة والفاكهة والخضار (Kamala and Kumar 2018) وتوجد أيضاً في بيئات ذات درجات حرارة عالية مثل حافة الينابيع الساخنة (Sánchez *et al.*, 2019) وتوجد في اللحوم المفرومة والمنتجات الأخرى المعدة بشكل غير صحي (Abd Al-Rubaey, 2016).

## ٢-١٠: تصنيف جراثيم الإشريكية القولونية

يمكن تقسيم جراثيم الإشريكية القولونية إلى عدة أنواع وذلك بالاعتماد على عوامل مختلفة منها عوامل الضراوة والعلامات السريرية والوبائية والمستضدات السوطية والجسمية كما هو موضح في الشكل (٢-٣).

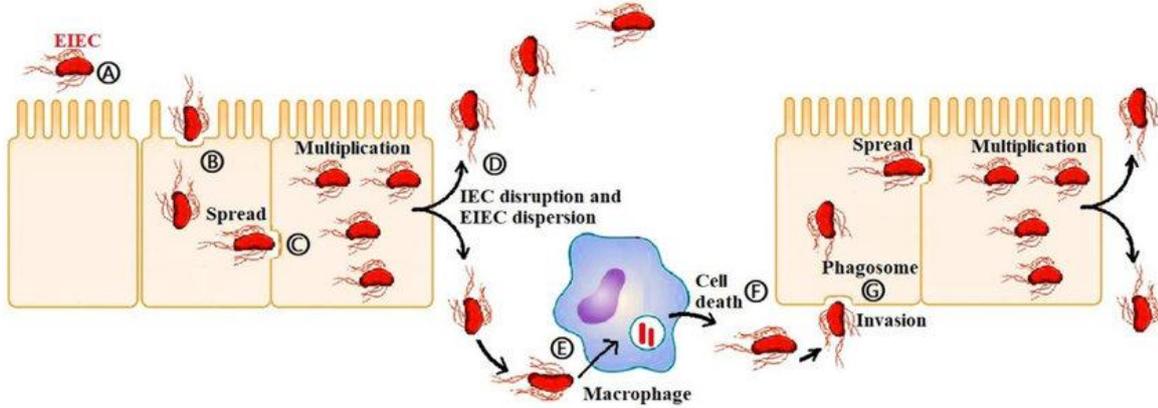


الشكل (٢-٣): أنواع جراثيم الإشريكية القولونية

## ٢-١٠-١: الإشريكية القولونية الغازية للأمعاء Enteroinvasive E. coli (EIEC)

يعود تاريخ تسجيل أول إصابة بسلالة الإشريكية القولونية الغازية للأمعاء إلى عام ١٩٤٧ حيث تم تعريفها في ذلك الوقت بـ "عصية بارا كولون" "paracolon bacillus" وتم تحديد السلالة لاحقاً على أنها *E. coli* O124 (Ewing and Gravatti 1947). الإشريكية القولونية الغازية للأمعاء لها القدرة على إحداث الاسهال في الأطفال. وتزداد اعداد الجراثيم في القولون وتلتصق بخلايا الأمعاء الدقيقة والقولون وتختراق طبقات الامعاء إلى أن تصل إلى الجهاز اللمفي وتبدأ بالتكاثر ( Michelacci *et al.*, 2020). للإشريكية القولونية الغازية بلازميد يمنح الجراثيم القدرة على غزو الخلايا الظهارية وينتج هذا النمط المصلي أيضاً كميات من السموم شبيهة بالشيكات. يحاول المضيف التخلص من الغزو

الجرثومي من خلال إنتاج المناعة بواسطة رد فعل التهابي مع الحمى وخلايا الدم البيضاء تغزو جدار الأمعاء ويكون الإسهال دموياً مع خلايا الدم البيضاء. مثل داء الشيغيلات (Gladwin *et al.*, 2019) كما هو موضح في الشكل (٤-٢) (Govindarajan *et al.*, 2020).

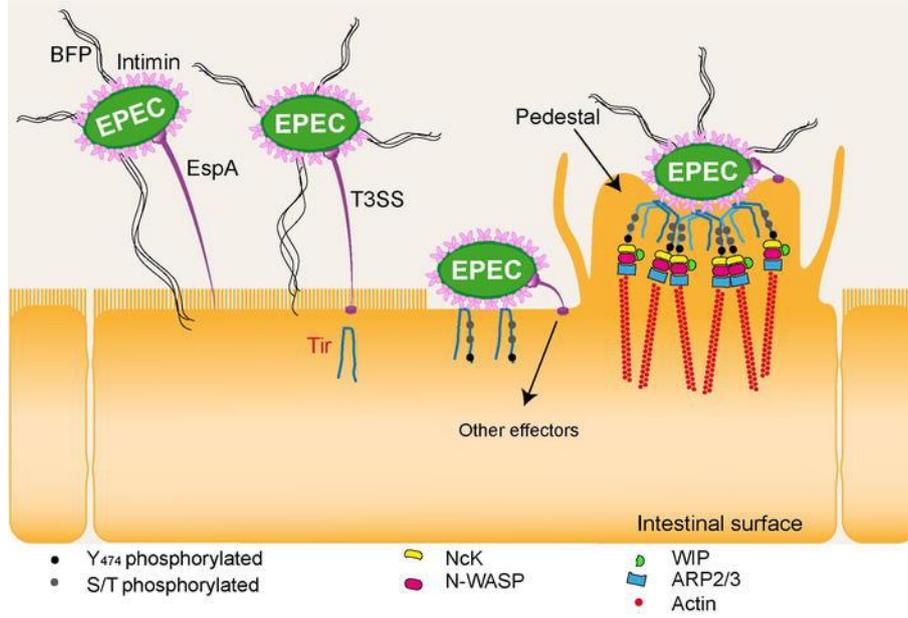


الشكل (٤-٢): مراحل الإصابة بجراثيم الإشريكية القولونية الغازية (EIEC) (Govindarajan *et al.*, 2020).

## ٢-١٠-٢: الإشريكية القولونية المعوية الممرضة Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

قبل بضعة عقود تم الكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية المعوية الممرضة عن طريق الكشف عن مستضدات O و H و K توصي البروتوكولات الحديثة بالطرق الجزيئية لتشخيص جراثيم الإشريكية القولونية المعوية الممرضة حيث يمكنها التمييز بين جراثيم الإشريكية القولونية المعوية الممرضة النموذجي وغير النموذجي من خلال تحديد وجود أو عدم وجود عوامل ضراوة محددة. يتم تعريف جراثيم الإشريكية القولونية المعوية الممرضة على أنها سلالات مسببة للإسهال والتي يمكن أن تنتج آفات الالتصاق والدمج على ظهارة الأمعاء بينما تكون غير قادرة على إنتاج سموم الشيغا والسموم المعوية المتغيرة للحرارة والمستقرة للحرارة. إن قدرة هذه السلالات على إنتاج آفات الالتصاق والاندفاع تمكنها من إحداث آفات موضعية عن طريق الالتصاق بإحكام على سطح الخلايا الظهارية المعوية مما يؤدي إلى تعطيل أسطح الخلايا ويؤدي إلى محور الزغبات المعوية. يتم تصنيف جراثيم الإشريكية القولونية المعوية الممرضة إلى عزلات نمطية وغير نمطية بناءً على وجود أو عدم وجود البلازميدات عامل التقيد لجراثيم الإشريكية القولونية. جميع سلالات جراثيم الإشريكية القولونية المعوية الممرضة إيجابية؛ وتعتبر سلالات الإشريكية القولونية المعوية الممرضة النموذجية هي + eae (Intimine) + bfp Bundle (forming pilus) بينما السلالات الإشريكية القولونية المعوية الممرضة غير

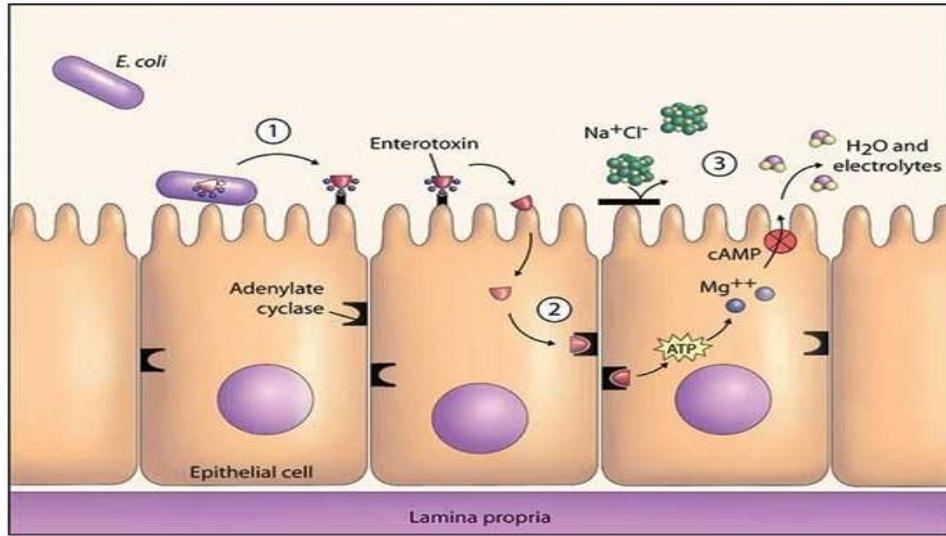
النمطية هي + bfp- eae (Mare, 2021) كما موضح في الشكل (٥-٢) (Cepeda-Molero et al., 2020).



الشكل (٥-٢): إمرضية جراثيم الإشريكية القولونية الممرضة (EPEC) (Cepeda-Molero et al., 2020)

### ٣-١٠-٢: الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي (Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

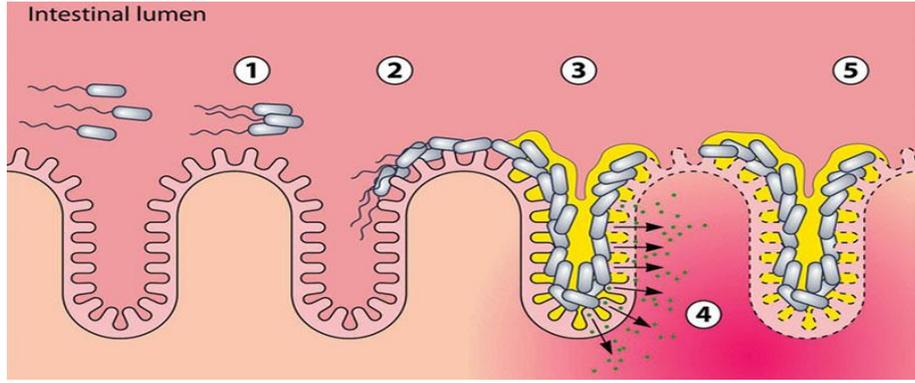
تعد أمراض الإسهال من الأسباب الرئيسية للوفاة في البلدان النامية حيث يُعزى أكثر من خمس وفيات للأطفال دون سن الخامسة إلى الإسهال المعدي. وتسهم جراثيم الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي بشكل كبير في الوفيات المرتبطة بمرض الإسهال حيث تتسبب في مئات الآلاف من الوفيات كل عام. علاوة على ذلك أن هذه الأمراض تساهم بشكل كبير في الإصابة بالأمراض الأخرى ومثال على ذلك تأخر النمو لدى الأطفال المصابين تتميز ضراوة ETEC بإنتاج المواد اللاصقة الخميرية والسموم المعوية. تتوسط المواد اللاصقة الشمية في ارتباط البكتيريا بسطح خلايا الظهارة المضيفة وتسمح بالاستعمار البكتيري و السموم المعوية ، بما في ذلك السموم المعوية المستقرة الحرارة (ST) والذيفان المعوي القابل للحرارة (LT) ، لتعطيل توازن السوائل المعوية وتسبب الإسهال المائي (Mirhoseini et al., 2018). الشكل (٦-٢) يوضح الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي (Aryal, 2019).



الشكل (٢-٦): الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي ETEC (Aryal, 2019),

#### ٤-١٠-٢: الإشريكية القولونية المعوية التكتلية (EAEC) Enteroaggregative *E. coli*

تعدُّ جراثيم الإشريكية القولونية المعوية التكتلية (EAEC) مجموعة غير متجانسة من السلالات التي تتميز بتراسها الذاتي في ترتيب "لبنة مكدسة" فوق ظهارة الأمعاء الدقيقة وفي بعض الحالات القولون. يتم تعريف سلالات جراثيم الإشريكية القولونية المعوية التكتلية حاليًا على أنها سلالات من جراثيم الإشريكية القولونية التي لا تفرز السموم المعوية LT أو ST والتي تلتصق بخلايا HEP-2 في نمط AA (Aggregative adherence). انتشار المرض الناجم عن الإصابة بجراثيم EAEC غير واضح لأنه لم يتم اكتشاف جين مميز أو خاص لهذه الجراثيم (Modgil *et al.*, 2021). الجينات المسؤولة عن المواد اللاصقة والسموم بما في ذلك yersiniabactin والكتين المعقد الخاص بالكربوهيدرات والسموم المعوية وذيفان الشيغا وبروتينات الفوعة الأخرى متغيرة بدرجة كبيرة بين جراثيم الإشريكية القولونية المعوية التكتلية. تم الإبلاغ عن اندلاع التهاب المعدة والأمعاء الناجم عن الإصابة بجراثيم الإشريكية القولونية المعوية التكتلية في الولايات المتحدة وأوروبا واليابان ومن المحتمل أن يكون سببًا مهمًا لإسهال الأطفال في البلدان المتقدمة إلى جانب البلدان النامية. تلقت جراثيم الإشريكية القولونية المعوية التكتلية مؤخرًا اهتمامًا متزايدًا باعتبارها أحد مسببات الأمراض المعوية الناشئة (Paletta *et al.*, 2020). الشكل (٢-٧) يوضح جراثيم الإشريكية القولونية التكتلية (Hebbelstrup Jensen *et al.*, 2014).



الشكل (٢-٧): امراضية جراثيم الإشريكية القولونية التكتلية (EAEC) (Hebbelstrup Jensen *et al.*, 2014).

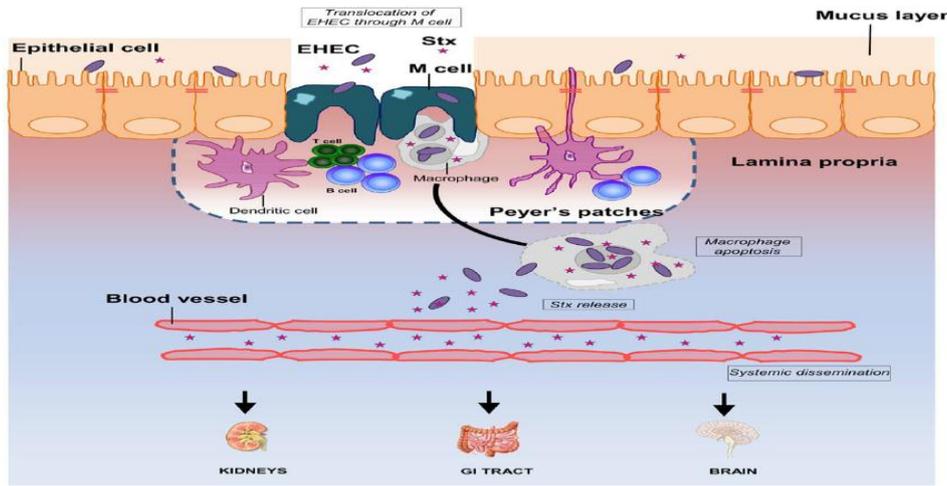
#### ٥-١٠-٢: الإشريكية القولونية المسببة للإنتان الدموي (SEPEC) *Septicemic E. coli*

تعد جراثيم الإشريكية القولونية المسببة للأمراض خارج الأمعاء (ExPEC) *Extraintestinal (ExPEC)* *pathogenic E. coli* أحد مسببات الأمراض الجرثومية المهمة التي تمثل السبب الرئيسي لعدوى مجرى الدم في دور رعاية المسنين والمستشفيات والأطفال الصغار. في عام ٢٠٠١ نسبت ٤٠.٠٠٠ حالة وفاة إلى الإنتان المرتبط بـ جراثيم الإشريكية القولونية المسببة للإنتان الدموي وهو ما يزيد بمقدار ٥٠٠ ضعف عن عدد الوفيات الناجمة عن النمط المصلي O157: H7 (Mellata, 2013) علاوة على ذلك تسبب جراثيم الإشريكية القولونية المسببة للإنتان الدموي عدوى خارج الأمعاء في العديد من حيوانات المزرعة والحيوانات الليفة والحيوانات البرية مما يؤدي إلى أمراض الجهاز التنفسي أو الجهازية (Zhang *et al.*, 2019).

#### ٦-١٠-٢: الإشريكية القولونية المعوية النزفية (EHEC) *Enterohemorrhagic E. coli*

تعد جراثيم الإشريكية القولونية النزفية المعوية (EHEC) أو ما تسمى بالإشريكية القولونية المنتجة لسموم الشيكات (STEC) هي أحد مسببات الأمراض الرئيسية المنقولة عن طريق الأغذية المسؤولة عن الأمراض التي تصيب الإنسان التي تتراوح من الإسهال إلى المضاعفات التي تهدد الحياة، فضلا عن ذلك فان جراثيم الإشريكية القولونية النزفية المعوية تمتلك عوامل الفوعة من أهمها سموم الشيكات فهي المسبب الرئيسي لمرض الجهاز الهضمي للإنسان في البلدان المتقدمة (Karmali *et al.*, 2010). تعتبر المجترات وخاصة الماشية خزانا طبيعياً للعوامل الممرضة والأغذية مثل منتجات اللحم البقري غير المطبوخة جيداً والحليب غير المبستر والخضروات وكذلك المياه الملوثة هي المصادر الرئيسية للعدوى البشرية. يسبب جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية الإسهال والتهاب القولون النزفي ومتلازمة انحلال الدم الجهازي (HUS) في ١٠ ٪ من الحالات HUS كما يعتبر السبب الرئيسي للفشل الكلوي

الحاد عند الأطفال ويموت ٥٪ من المرضى من HUS إن شدة HUS مع الجرعة المعدية المنخفضة جدًا (حوالي ١٠٠-٥٠ جرثومة) تجعل من جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية أحد مسببات الأمراض الخطيرة. تحتوي جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية على أكثر من ٤٠٠ نمط مصلي ولكن النوع O157: H7 غالبًا ما يرتبط باندلاع الأمراض في جميع أنحاء العالم والأمراض الشديدة (Jubelin *et al.*, 2018). الشكل (٨-٢) يوضح جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية (Etienne-Mesmin, *et al.* 2011).



الشكل (٨-٢): أمراضية جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية EHEC (Etienne-Mesmin, *et al.* 2011).

#### ١١-٢ : خصائص النمط المصلي E. coli O157:H7

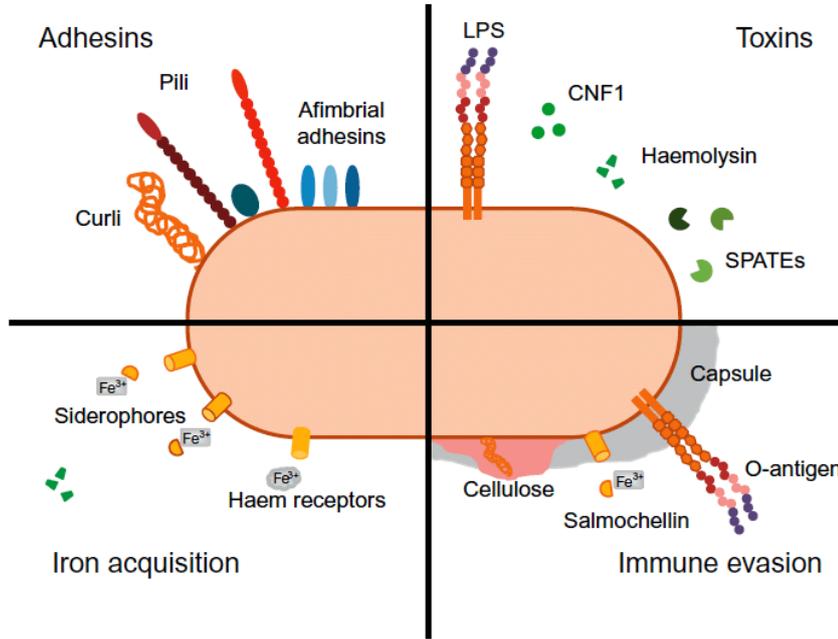
يطور هذا النوع من الجراثيم الأسواط والاهذاب بناءً على احتياجاته البيئية وينتمي إلى فئة جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية التي تنتج سمومًا شبيهة بالشيكيا حيث تسبب الإسهال النزفي الذي يمكن أن يتطور أحيانًا إلى فشل كلوي وهو الأكثر شيوعًا الذي يصيب الأطفال الصغار وكبار السن. يختلف هذا النمط المصلي عن جراثيم الإشريكية القولونية المسببة للأمراض الأخرى لأنه سلبي لاختبار الغزو (اختبار Sereny) ولا ينتج سمومًا ثابتة الحرارة أو سمومًا قابلة للحرارة. وتحدث عدوى الإنسان بشكل شائع بسبب استهلاك اللحم المفروم غير المطبوخ جيدًا أو الحليب أو العصير غير المبستر أو السباحة في البحيرات و المسابح أو مياه الشرب الملوثة ويعد الطعام أحد أهم مصادر الإصابة بعدوى النمط المصلي O157: H7 وبعض هذه الأسباب هي لحم الهامبرغر والتفاح المتضرر وعصير التفاح غير المبستر والحليب والبطاطس والخس والماء غير المكلور والمايونيز. علاوة على ذلك تعتبر الماشية

أحد المصادر الرئيسية لـ النمط المصلي O157: H7 الذي ينتشر عن طريق تلوث الطعام بالبراز. تعد تجمعات الأبقار أيضاً خزناً مهماً حيث يحدث طرح الفضلات بشكل كبير جداً يمكن أن يصاب الإنسان في أي وقت ويجب اتخاذ جميع التدابير لتقليل المخاطر على الصحة العامة (Deisingh and Thompson, 2004). بالإضافة إلى الأنماط المصلية الأخرى لمجموعة جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية EHEC التهاب القولون النزفي ومتلازمة انحلال الدم اليوريمي (HUS) وفرقية نقص الصفائح التخثرية (TTP) والفشل الكلوي وقد تسبب الوفاة (Wang *et al.*, 2020). يحضن النمط المصلي O157: H7 هوائياً عند ٣٧ م° لمدة ٢٤ ساعة. وتزرع على الأوساط الزرعية وتشكل المستعمرات ذات اللون الوردي على وسط MacConkey وكذلك مع المظهر النموذجي لجراثيم الإشريكية القولونية على وسط Eosin Methylene Blue وهو اللعان المعدني الأخضر وعلى وسط Sorbitol MacConkey agar – SMAC كوسيط انتقائي تظهر المستعمرات ذات لون شاحب أو مستعمرات لون الكهرمان (مستعمرات غير مخمرة للسوربيتول). وتظهر مستعمرات النمط المصلي O157: H7 بلون الوردي الباهت إلى البنفسجي الفاتح على وسط Chromogenic *E. coli* O157: H7 Agar يعتمد معظمها على مبادئ مماثلة؛ الاعتماد على عدم تخمير السوربيتول و / أو الرامنوز ونقص نشاط  $\beta$ -glucuronidase في النمط المصلي الأكثر شيوعاً O157: H7. تساعد هذه الواسمات البيوكيميائية، بالاشتراك مع عوامل انتقائية، على التمييز بين الإشريكية القولونية غير الممرضة والمعاشيات الأخرى من معظم سلالات الإشريكية القولونية O157: H7. يمكن استخدام ركيزة كروموجينية ثنائية (على سبيل المثال لـ  $\alpha$  أو  $\beta$ -galactosidase) لتسليط الضوء على وجود الإشريكية القولونية O157 بين جراثيم غير O157. (Al-Saadi *et al.*, 2018).

## ١٢-٢: عوامل الضراوة Virulence Factors

تمتلك جراثيم الإشريكية القولونية العديد من عوامل الضراوة التي تزيد من قابليتها على الإصابة بالأمراض منها العوامل المسببة للتسمم الغذائي. تُصنف عوامل الضراوة والمكونات الخلوية على أنها أهداف المسؤولة عن الاستعمار ونظام الإفراز والسموم الخارجية والذيفان الداخلي أو (LPs) Lipopolysaccharide. كما هو موضح في الشكل (٢-٩) إضافة إلى ذلك يمكن تصنيف هذه العوامل إلى مجموعتين رئيسيتين تتضمن عوامل الضراوة التي يتم إنتاجها داخل الخلية وإفرازها في الوسط الخارجي داخل موقع المرض أو تلك التي تفرز وتظهر على سطح جدار الخلية (Düzgün *et al.*, ٢٠١٩). وعادة ما يتم ترميزها على (pathogenicity islands) PAIs أو البلازميدات أو في الحمض

النوي الجيني الخاص بها (Sarowska *et al.*, 2019) من أهم عوامل الضراوة في الإشريكية القولونية ما يلي: -



الشكل (٩-٢): عوامل الضراوة في جراثيم *E. Coli* (Shenouda *et al.*, 1970).

## ١-١٢-٢: الالتصاق والاستعمار Adhesion and Colonization

إن زيادة التعبير عن العديد من التراكيب السطحية التي تعمل كعوامل ضراوة يزيد من قدرة استعمار الجراثيم والالتصاق عند التفاعل مع جدار الخلية. هناك ما لا يقل عن ثلاثة أنواع مختلفة من تراكيب التصاق جراثيم الإشريكية القولونية تحدث بواسطة fimbriae و fibrille و cruli تم وصف الالتصاق الخماسي لأول مرة لجراثيم الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي ETEC في العجول والخنازير والانسان ولكن تم العثور عليه لاحقاً في أنواع أخرى من جراثيم الإشريكية القولونية (Gebisa *et al.*, 2019) وتلعب الاهداب دوراً أساسياً في حماية جراثيم الإشريكية القولونية من قتل الخلايا البلعمية (Krause *et al.*, 2018; Sarowska *et al.*, 2019). تم وصف عوامل التصاق بواسطة الاهداب من قبل (Duguid *et al.*, 1955).

### ٢-١٢-٢: المحفظة Capsule

المعروفة أيضاً باسم المستضدات المحفظية K-antigen وهو مركب سكري متعدد ذو وزن جزيئي عالي وله شحنة سالبة ويساعد الجراثيم على منع تثبت الانتباه عن طريق البلعمة ويزيد من مقاومة الغشاء الخارجي للجراثيم لمركب المكمل النهائي (مقاومة المصل) مما يسهل بقاء الجراثيم والعدوى خارج الأمعاء (Quinn *et al.*, 2015). تعمل المحفظة أيضاً كمضاد للميكروبات وتتفاعل مع الببتيدات الموجبة من خلال الارتباط بهذه الببتيدات ويتم إيقاف تحلل الخلايا (Band and Weiss, 2014; Sachdeva *et al.*, 2017, Escobar- Salom *et al.*, 2022). يتم تصنيف المحفظة وفقاً للخصائص الجينية والكيميائية الحيوية إلى أربع مجموعات ١ و ٢ و ٣ و ٤. وتعتمد درجة الضراوة على حجم وتكوين المحفظة (Kundururu *et al.*, 2016). وتقوم المحفظة بوظائف عدة منها منع الخلية من الجفاف متعدد السكاريد يربط كمية كبيرة من الماء مما يجعل الخلية مقاومة للجفاف. تحمي المحفظة من الإصابة الميكانيكية وتأثير درجة الحرارة والجفاف وما إلى ذلك. المحفظة تساعد في الالتصاق على السطح على سبيل المثال *Streptococcus mutants* التي تسبب تسوس الأسنان حيث تلتصق على سطح الأسنان بواسطة كبسولتها. المحفظة تقاوم البلعمة بواسطة كريات الدم البيضاء. المحفظة تمنع التصاق الجراثيم الأخرى على سطح الخلية. وتعتبر المحفظة مصدر التغذية عندما يكون الإمداد بالمغذيات منخفضاً في الخلية. تتنافر الجراثيم المغلفة مع الجراثيم ذات الشحنة نفسها.

### ٢-١٢-٣: السموم Toxins

#### أ- السم المعوي Enterotoxin

تنتج بعض سلالات جراثيم الإشريكية القولونية المسببة للإسهال وخاصة جراثيم الإشريكية القولونية المنتجة للذيفان المعوي ETEC سم معوي مشفر بواسطة بلازميد قابل للانتقال. هناك نوعان من السموم المعوية وفقاً لمقاومة الحرارة: السم المعوي الغير مستقر للحرارة (LT) والسم المعوي المستقر للحرارة (STa and b) (Wang *et al.*, 2019; Yue *et al.*, 2020). وفقاً لوظيفة وهيكل السموم يتم تقسيمها إلى ذيفان oligopeptides و AB و Enzymatic و RTX وسم السيتروليزينات المكونة للمسار ونظام إفراز النوع الثالث (Slater *et al.*, 2018).

**Vero toxin or Shiga Toxin:****ب- فيروس توكسين أو شيغا توكسين**

هناك نوعان من سموم الشيكات السامة للخلايا *Stx1* و *Stx2* تأخذ سموم الشيكات اسمها من التشابه مع ذيفان الشيكات الذي تفرزه الشيكات الزحارية. يُسمى أيضًا فيروس توكسين نظرًا لتأثيره السام للخلايا على خلايا فيروس. هناك ثلاثة أنواع مختلفة من *Stx1* وسبعة أنواع مختلفة من *Stx2* معظمها لها تأثير على الجينات الموجودة في العاثيات ويمكن لجراثيم الإشريكية القولونية أن تأخذ هذه الجينات من الوسط تسمى سلالات الإشريكية القولونية المنتجة لذيفان الشيغا بـ *Verotoxigenic E. coli (VTEC)* أو *Shigatoxigenic E. coli (STEC)*. تم العثور على هذا السم أيضًا في سلالات الإشريكية القولونية المعوية النزفية EHEC التي تسبب متلازمة انحلال الدم اليوريمي HUS أو التهاب القولون النزفي في البشر ولا تصيب سوى الخنازير بينما تعتبر المجترات خزانًا لهذا النوع من جراثيم الإشريكية ويمكن أن تنقل العدوى إلى البشر (Liu et al., 2021). وتعتبر سموم الشيكات هي سموم بيولوجية قوية مسؤولة عن تراكم السوائل وتلف الكلى والفتك بعد الحقن في حيوانات المختبر. يحتوي سموم *Stx1* و *Stx2* على نشاط إنزيمي مماثل لكنهما يختلفان من الناحية المناعية. تتميز *Stx 2* بسمية أعلى من *Stx1* في البشر وعادة ما توجد في التهاب القولون النزفي الناجم عن الإجهاد (Gebisa et al., 2019).

**ج- السموم المحللة للخلايا المكونة للمسام RTX Pore-Forming Cytolysins Toxin**

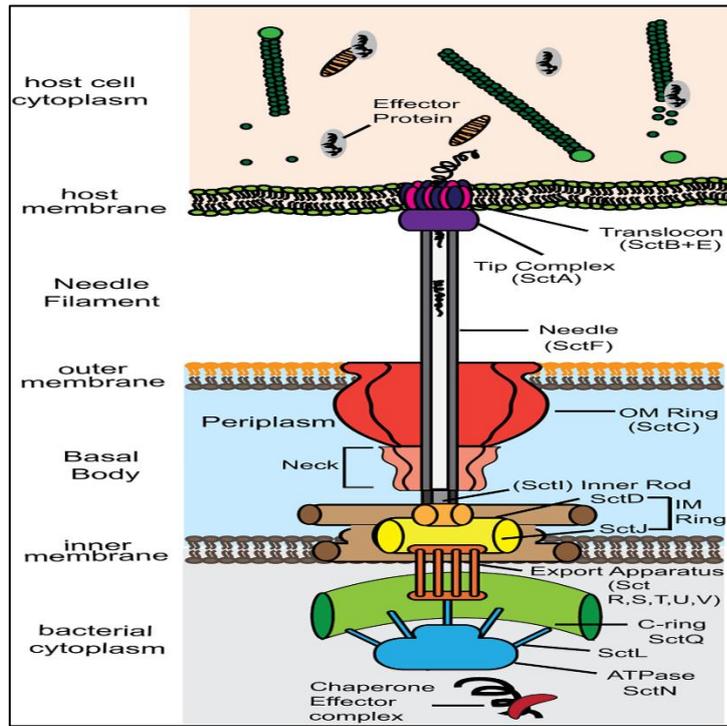
*hemolysin (HlyA)* هي فئة من السموم التي تشكل المسام على الغشاء السيتوبلازمي للخلايا وبسبب تغير النفاذية يسبب ضررًا جسيماً للخلايا المستهدفة (Benz, 2016). لا يعتبر السم عامل ضراوة ولكنه يلعب دوراً في العدوى خارج الأمعاء عن طريق التسبب في انحلال خلايا الدم الحمراء وبالتالي يوفر مصدرًا للحديد وضعف البلعمة والاستجابة لعامل كيميائي يتم إطلاقه بواسطة العدلات مما يساعد على إحداث تلف الأنسجة وزيادة قدرة الجراثيم على غزو حازر الخلايا الظهارية (Schwidder et al., 2019; Joseph et al., 2020).

**د- سيتولايسين أ Cytolysin A**

يتم ترميز السيتولايسين A بواسطة جينات من أهمها جين *hlyE* في جميع سلالات الإشريكية القولونية ويسبب انحلال الدم في خلايا الدم الحمراء وزيادة تركيز الحديد في الوسط (Peng et al., 2019).

**٢-١٢-٤: نظام إفراز النوع الثالث T3SS Type 3 Secretion System T3SS**

هو عبارة عن مركب بروتيني يكون بنية تشبه الأنبوب في الغشاء السيتوبلازمي للخلايا المضيفة وخاصة الموجودة في سلالات جراثيم الإشريكية القولونية الممرضة و جراثيم الإشريكية القولونية المعوية النزفية والمرضية EPEC. يتم ترميز Type 3 Secretion System (T3SS) كروموسومياً في PAIs (pathogenicity islands) الكبيرة المسماة (LEE) Locus of Enterocytes effacement والتي تحتوي على العديد من مجموعات الجينات الوظيفية والتي تكون مسؤولة عن تسبب في افات مرضية نتيجة لإعادة ترتيب الهيكل الخلوي والالتصاق الوثيق للجراثيم بالقاعدة المتكونة في الخلية المعوية (Hotinger *et al.*, 2021) الشكل (١٠-٢) يوضح تركيب نظام إفراز النوع الثالث (Dey *et al.*, 2019)



الشكل (١٠-٢): تركيب نظام إفراز النوع الثالث T3SS (Dey *et al.*, 2019)

## Cyclomodulins

٥-١٢-٢: السيكلومودولين

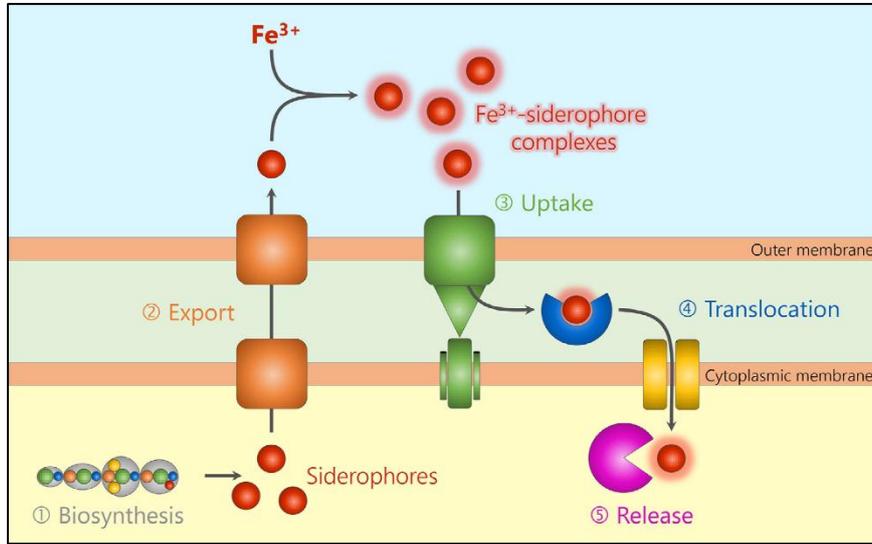
وهي مجاميع من السموم المؤثرة التي تسيطر بشكل كلي على دورة حياة الخلايا المضيفة عن طريق تكسير الحامض النووي أو عن طريق Rho تنشيط GTPases والتي تحتوي على الأنواع الرئيسية التالية: ١- السم القاتل الخلوي (CDT) و ٢- عامل التنخر السام للخلايا (Cnf) و ٣- عامل تثبيط الدورة (Cif) ٤- كولي باكتين. ان عمل هذه السموم هو التأثير في الخلايا المضيفة من خلال تموضعها داخل خلايا الجسم ومقاومتها لدفاعات المضيف (internalization, persistence) هذا ما يسبب التهابات

مزمنة (Morgan, *et al.*, 2021). جراثيم الإشريكية القولونية عادةً ما يؤدي هذا السم إلى الإسهال أو عدوى المسالك البولية أو يسبب السرطان (Morgan *et al.*, 2021).

## Siderophores

٦-١٢-٢: حاملات الحديد

القدرة على الحصول على الحديد أمر بالغ الأهمية لجدوى الجراثيم وسلامة معظم الوظائف الخلوية (Sarowska *et al.*, 2019). في عدوى جراثيم الإشريكية القولونية يكون توافر الحديد في البيئة منخفضاً جداً لذلك تتنوع الجزيئات الصغيرة التي تنتجها الجراثيم والتي لها صلة عالية بالارتباط غير المباشر بأيونات الحديد وتسمى هذه الجزيئات Siderophores. الشكل (١١-٢) يوضح فعالية Siderophores باتحادها مع ايونات الحديد وادخالها الى داخل الخلية البكتيرية (Martin *et al.*,



(2017). تصنف هذه الجزيئات إلى خمس فئات: الكاتيكولات "إنتيروباكتين وسالموكلين" و كاتيكولات حامض الحديد "يرسيناباكتين" و فينولات حامض الحديد وأخيراً إيروباكتين "نوع مختلط". تم العثور على كل هذه الجزيئات في كل من سلالات الإشريكية القولونية المتعايشة والممرضة ويجب على الجراثيم التعبير عن واحد منهم على الأقل ويساعد سلالات ExPEC على البقاء في ظروف مختلفة والتغلب على مناعة المضيف (Sarowska *et al.*, 2019 ; Martin *et al.*, 2017).

الشكل (١١-٢): فعالية Siderophores باتحادها مع ايونات الحديد وادخالها الى داخل الخلية البكتيرية (Martin *et al.*, 2017).

## ٢-١٢-٧: جدار الخلية Cell Wall

في جميع افراد العائلة المعوية يكون جدار الخلية متطابقاً ويتكون من هيكل معقد يشبه الشبكة وهو أمر ضروري للحفاظ على شكل الخلية وسلامة الخلايا الجرثومية وإنه موقع عمل ومقاومة المضادات الحيوية. يمكن لبعض مكونات جدار الخلية أيضاً أن تحفز جهاز المناعة أو يكون لها تأثير سام للخلايا مما يجعل جدار الخلية يلعب دوراً مهماً في التسبب في المرض الناجم عن الجراثيم (Dörr *et al.*, 2019; Jutras *et al.*, 2019).

## ٢-١٣: Shiga Toxin

سموم الشيجا هي عائلة من السموم ذات الصلة مع مجموعتين رئيسيتين *Stx1* و *Stx2* (Friedman and Court 2001) و يتم التعبير عنها بواسطة الجينات التي تعتبر جزءاً من جينوم الأوبئة للمفاوية (Rodríguez-Rubio *et al.*, 2021). تمت تسمية السموم على اسم العالم كيوشي شيغا (Trofa *et al.*, 1999) الذي وصف الأصل الجراثيم للزحار الناجم عن الشيكلا الزحارية. سموم شبيهة الشيكلا (SLT) هو مصطلح قديم للسموم المتشابهة أو المتطابقة التي تنتجها جراثيم الإشريكية القولونية (Podlacha *et al.*, 2021). المصادر الأكثر شيوعاً لسموم الشيكلا هي جراثيم *Shigella dysenteriae* وبعض الأنماط المصلية للإشريكية القولونية (STEC) والتي تشمل الأنماط المصلية O157: H7 و O104: H4 (Beutin, 2006).

## ٢-١٣-١: التسمية

يستخدم علماء الأحياء الدقيقة العديد من المصطلحات لوصف ذيفان الشيكلا وتمييز أكثر من شكل واحد. يتم استخدام العديد من هذه المصطلحات.

١. ذيفان الشيكلا من النوع ١ والنوع ٢ (*Stx1* و *Stx2*) هي سموم الشيكلا التي تنتجها بعض سلالات الإشريكية القولونية. *Stx1* مطابق لـ *Stx* لـ *Shigella spp.* أو يختلف بحمض أميني واحد فقط.

(Kaper and O'Brien 2014) تشترك *Stx2* في هوية التسلسل بنسبة ٥٦٪ مع *Stx1* (Chan and Ng, 2016).

٢. السموم الخلوية - وهي دلالة قديمة لـ *Stx* - بمعنى واسع.

٣. Verocytotoxins / Verotoxins - نادراً ما يستخدم مصطلح *Stx* - من فرط حساسية خلايا Vero إلى *Stx* (Beutin *et al.*, 1993)

٤. مصطلح Shiga-like toxins هو مصطلح قديم آخر نشأ قبل فهم أن Shiga والسموم الشبيهة بالشيكيا كانت متطابقة (Scheutz *et al.*, 2012).

### ٢-١٣-٢: تركيب Shiga Toxin

يحتوي سم الشيكيا على وحدتين فرعيتين وهما تعد الوحدة ب مركب خماسي ترتبط بالدهون النشوية للخلية المضيفة وبصفة خاصة مركب (Gb3) ثم بعد ذلك يتم استيعاب الوحدة الفرعية أ والتي تنقسم إلى جزئين. ثم يرتبط المكون (أ) بالرايبوسوم مما يعطل تخليق البروتين. وجد العلماء أن (*Stx2*) أكثر سمية من (*Stx1*) بـ ٤٠٠ مرة (Staji *et al.*, 2015). يوجد المركب (Gb3) لأسباب غير معروفة بكميات كبيرة في الأنسجة الظاهرية الكلوية ولذلك يمكن أن يعزى إليه سمية الكلى من سم الشيكيا ويوجد أيضاً في الخلايا العصبية للجهاز العصبي المركزي وخلايا البطانة مما قد يؤدي إلى التسمم العصبي. ومن المعروف عن سم (*Stx2*) أنه يزيد من قدرة الخلايا على إنتاج مستقبلات (GB3) ويسبب خللاً في الخلايا العصبية (Goossens, 2020 ; Tironi-Farinati, 2010). تتطلب السموم مستقبلات محددة للغاية على سطح الخلايا لتتمكن من الارتباط بها ومن ثم دخول الخلية ولذلك فإن أنواع مثل الماشية والخنازير والغزلان التي لا تحمل هذه المستقبلات قد تؤوي أنواعاً سامة من الجراثيم دون أن تصاب بالتسمم ثم تخرجها مع البراز حيث يمكنها أن تنتشر إلى البشر (Tomino *et al.*, 2020; Zhang *et al.*, 2021).

سموم الشيكيا هي مجموعة من النوع ٢ من البروتينات المعطلة للرايبوسوم (RIPs) التي تنتج في عدة أنواع من الجراثيم وتمتلك السموم بنية AB<sub>5</sub> والتي تتكون من سلسلة A حفزية مع نشاط N-glycosidase وخمس سلاسل B متطابقة وتتعرف على الخلايا المستهدفة وترتبط بها مع شقوق كربوهيدراتية معينة. في الانسان الهدف الجزيئي الرئيسي الذي يتعرف على سموم الشيكيا هو مستقبل Gb3 والذي يتم التعبير عنه بشكل أساسي على سطح الخلايا البطانية للأمعاء والكلى والدماغ. هذا يجعل هذه الأعضاء عرضة لسموم الشيكيا. عندما يصاب الشخص بالجراثيم المنتجة لذيفان الشيكيا يتم

إنتاج السم في الأمعاء وينتقل إلى جهاز الدورة الدموية وينقل إلى الخلايا المستهدفة. تسبب سمية السم استجابات التهابية وتلفاً شديداً للخلايا في الأمعاء والكلى والدماغ مما يؤدي إلى متلازمة انحلال الدم اليوريمي (HUS) والتي يمكن أن تكون قاتلة. يتطلب توكسين الشيكا خطوتين لممارسة سميته على الخلايا المستهدفة. بعد الارتباط بمستقبل سطح الخلية المستهدفة يتطلب السم عملية معقدة ليتم نقلها إلى العصارة الخلوية للخلية قبل أن تتمكن من الاقتراب من الرايبوسومات (Chan and Ng, 2016). و الجدول (٢-٢) يوضح الخصائص الفيزيائية والكيميائية لذيوانات الشيكا (Chan and Ng 2016).

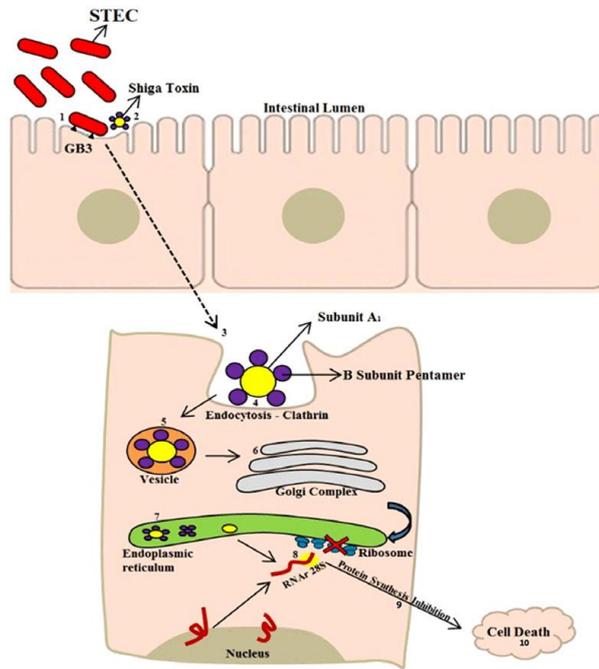
الجدول (٢-٢): الخصائص الفيزيائية والكيميائية لـ *Stx* و *Stx1* و *Stx2* (Chan and Ng 2016)

Stx2	Stx1	Stx	
STEC	STEC	<i>S. dysenteriae</i>	المصدر
AB <sub>5</sub>	AB <sub>5</sub>	AB <sub>5</sub>	التركيب
وحدة فرعية A: المجال التحفيزي مع نشاط N-glycosidase الوحدة الفرعية B: مجال يشبه الليكتين للتعرف على الكربوهيدرات	وحدة فرعية A: المجال التحفيزي مع نشاط N-glycosidase الوحدة الفرعية B: مجال يشبه الليكتين للتعرف على الكربوهيدرات	وحدة فرعية A: المجال التحفيزي مع نشاط N-glycosidase الوحدة الفرعية B: مجال يشبه الليكتين للتعرف على الكربوهيدرات	الوظيفة
A chain = 32 kDa B chain = 7 kDa	A chain = 32 kDa B chain = 7 kDa	A chain = 32 kDa B chain = 7 kDa	الوزن الجزيئي
تطابق ~٥٥% مع السلسلة A تطابق ~٥٧% مع السلسلة B	تطابق ~١٠٠% مع وجود اختلاف بحامض اميني واحد	التطابق ١٠٠%	تطابق الجيني مع Stx
غير مستقر: يفقد فعاليته عند ٨٥ سيليزية	غير مستقر: يفقد فعاليته عند ٦٥ سيليزية	غير مستقر: يفقد فعاليته عند ٦٥ سيليزية	الاستجابة للحرارة
مستقر عند pH < ٣.٥ ومستقر أكثر من Stx1 عند ٣ pH	مستقر عند درجة حموضة ٥-٩ ويفقد فعاليته عند 3 pH	مستقر عند pH ٩-٥	الاستجابة للـ pH

منخفضة	عالية	عالية	الألفة مع الكربوهيدرات
--------	-------	-------	------------------------

### ٢-١٣-٣: آلية عمل سموم الشيكيا

تعمل سموم الشيكيا على تثبيط تخليق البروتين داخل الخلايا المستهدفة بألية مشابهة لتلك الخاصة بالريسين وبعد دخول الخلية عن طريق macropinocytosis (Menge, 2020) يكون البروتين قاعدة أدنينية خاصة من الحمض النووي الريبوزي S٢٨ والوحدة S٦٠ من الريبوسوم كما موضح الشكل (٢)-١٢ (Castro, et al., 2017) مما ينتج عنه إيقاف تصنيع البروتين (Sandvig et al., 2010).

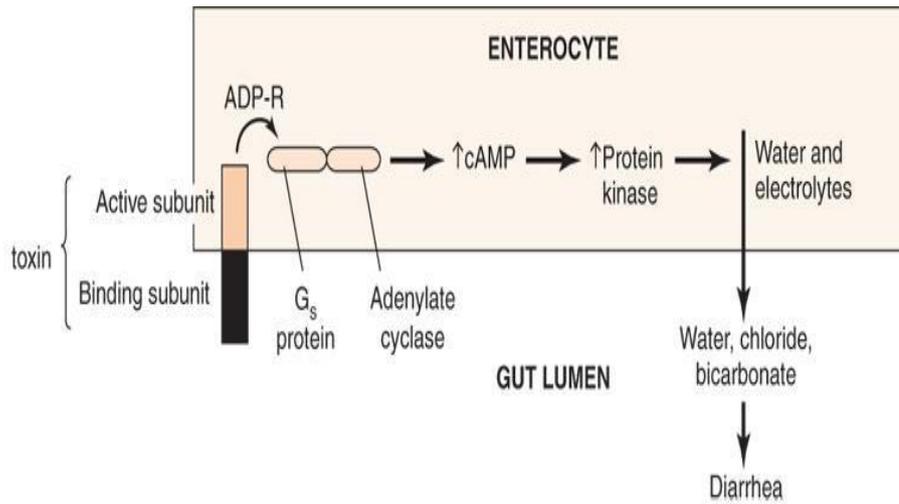


الشكل (١٢-٢): آلية عمل Shiga Toxin (Castro, et al., 2017).

### ٢-١٣-٤: آلية حدوث الإسهال بسبب الذيفانات Mechanism of Inducing

### Diarrhea by Toxins

ترجع آلية الإسهال الناجم عن السم المعوي إلى انتقال الجزء الفرعي من السم الذي يسمى الوحدة الفرعية A من تجويف الشبكة الإندوبلازمية إلى العصارة الخلوية للخلية المعوية حيث تتفاعل الوحدة الفرعية A مع العصارة الخلوية وتؤدي هذه العملية إلى تنشيط بروتين G مما يؤدي إلى تحفيز الأدينيل Adenyl Cyclase نتيجة لذلك يزيد Adenyl Cyclase من الأدينوسين أحادي الفوسفات Adenosine cyclic MonoPhosphate (cAMP) مما يؤدي إلى فتح منظم التوصيل الغشائي للتليف الكيسي (CFTR) fibrosis transmembrane conductance. يؤدي عدم التوازن التناضحي إلى سحب الماء إلى التجويف مما يؤدي إلى حدوث الإسهال (Kumar *et al.*, 2017) كما موضح في الشكل (٢-١٣).



الشكل (٢-١٣): آلية حدوث الإسهال بسبب الذيفانات المعوية (Warren, 2016)

## ١٤-٢: الخصائص الوبائية للإشريكية القولونية

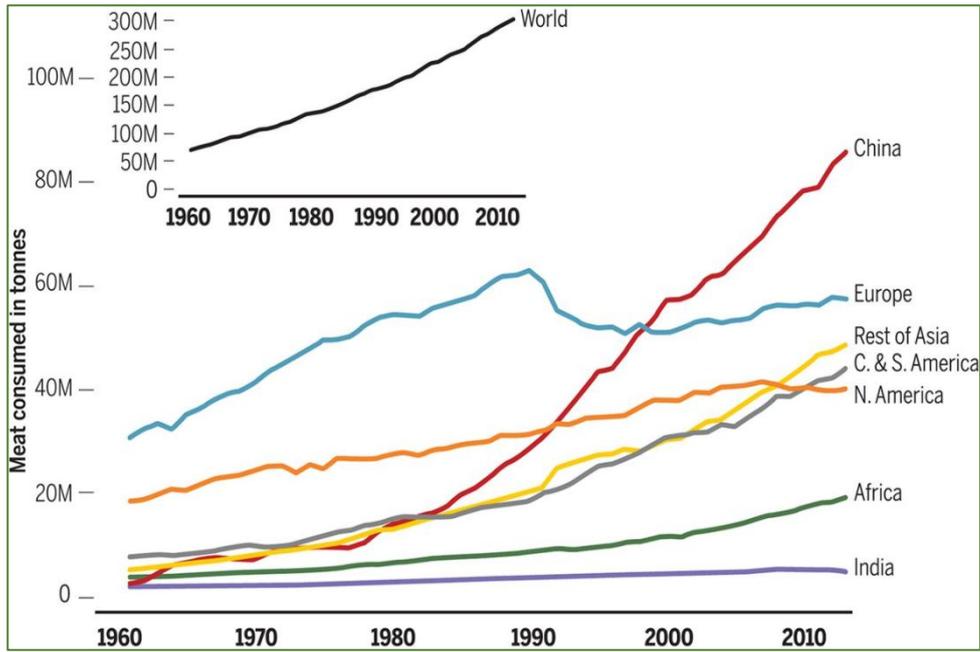
سجلت أول إصابة بجراثيم الإشريكية القولونية في عام ١٩٨٢ من خلال تناول اللحوم الملوثة بهذه الجراثيم تم طهيها بشكل غير صحيح (Riley, *et al.*, 1983) ويعد الحليب الغير معقم والفواكه والخضروات المغسولة بالماء الملوث بالإضافة إلى ذلك العدوى بالإصابة بالجراثيم عن طريق تناول السبانخ الملوثة بهذه الجراثيم من العوامل الرئيسية للإصابة بالإشريكية في الولايات المتحدة (Woo *et al.*, 2020). يتسم خطر الإصابة بهذه الجراثيم بظهور علامات المرضية التي تستغرق ٩٦ ساعة من الإصابة وأهم العلامات السريرية التي يمكن ملاحظتها هي الغيبوبة فالإنتان وأخيرا الموت (Pota *et al.*, 2021). توجد بعض سلالات جراثيم الإشريكية القولونية التي تسبب عدوى بالجهاز الهضمي والبولي عند

النساء والأطفال (Abdelrahim *et al.*, 2021)، أن معدل الإصابة عند النساء أعلى منه عند الرجال وذلك لسهولة انتقال الجراثيم من البراز إلى الجسم. المسالك البولية بسبب اختراق مجرى البول القصير عند النساء. تعتبر جراثيم الإشريكية القولونية مقاومة للمعدة والأحماض المعوية لذلك لديها القدرة على العيش في المعدة والتكاثر في القناة الهضمية (Xu *et al.*, 2020). أشارت دراسة في أمريكا الشمالية إلى أن إصابة الإنسان بجراثيم الإشريكية القولونية O157: H7 تُقدر بنحو ٧٥٠٠٠ حالة و ١٧ حالة اندلاع (Rangel *et al.*, 2005) والعدوى بالتمط المصلي O157: H7 يؤدي إلى الإصابة بمتلازمة انحلال الدم اليوريمي والتهاب القولون النزفي والإشريكية القولونية المنتجة لسموم الشيكات STEC O157: H7 هي واحدة من أكبر مسببات الأمراض التي تنتقل عن طريق الغذاء وترتبط بانديلاخ حالات الإسهال والعديد من الأمراض وأهمها متلازمة انحلال الدم اليوريمي والتهاب القولون النزفي في الإنسان (Cagil *et al.*, 2022). تعد المجترات وخاصة الأبقار من بين أهم الخزانات الطبيعية لسموم الشيكات وسم الشيكات ليس ممرضاً للأبقار (Kudva *et al.*, 2021). إن جراثيم الإشريكية القولونية المنتجة لسموم الشيكات STEC هي أحد أنواع جراثيم الإشريكية القولونية التي تسبب مشاكل كبيرة في الأماكن العامة إلا أنها مسئولة عن إصابة ١٠٠.٠٠٠ حالة سنوياً و ٩٠ حالة وفاة بشرية في أمريكا (Croxen *et al.*, 2013) أن الديدانات التي تنتج من قبل جراثيم الإشريكية القولونية قد عزلت من الأبقار السليمة بشكل خاص وفي المجترات بشكل عام وكذلك عزلت جرثومة الإشريكية القولونية من عدة حيوانات مختلفة مثل الأغنام والخنازير والأوز وطيور النورس والغربان والحمام والحيوانات الأليفة والقطط (Heredia and *et al.*, 2021; Skarżyńska *et al.*, 2020; Sapountzis *et al.*, 2020; García, 2018). أثبتت العديد من الدراسات الأمريكية وجود جراثيم الإشريكية القولونية في العديد من الحيوانات البرية مثل الغزلان وفضلاتها وهي بمثابة مخزن للجرثومة في الحياة البرية (Soare *et al.*, 2021). وكذلك تم العثور على الجراثيم في القروود والكلاب والخيول والفئران والقطط (Rahman *et al.*, 2020). وأشار العديد من الباحثين مؤخراً أن هذه الجراثيم تم عزلها من الرخويات (المحار) الموجود في المياه الساحلية الملوثة (Sharp *et al.*, 2021). بالإضافة إلى ذلك فقد تم عزل جراثيم الإشريكية القولونية من الأسماك التي تتواجد في السواحل الملوثة بمياه الصرف الصحي (Kamala *et al.*, 2022).

## ٢-١٤-١: مصادر جراثيم الإشريكية القولونية في اللحوم

مستويات استهلاك اللحوم ومنتجاتها لجميع بلدان العالم تعتبر أحد معايير التنمية بناءً على بيانات المعهد الإحصائي التركي حيث وجد إن استهلاك الفرد من اللحوم الحمراء في عام ٢٠٢٣ سيصل إلى ١٩.٨٥ كغم/ فرد وهو أعلى بنسبة ٣٩.٥٪ عن عام ٢٠١٧ في تركيا. يتأثر استهلاك اللحوم الحمراء بعوامل عدة مثل السعر والدخل ومعدل النمو السكاني السنوي ومن أهم هذه العوامل جودة اللحوم وسلامتها

(Aydogdu and Kucuk, 2018). ان زيادة استهلاك لحوم الابقار عالميا منذ عام ١٩٦٠ الى ٢٠١٠ زادت الكمية المستهلكة من ٥٠ مليون طن الى ٣٠٠ مليون طن متري، الشكل (٢-١٤) يوضح استهلاك



اللحوم (مليون طن متري) في مناطق مختلفة من العالم (Godfray et al., 2018).

الشكل (٢-١٤): استهلاك اللحوم (مليون طن متري) في مناطق مختلفة من العالم (Godfray et al., 2018).

بشكل عام تعد اللحوم مصدراً مهماً للعديد من العناصر الغذائية. وهي غنية بشكل خاص بالبروتينات ذات قيمة بيولوجية عالية و العناصر مثل الحديد والسيلينيوم والزنك وفيتامين B12 في الجدول (٢-٣) يوضح التركيب الكيميائي للحوم لحيوانات بالغة نموذجية بعد الصمّل الرمي (Toldrá, 2017).

الجدول (٢-٣): التركيب الكيميائي للحوم لحيوانات بالغة نموذجية بعد الصمّل الرمي (Toldrá, 2017).

النسبة المئوية	المركب الكيميائي	ت
٧٥ %	الماء	١
١٩ %	البروتين	٢
٢.٥ %	الدهون	٣

٤	الكربوهيدرات	١.٢ %
٥	مواد غير بروتينية قابلة للذوبان	٢.٣ %

تحتوي معظم اللحوم على نسبة عالية من الماء والتي تتوافق مع حوالي ٠.٩٩٪ من النشاط المائي وهي مناسبة لنمو الميكروبات. تعد اللحوم الحمراء من بين أكثر المواد الغذائية التي تم الإبلاغ عنها بسبب التلوث ونقلها لمسببات الأمراض من ضمنها جراثيم الإشريكية القولونية (Abass *et al.*, 2020).

تم الإبلاغ عن الإشريكية القولونية لمراكز السيطرة على الأمراض والوقاية منها (CDC) من عام ١٩٨٢ إلى عام ٢٠٠٢. في تلك الفترة أبلغت ٤٩ ولاية عن ٣٥٠ حالة اندلاع مرضي تمثل ٨٥٩٨ حالة و ١٤٩٣ (١٧٪) من حالات الاستشفاء و ٣٥٤ (٤٪) من حالات متلازمة انحلال الدم اليوريمي و ٤٠ (٠.٥٪) حالة وفاة. كان ١٨٣ (٥٢٪) حالة اندلاع مرضي عن طريق الطعام وكان لـ ٧٥ (٤١٪) من حالات اندلاع الأمراض المنقولة بالغذاء عبارة عن لحم الابقار المفروم. تم التعرف على النمط المصلي O157: H7 لأول مرة كعامل ممرض في عام ١٩٨٢ أثناء التحقيق في مسبب التهاب القولون النزفي (Riley *et al.*, 1983). يمكن أن تؤدي عدوى النمط المصلي O157:H7 إلى متلازمة انحلال الدم اليوريمي (HUS) والتي تتميز بفقر الدم الانحلالي ونقص الصفيحات وإصابة الكلى (Banatvala *et al.*, 2001). ومع ذلك ، لم يتم التعرف على النمط المصلي O157: H7 حتى عام ١٩٩٣ ، بعد اندلاع كبير متعدد الولايات في أمريكا، النمط المصلي O157: H7 المرتبطة ببطائر اللحم البقري المفروم غير المطبوخة جيداً والمباعة من قبل سلسلة مطاعم الوجبات السريعة (Bell *et al.*, 1994). من المعترف به على نطاق واسع أنه عامل ممرض مهم وخطير جدا. بدأت المختبرات السريرية بفحص المزيد من عينات البراز للكشف عن النمط المصلي O157:H7 (Boyce *et al.*, 1995). في عام ١٩٩٤ أصبح النمط المصلي O157:H7 عدوى يجب الإبلاغ عنها على المستوى الوطني وبحلول عام ٢٠٠٠ كان الإبلاغ إلزامياً في ٤٨ ولاية. ما يقدر بـ ٧٣٤٨٠ مرضاً بسبب عدوى النمط المصلي O157:H7 تحدث كل عام في الولايات المتحدة مما يؤدي إلى ما يقدر بـ ٢١٦٨ حالة دخول إلى المستشفى و ٦١ حالة وفاة سنوياً (Mead *et al.*, 1999) وهو سبب مهم للفشل الكلوي الحاد لدى الأطفال (Rangel *et al.*, 2005).

على الرغم من أن الاندلاعات المرضية المبلغ عنها لا تمثل سوى أقلية من حالات النمط المصلي O157:H7 الا انها تساهم بشكل كبير في فهم وبائيات النمط المصلي O157: H7 من خلال تحديد طرق الانتقال وآليات التلوث. وتلزم نتائج البحوث الهيئات التنظيمية ووكالات الصحة العامة بتقييم تدابير الوقاية والمكافحة بحيث يمكن منع اندلاع الأمراض المماثلة (Rangel *et al.*, 2005).

## ٢-١٤-٢: تلوث ايدي القصابين بجراثيم الإشريكية القولونية

تمثل حالات الاندلاع المرتبطة بملامسة الحيوانات طريق انتقال معترف به حديثاً لجراثيم للإشريكية القولونية في الولايات المتحدة حيث تتعرض جلود الماشية الى التلوث بواسطة البراز. قد يتعرض الأشخاص الذين يلمسون الماشية أو الأسطح في بيئة الماشية أيديهم الى التلوث بواسطة جراثيم الإشريكية القولونية (Rangel et al., 2005).

على الرغم من التدابير الصحية في مسالخ البلدية ومحال القصابة للحد من التلوث لا تزال جراثيم الإشريكية القولونية تشكل خطراً على الصحة العامة (Egbule et al., 2020). في الدراسة التي اجراها Sebsibe and Asfaw (2020) وجد ان القصابين لم يرتدون ملابس واقية نظيفة ولم يكن أي منهم يغسل ويظهر يديه وعدم استخدام أدوات المعالجة لتنظيف الأرضية بعد كل فترة عمل. تم استخدام نفس ألواح التقطيع والسكاكين لتقطيع اللحوم وأعضاء البطن وكما تم ذبح الحيوانات وسلخها وإزالتها ونزع أحشاءها ومسكها في قبضة اليد على نفس الأرضية دون الاهتمام لتجنب التلوث المتقاطع فكانت نسبة التلوث في ايدي العمال ١٣.٣ % (٣٠/٤). وفي دراسة أخرى اجراها Egbule وآخرون (٢٠٢٠) كانت جراثيم الإشريكية القولونية هي الأكثر انتشاراً في أيدي تجار التجزئة (٥٣.١%) والقصابين (٨٧.٥%) ويعزى سبب انتشار الجراثيم في أيدي تجار التجزئة والقصابين الى سوء ممارسات النظافة وعدم وجود دراية كافية في مجال سلامة الغذاء والذي كان يمكن أن يقلل من حوادث انتشار الامراض عن طريق تناول اللحوم.

## ٢-١٤-٣: تلوث مكائن فرم اللحم بجراثيم الإشريكية القولونية

ان الدراسات الوبائية للأمراض التي تنتقل عن طريق الأغذية بواسطة النمط المصلي O157: H7 حيث تبين أن هذه الأمراض مرتبطة بتلوث اللحم البقري المفروم (Banatvala et al., 1996; Roels, et al., 1997).

ذكر Elbadry وآخرون، (٢٠٢١) إن اللحوم المفرومة تستحق اهتماماً خاصاً لأنها توفر بيئة مثالية لنمو الجراثيم ويمكن أن تكون مصدراً للكائنات الدقيقة المسببة للأمراض والسموم. اشارت الدراسات السابقة ان مكائن فرم اللحم هي السبب في نشر النمط المصلي O157: H7 في اللحم المفروم واندلاع العدوى. في منطقة Bethel و Conn في الولايات المتحدة الامريكية عام ١٩٩٤.

وأشار Farrell وآخرون، (١٩٩٨) الى ان الدور الرئيسي لماكنة الفرمة في تلوث اللحوم فقد قام بتحقيق في وجود الجراثيم في ماكنة الفرمة وتقييم الإجراءات الصحية اذ تم الكشف عن التلوث في اللحم

المفروم الملوث نتيجة عمليات النقل والخلط والبنق والقطع داخل ماكينة الفرغ مما سمح للتلوث ان ينتشر الى اللحم غير ملوث. هذا التوزيع كان من خلال نشر سوائل اللحم البقري الملوثة بجراثيم الإشريكية القولونية على سطح اللحم البقري وعلى سطح المكونات الداخلية للماكينة (أي المحور والصامولة والشفرة والقالب) (Koochmaraie *et al.*, 2015). وجد (Adhikari, 2019) ان نسبة العزل لجراثيم الإشريكية القولونية من أسطح ماكينة فرغ اللحم هي  $9.8 \times 10^9$  cfu / سم<sup>2</sup> في مدينة طهران / السعودية وكذلك كانت نسبة العزل في مدينة كراتشي / باكستان  $7.5 \times 10^7$  cfu / سم<sup>2</sup> (Ali *et al.*, 2010) وكما عزل (Salem MO 2018) (أعلى قيمة وكانت  $2.5 \times 10^6 \pm 8.5 \times 10^4$  من المفرومة في محافظة الجيزة / مصر.

## ٢-١٤-٤: تلوث المناضد بجراثيم الإشريكية القولونية

أظهرت الدراسة التي اجراها Worku وآخرون، (2022) أن معدل انتشار جراثيم الإشريكية القولونية في عينات اللحم المفروم كانت (٣٦.١٪) والتي كانت ذات نسبة أقل مقارنة بعينات لوح التقطيع (٦٣.٩٪). يعد تلوث ألواح التقطيع أمراً شائعاً نظراً لوجود اتصال متكرر باللحوم أثناء البيع وعدم الغسل المنتظم لألواح التقطيع. تم الكشف عن النمط المصلي O157: H7 في مصانع لمعالجة اللحوم وفي متاجر البيع بالتجزئة وكانت نسبة العزل ٠.٨٪ من مسحات ألواح التقطيع (Abdissa *et al.*, 2017). كانت درجة المعرفة والممارسات الصحية المتعلقة بسلامة الغذاء بين النساء في دبي / الامارات المتحدة في جانب "منع التلوث المتبادل" كانت بنسبة (٦٢.٥٪)، كما سجلت معظم النساء نسبة عزل (٩٦.٥٪) في مجموعات منفصلة من ألواح التقطيع والسكاكين للخضروات واللحوم، بينما سجلت نسبة عالية (٩٣.١٪) حيث ينصح بغسل ألواح التقطيع بالماء الساخن والصابون بعد كل استخدام (Osaili *et al.*, 2022).

## ٢-١٤-٥: تلوث السكاكين بجراثيم الإشريكية القولونية

ان عزل بالنمط المصلي O157:H7 من السكاكين المستخدمة في محلات القصابة يشكل خطراً كبيراً على الصحة العامة وذلك من خلال التهديد المباشر على بيئة انتاج اللحوم وكذلك على صحة القصابين انفسهم (Gun *et al.*, 2003). بينما وجد إمكانية انتقال المسببات المرضية من اللحوم الى الخضار بواسطة السكاكين (McEvoy *et al.*, 2009).

التلوث الذي يحدث في مصانع تجهيز اللحوم والذي يسبب بانتقال العوامل المرضية ذلك من خلال استخدام الأدوات (مثل السكاكين) بشكل غير صحي وهذا يحدث في المطابخ المنزلية أيضاً (Zilelidou *et al.*, 2015). في عام ١٩٩٣ كانت هناك حوادث مستقلة للتلوث بين أصناف السلطة

واللحوم الطازجة من خلال استخدام نفس السكاكين ادت إلى انتشار النمط المصلي نوع O157 في أربعة مطاعم في الشمال الغربي للمحيط الهادئ (Jackson *et al.*, 2000). في عام ٢٠١٢ ظهرت جراثيم *Salmonella Paratyphi B* في ولاية كارولينا الشمالية يعزى بالمثل إلى التلوث بسبب استخدام نفس ألواح التقطيع وسكاكين لمناولة الأطعمة الجاهزة للأكل واللحوم والخضروات الطازجة (٢٠١٢، CDC).

## ٢-١٤-٦: تلوث الكلاب بجراثيم الإشريكية القولونية

الكلاب التي تعلق عليها الحيوانات المذبوحة أو قطع اللحم في محلات القصابية تعتبر كعامل لتلوث منتجات اللحوم بالجراثيم الإشريكية القولونية وباقي أنواع الجراثيم وذلك من خلال تجمع الذباب و الصراصير التي تتغذى على اللحم (Abong'o and Momba, 2009). تم احتساب القولونيات البرازية في عينات اخذت من محلات البيع بالتجزئة والمسلخ (سكاكين وكلاب وألواح تقطيع). اختلفت النتيجة من ٣.١١ لوغار يتم /cfu ٢ سم إلى ٧.٢٠ لوغار يتم /cfu ١٠ سم (Mengistu *et al.*, 2017).

كما أظهرت نتائج الدراسة التي اجراها (Bahir *et al.*, 2022) أن متوسط العد الكلي الذي تم الحصول عليه في الكلاب (٢.١٨ /  $\log_{10}$ CFU سم) وكانت جراثيم الإشريكية القولونية هي العزلة السائدة (٦٠٪) من بين أنواع الجراثيم المعزولة في تلك الدراسة. بينما كانت نسبة (TBC) العد الكلي الجرثومي في دراسة اخرى من ثلاث مجازر للحيوانات الكبيرة هي ٣.٨ ٢.٨ ٤.٢ /  $\log_{10}$ CFU سم (Laban *et al.*, 2021)

## ٢-١٥: تفاعل البلمرة المتسلسل Polymerase Chain Reaction

تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) polymerase chain reaction هو طريقة مستخدمة على نطاق واسع في البيولوجيا الجزيئية تنتج بسرعة بلايين النسخ من عينة DNA معينة مما يتيح للعلماء أخذ عينة صغيرة من الحمض النووي وتضخيمها إلى كمية كبيرة بما يكفي لدراستها بالتفصيل. تم اكتشاف تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل في عام ١٩٨٣ بواسطة كاري موليس. هذا التفاعل هو الأساس للعديد من الاختبارات الجينية بما في ذلك تحليل عينات الحمض النووي القديمة وتحديد العوامل المسببة للعدوى. باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل يتم تضخيم نسخ من كميات صغيرة جداً من تسلسل الحمض النووي في تسلسلات أو دورات من التغيرات في درجات الحرارة. تفاعل البلمرة المتسلسل شائع حالياً حيث يتم استخدامه في المختبرات الطبية والبحوث المخبرية السريرية في مجموعة واسعة من التطبيقات العملية بما في ذلك البحوث الطبية الحيوية والطب الشرعي (Luthra *et al.*, 2016).

تعتمد معظم طرق تفاعل البلمرة المتسلسل على التدوير الحراري يعرض التدوير الحراري المواد المتفاعلة لدورات متكررة من التسخين والتبريد مما يسمح بحدوث تفاعلات مختلفة تعتمد على درجة الحرارة لا سيما اندماج الحمض النووي ونسخ الحمض النووي المدفوع بالإنزيم. يستخدم تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) مادتين رئيسيين:

أولاً البادئات (جزء قصير من الحمض النووي أحادي الخيط يُعرف باسم قليل النوكليوتيد وهي سلاسل مكتملة للمنطقة المستهدفة من الحمض النووي) وثانياً بوليميريز الحمض النووي. في الخطوة الأولى من تفاعل البلمرة المتسلسل يتم فصل خيط DNA مزدوج الحلزون هيكلياً عند درجة حرارة عالية في عملية تسمى فصل الشريط المزدوج للحمض النووي. في الخطوة الثانية يتم خفض درجة الحرارة وربط البادئات بالتسلسلات التكميلية للحمض النووي ثم تصبح تسلسلات الحمض النووي قوالب لبوليميريز الحمض النووي لإجراء التجميع الإنزيمي لسلسلة DNA جديدة من النيوكليوتيدات الحرة وهي الأجزاء الأساسية للحمض النووي. مع تقدم تفاعل البلمرة المتسلسل يستخدم الحمض النووي نفسه نموذجاً للنسخ المتماثل مما يؤدي إلى تنشيط تفاعل تسلسلي يتم فيه تضخيم قالب الحمض النووي الأصلي بشكل كبير. يُوجد عددٌ من تطبيقات تفاعل البلمرة المتسلسل وتتضمن استنساخ الدنا بهدف تحديد التسلسل واستنساخ الجينات ومعالجتها وتطهير الجينات بالإضافة إلى بناء سلاسل مُستندة على الدنا أو التحليل الوظيفي للجينات وتشخيص ورصد الأمراض الوراثية وتضخيم دنا قديم وتحليل البصمات الجينية لتنميط الدنا (مثلاً في علم الأدلة الجنائية واختبار الأبوة بالدنا) والكشف عن مسببات الأمراض في اختبارات الحمض النووي لتشخيص الأمراض المعدية (Behlke et al., 2019).

## ٢-١٦: اختبار الحساسية Sensitivity test

هو عبارة عن اختبار لقياس حساسية أو مقاومة الجراثيم تجاه المضادات الحيوية Antibiotics ويتم إجراء هذا الاختبار للمساعدة في العثور على المضاد الحيوي الأكثر فعالية لقتل أو تثبيط الجراثيم الممرضة (Moo et al., 2020). والمضاد الحيوي عبارة عن مادة أو مركب ينتج من الكائنات الحية الدقيقة وله القدرة على تثبيط هذه الكائنات دون التأثير على خلايا الجسم المضيف بعضها له تأثير مميت والبعض الآخر له تأثير مثبت وبعضها محدود الطيف وبعضها له طيف واسع من المضادات الحيوية أي أنه يعمل على مجموعات مختلفة من الكائنات الحية الدقيقة تم اكتشافه لأول مرة من قبل العالم ألكسندر في عام ١٩٢٨ م بعد اكتشاف عقار بنسيلين بالصدفة. استخرج هوارد فلوري وأرنست تشين وانتشروا على نطاق أوسع في عام ١٩٤١ م (Ali et al., 2018). هناك عدة أنواع من مقاومة المضادات الحيوية بما في ذلك (MDR) multi drug resistant و (XDR) extensively drug resistant و (PDR) pan

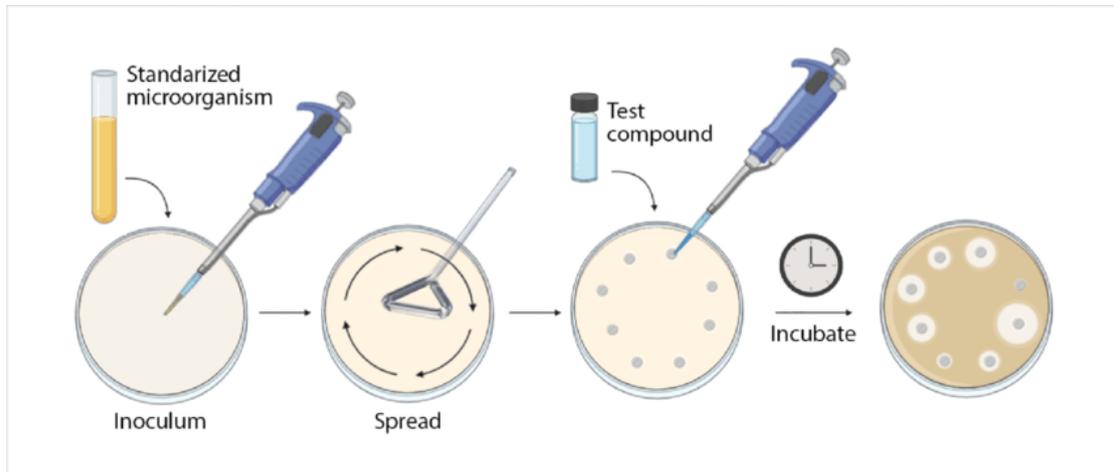
drug resistant. المقاومة من نوع MDR تعني أن الجراثيم مقاومة على الأقل لواحد من بين ٣ مضادات والمقاومة من نوع XDR تعني أن الجراثيم مقاومة لاثنتين أو لجميع المضادات الحيوية المأخوذة والمقاومة من نوع PDR تعني أن الجراثيم مقاومة لجميع المضادات الحيوية (Sabir *et al.*, 2020).

## ٢-١٦-١: أساليب اختبار حساسية المضادات الحيوية:

تشتمل اختبارات حساسية المضادات الحيوية (AST) على:

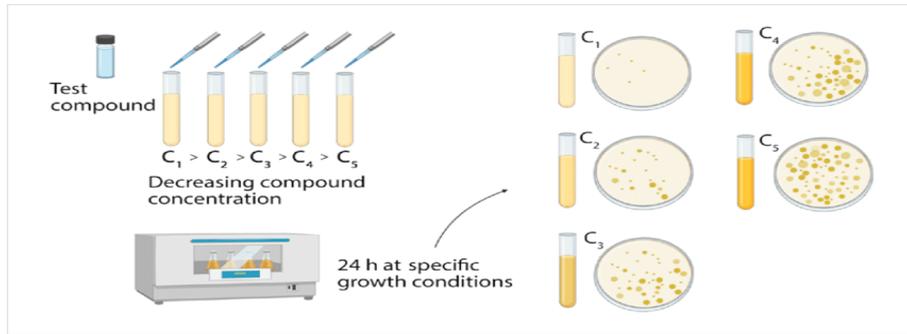
### ١. طرق AST النمطية

**طريقة الانتشار:** طريقة نشر القرص هي المعيار الذهبي لتأكيد قابلية الجراثيم. تم تقديم الانتشار القياسي للقرص من خلال تجارب باور وكيربي في عام ١٩٥٦. في هذه الطريقة يتم اختيار المستعمرة الجرثومية المعزولة وتعليقها في وسط النمو وتوحيدها من خلال اختبار التعكر. يتم بعد ذلك تلقيح المعلق المعياري على صفيحة أجار صلبة ويتم لصق الورق المعالج بالمضادات الحيوية على اللوحة الملقحة. يُسمح للقرص الذي يحتوي على المضاد الحيوي بالانتشار من خلال الأكار المتصلب مما يؤدي إلى تكوين منطقة تثبيط بعد الحضانة طوال الليل عند ٣٥ درجة مئوية. بعد ذلك يتم قياس حجم منطقة التثبيط المتكونة حول قرص الورق حجم منطقة التثبيط يتوافق مع تركيز المضاد الحيوي (Khan *et al.*, 2019) والشكل (٢-١٦) يوضح طريقة الانتشار لفحص الحساسية (Correa *et al.*, 2020).



الشكل (٢-١٦) طريقة الانتشار لفحص الحساسية (Correa *et al.*, 2020)

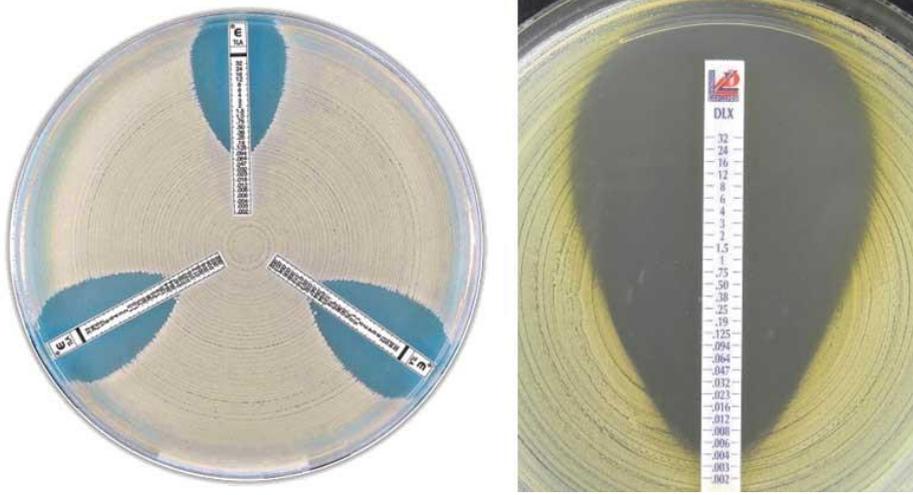
**طريقة التخفيف:** كان التخفيف أحد أقدم الأدوات في الممارسة الميكروبيولوجية بدءاً من أوائل سبعينيات القرن التاسع عشر وهو يسمح بنمو وتحديد التجمعات الجرثومية المعقدة. تم تصنيف Lister و Pasteur و Ehrlich و Koch على أنهم رواد في مجال علم الجراثيم وعملوا على مفهوم التخفيف الكبير. ساهم ويليام روبرتس وجون تندال كذلك في طريقة التخفيف الكبير ولاحظوا نمو الجراثيم في وسط مخفف. النوعان الأساسيان للتخفيف هما التخفيف الدقيق والتخفيف الكلي حيث يكون المرق والأكار أكثر الوسائط شيوعاً في تخفيف المرق يتم عمل التخفيفات المتتالية ذات الشقين (١ ٢ ٤ ٨ ١٢ ميكروليتر) من المضادات الحيوية وتوزيعها في أنابيب الطرد المركزي الدقيقة التي تحتوي على وسط نمو جرثومي متبوعاً بتكوين الحجم النهائي بإضافة الوسط واحتضان طوال الليل عند ٣٥ درجة مئوية. أخيراً يتم إجراء فحص النمو لتحديد نقطة التوقف من خلال تعكر وسط الاستزراع (Khan et al., 2019). كما في الشكل (١٧-٢) يوضح طريقة التخفيف لفحص الحساسية (Correa et al., 2020).



الشكل (١٧-٢) طريقة التخفيف لفحص الحساسية (Correa et al., 2020)

**اختبار Epsilonometer (Etest):** اختبار Epsilonometer (Etest) هو تطور مهم آخر للتحليل الروتيني لمقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية على نطاق واسع. في أواخر الثمانينيات طور بولمستروم وإريكسون هذا الاختبار. صنعت AB BIODISK أول شريط بلاستيكي من E test لفحص المضادات الحيوية المتعددة على منصة واحدة في عام ١٩٩١. يتم تغليف شرائط E test البلاستيكية بتركيزات محددة مسبقاً من المضادات الحيوية ويتم تمييز نطاقات Minimum inhibitory concentrations (MIC) التفسيرية المقابلة على سطح الشريط وخلفه على التوالي. للكشف يتم وضع شرائط متعددة على صفيحة أجار مخططة مقلحة مسبقاً عليها حضانة لمدة ٢٤ ساعة؛ تظهر مناطق التنشيط الإهليجي حول الشرائط مما يشير إلى MIC عند نقطة التقاطع بين منطقة التنشيط وحافة الشريط كما في الشكل (١٨-٢). إن بساطة ودقة وموثوقية E test يجعلها مناسبة وملائمة للتسويق التجاري المعتمد من إدارة الغذاء والدواء (FDA). جعلت القدرة على التفسيرات الملائمة لـ MIC في ظل ظروف فيزيائية متنوعة من Etest طريقة

تفضيلية على تقنيات الانتشار والتخفيف المعيارية للقرص في المختبرات السريرية لـ AST (Khan *et al.*, 2019).



الشكل (٢-١٨): اختبار (Etest) Epsilon-meter (Khan *et al.*, 2019).

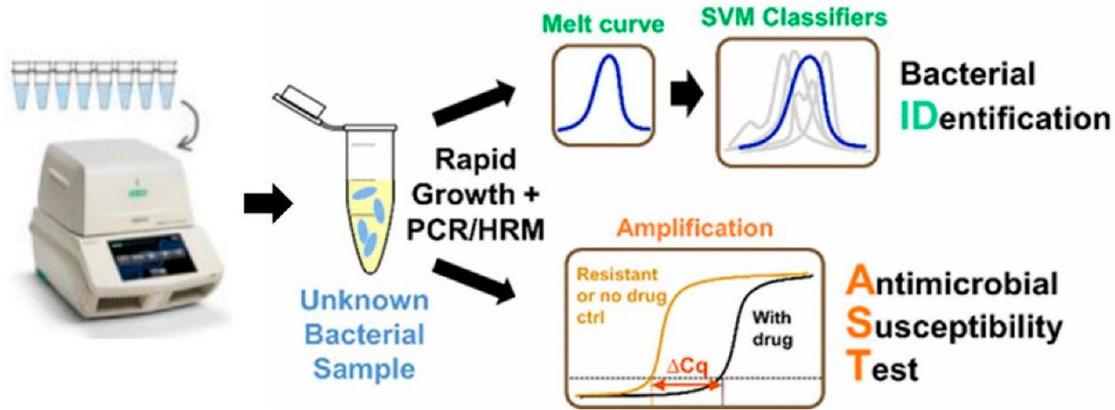
#### قياس الطيف الضوئي للكتلة MALDI-TOF MS :

الذي تم تقديمه في عام ٢٠٠٠ هو طريقة أخرى حساسة لتحديد الجراثيم. الحساسية العالية والدقة هي الخصائص الرئيسية التي تجعلها طريقة مفيدة للأهمية السريرية. تكشف الدراسات المتنوعة أهميتها في تمييز MRSA و MSSA والسلالات الجرثومية الأخرى حيث تم تقييم الجراثيم الحساسة والمقاومة من خلال تحليل الذروة (Khan *et al.*, 2019).

**الأنظمة الآلية:** منذ فجر التقنيات الآلية في الثمانينيات كانت اختبارات الحساسية للمضادات الحيوية مرتجلة على الدوام وبالتالي حلت محل الطرق المظهرية التقليدية. الأتمتة والبساطة هي الأسباب الرئيسية لقبولها على نطاق واسع في التشخيص. سمح تكامل الكمبيوتر بالتحليل عبر الإنترنت ومشاركة البيانات وهي قفزة عملاقة للتحقق من صحة النتائج خاصة في المناطق النائية (Khan *et al.*, 2019).

**٢. طرق AST الوراثية:** إن إنزيم AST الجزيئي أو الوراثي هما طريقتان مباشرتان فعالتان للقضاء على النمو الجرثومي ولا تحتاج إلى فترة حضانة طويلة وفرص التلوث فيها وانتشار العدوى المميتة تكون شبه معدومة. تعد رقائق PCR و DNA microarray و DNA والتضخيم الحراري بواسطة الحلقة loop-mediated isothermal amplification (LAMP) بعضاً من تقنيات النمط الجيني للكشف عن مقاومة المضادات الحيوية. التقييم الطفري لمقاومة الميثيسيلين في *Staphylococcus spp.* ومقاومة الفانكوميسين في *Enterococcus spp.* ومقاومة المضادات الحيوية المتعددة (أيزونيازيد ريفامبين

ستربتومايسين بيرازيناميد وفلوروكينولونات) في *Mycobacterium spp.* تم تقديرها بنجاح من خلال تقنيات وراثية مختلفة كما في الشكل (١٩-٢) يوضح طرق AST الوراثية (Khan *et al.*, 2019).



الشكل (١٩-٢): طرق AST الوراثية (Khan, *et al.*, 2019).

٣. الطرق الناشئة لـ AST: تعتبر التشخيصات القائمة على الموائع الدقيقة واحدة من أكثر الأدوات الناشئة الواعدة لـ AST. الموائع الدقيقة هو مجال متطور يتميز بمعالجة السوائل في الحجم الصغير مما يوفر إمكانية النقل والفعالية من حيث التكلفة وتعدد الإرسال ويمكن التحكم فيها في نظام المختبر. تم تقديم هذا المفهوم لأول مرة في صناعات أشباه الموصلات والأنظمة الكهروميكانيكية الدقيقة Micro-MEMS ElectroMechanical Systems (MEMS) ثم امتد إلى مجال البحوث الطبية الحيوية. أجهزة السوائل الدقيقة المتكاملة التي يشار إليها عمومًا بأنظمة التحليل الكلي الجزيئي Micro Total Analysis Systems (μTAS) وهي بارعة في إجراء التشخيص الجزيئي (Khan *et al.*, 2019).

## الفصل الثالث

### المواد وطرائق العمل

## Materials and Methods

### ٣-١ : المواد Materials

#### ٣-١-١ : الأجهزة والادوات المستخدمة في الدراسة

#### الجدول ٣-١ : الأجهزة والادوات المستخدمة في الدراسة

الشركة المصنعة	الأجهزة والادوات	ت
Hirayama (Japan)	المؤصدة Autoclave	١
ADAM	ميزان الكتروني حساس Electronic Balance	٢
Memmert (Germany)	حاضنة Incubator	٣
4 Lab Tech (Denmark)	كابينة الزرع الجرثومي Laminar Air Flow	٤
Local market	كابينة تحضير مزيج تفاعل البلمرة Clean Bench	٥
VESTEL (Turkey)	ثلاجة (٤م) Refrigerator	٦
Profilo (Turkey)	مجمدة عمودية (-٢٠م) Deep Freezer	٧
ARCTIKO (Germany)	مجمدة عمودية (-٨٦م) Deep Freezer	٨
Elektro.Mag (Turkey)	جهاز التقطير Water Distillator	٩
LABINCO(Germany)	محرز مغناطيسي Magnetic Stirrer	١٠
Hanna (India)	جهاز قياس الاس الهيدروجيني pH Meter	١١
Memmert (Germany)	حمام مائي Water Bath	١٢
KRUSS (Germany)	مجهر ضوئي Microscope	١٣
Nüve (Turkey)	جهاز طرد مركزي Centrifuge	١٤
Eppendorf (Germany)	جهاز طرد مركزي دقيق Micro-centrifuge	١٥

Biometra (Germany)	Thermocycler	جهاز البلمرة الحراري	١٦
Biometra (Germany)	Gel Electrophoresis	جهاز الترحيل الكهربائي	١٧
Biometra (Germany)	UV Transilluminator	جهاز قراءة الهلام	١٨
DRAGON LAB (Germany)	Vortex	خلاط منضدي	١٩
BOMANN (Turkey)	Microwave Oven	مايكرويف	٢٠
Himedia (India)	Standard Wire Loop	ناقلة الزرع	٢١
OEM(China)	Disposable Loop	ناقلة الزرع بلاستيكية	٢٢
Gilson (French)	Microliter Pipettes	ماصات دقيقة	٢٣
OEM (China)	Petri Dishes	أطباق بتري	٢٤
Biozek (Netherlands)	Sterilized Cotton Swabs	مسحات قطنية عقيمة	٢٥
OEM (China)	Tips	رؤوس الماصات (أحجام مختلفة)	٢٦
OEM (China)	Microscopic Slides	شرائح زجاجية	٢٧
Citoglass (China)	Test Tubes	أنابيب اختبار زجاجية	٢٨
OEM (China)	Test Tubes	أنابيب اختبار بلاستيكية	٢٩
OEM (China)	Disposable Syringes	حقن طبية	٣٠
Geneaid (Korea)	PCR Tubes 0.2ml	أنابيب تفاعل سلسلة البلمرة	٣١
Geneaid (Korea)	Eppendorf Tubes 1.5 ml	أنابيب ايندروف	٣٢
Citoglass (China)	Conical Flask	دورق مخروطي (أحجام مختلفة)	٣٣
Citoglass (China)	Beaker	كأس زجاجي (بيكر)	٣٤
Citoglass (China)	Graduated Cylinder	الاسطوانة المدرج	٣٥
Citoglass (China)	Watch Glass	زجاجة ساعة	٣٦
OEM (China)	Filter Paper	ورق الترشيح	٣٧
Citoglass (China)	Funnels	اقماعات زجاجية	٣٨

## ٣-١-٢: المواد الكيميائية والكواشف والمحاليل والصبغات

الجدول ٣ - ٢: المواد الكيميائية والكواشف المستخدمة في الدراسة

الشركة المصنعة	المواد الكيميائية	ت
BDH (England)	Hydrogen Peroxide بيروكسيد الهيدروجين	1
Chem-Lab (Belgium)	Ethanol كحول ايثيلي (٧٠%)	٢
BDH (England)	Absolut Ethanol كحول ايثيلي مطلق (٩٩,٥%)	3
Germany	Paraffin Wax شمع البارافين	4
Himedia (India)	Glucose كلوكوز	5
BDH (England)	Glycerol كليسيرول	6
BDH(England)	Boric acid حامض البوريك	7
BBL (UK)	Potassium Hydroxide هيدروكسيد البوتاسيوم	8
BBL (UK)	ترس-(هيدروكسي مثيل)أمينو ميثان Tris-(hydroxymethyl)Aminomethane	٩
Promega (USA)	Agarose الأكاروز	10
BioBasic INC (USA)	محلول دارى الترحيل الكهربائي Tris Borate EDTA TBE Solution (10X)	١١
Bioneer (Korea)	Deionized Sterile (D.W) ماء معقم منزوع الايون	12
BioBasic (Canada)	Ethidium Bromide صبغة بروميد الاثيديوم	13
BioBasic (Canada)	Ladder (100bp) الدليل الحجمي	14
Promega (USA)	Loading Dye صبغة التحميل	15
BBL (UK)	كاشف الأوكسيديز Tetramethyl-P-Phenylenediamine Dihydrochloride	16
Arcomex –Jordon	Kovac's Reagent كاشف كوفاكس	17
Vac and Seralnst	Voges-Proskauer كاشف فوكس- بروسكاور	18
Atom Scientific (UK)	Gram Stain صبغة كرام	19
BDH(England)	Methyl Red المثيل الأحمر	20
BDH (England)	Oil Immersion زيت العدسات	21

### ٣-١-٣: الأوساط الزرعية والكيموحيوية Cultural and Biochemical Media

تم استخدام عدد من الأوساط الزرعية والكيموحيوية خلال هذه الدراسة وكما يلي:

الجدول ٣-٣: الأوساط الزرعية والكيموحيوية

الشركة (المنشأ)	الأوساط الزرعية والكيموحيوية	ت
Himedia (India)	وسط الكروم Chromogenic <i>E. coli</i> O157:H7 agar	١
Oxoid (England)	وسط أكار الماكونكي MacConkey agar	٢
Himedia (India)	وسط أكار الأيوسين مثلين الأزرق Eosin Methylene Blue Agar	٣
Oxoid (UK)	وسط المتالق Brilliance <i>E. coli</i> / coliform agar	٤
LABM™(UK)	ماء البيبتون Peptone water	٥
Oxoid (England)	وسط اكار الدم Blood Agar	٦
Himedia (India)	وسط المرق المغذي Nutrient Broth	٧
Oxoid (England)	وسط ثلاثي سكر لحديد Triple Sugar Iron Agar (TSI)	٨
Himedia (India)	سط سترات سايمون Simmon Citrate Agar	٩
Oxoid (England)	وسط اكار مولر-هنتون Muller-Hinton Agar	١٠

### ٣-١-٤: تحضير مكونات مزيج تفاعل البلمرة PCR master mix preperation

تم استخدام عدة المزيج المجهزة من (Eurofins Germany) من أجل تشخيص الجين *uidA* لجراثيم الاشريكية القولونية نوع O157:H7 والجينين *Stx1* و *Stx2* لتحديد بعض عوامل الضراوة بواسطة تفاعل البلمرة المتسلسل وتم تجهيز خليط التضخيم الخاص بالتفاعل كما في الجدول (٣-٦).

الجدول (٤-٣) مكونات مزيج التفاعل البلمرة المتسلسل وتراكيزها

مكونات المزيج	الحجم	التركيز
PCR water	5.5 µl	-
Master mix	12.5 µl	-
Primer F.	1 µl	10 pmol
Primer R.	1 µl	10 pmol
DNA	5 µl	25-100 ng
Total	25 µl	

## ٥-١-٣: البادئات:

من أجل تشخيص الجينات المراد الكشف عنها في هذه الدراسة استخدمت ثلاثة بادئات تم الحصول عليها من أجل تشخيص الجنس وعوامل الضراوة لجرثومة الاشريكية القولونية إذ تم إعداد البادئات وفقا لمعلومات الشركة المصنعة *uidA* و *Stx1* و *Stx2* تم استخدامه حسب (Fujioka, et al., 2013) (Moyo, et al., 2007) كما موضح في الجدول (٥-٣)

الجدول (٥-٣) البادئات وتسلسلها وحجم الناتج

References المصادر	Product size (bp)	Primer sequence (5 to 3) التسلسل	Primers البادئات
(Moyo, et al. 2007)	٦٢٣	5-CCAAAAGCCAGACAGAGT-3	F
		5-GCACAGCACZTCAAAGAG -3	R
(Fujioka, et al. 2013)	٣٤٧	5-AGTTAATGTGGTGGCGAAGG-3	F
		5-CACCAGACAATGTAACCGC-3	R
(Fujioka, et	5٩٢	5- TTCGGTATCCTATTCCCGG-3	F

al. 2013)	5- CGTCATCGTATACACAGGAG-3	R
-----------	---------------------------	---

### 3-1-6: العدد المختبرية الجاهزة Commercial Laboratory Kits

استعملت عدة جاهزة لاستخلاص الـ DNA و عدة مزيج تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR).

الجدول 3-6: العدة المستخدمة لاستخلاص الـ DNA .

الشركة المصنعة (المنشأ)	المكونات	العدة	ت
Geneaid (Korea)	- GT Buffer 30 ml - GB Buffer 40 ml - W1 Buffer 45 ml - Wash Buffer 100 ml with Ethanol - Elution Buffer 30 ml - Proteinase K 1.1 with Deionized Sterile Distal Water - GD Columns 100 pcs - 2ml Collection Tubes 100 pcs	عدة استخلاص الحمض النووي المجيني Genomic Mini Kit	1
BioBasic (Canada)	الدليل الحجمي (١٠٠-١٠٠٠) زوج قاعدي Ladder		2
Promega (USA)	- Taq Polymerase - dNTP. (dATP, CTP, dATP, dTTP) - Reaction Buffer, With MgCl <sub>2</sub> , KCl <sub>2</sub> 30mM - Tris-HCl (pH 9.0) 10mM - Stabilizer and Tracking Dye (Loading Dye)	Master Mix عدة مزيج تفاعل البلمرة المتسلسل	3

### 7-1-3 المضادات الحيوية واختبار فحص الحساسية Antibiotics and Sensitivity

#### .Test

تم استخدام ١٢ نوع للمضادات الحيوية لإجراء فحص الحساسية للبكتريا خلال هذه الدراسة وكما موضح في الجدول (٣-7):

#### الجدول ٣-7: أنواع المضادات الحيوية

ت	المضاد الحيوي	الرمز	تركيز المضاد ميكروغرام/القرص	الشركة المصنعة (المنشأ)
1	جنتاميسين	GEN	١٠	Bioanalyses (Turkey)
2	تتراسايكلين	TET	١٠	
3	اريثرومايسين	ERY	١٠	
٤	سيبروفلوكساسين	CIP	١٠	
5	اموكسيسيلين	AX	٢٥	
6	كلورمفينيكول	CHL	١٠	
7	سيفكسيم	CFM	١٠	
8	ترامثريم	TR	٥	
9	نيتروفورنتين	NIT	١٠٠	
10	سيفالوثين	KF	٣٠	
1١	ستر بتومايسين	STR	١٠	
١٢	سيفترياكسون	CRO	٥	

**٣-٢: طرائق العمل.****٣-٢-١: التعقيم.**

عقم الأوساط الزراعية والمحاليل والأسطح والمواد المعدنية بالطرق التالية :

**٣-٢-١-١: تعقيم الأوساط الزراعية والأوساط المغذية والمحاليل.**

عقمت جميع الأوساط الزراعية الجاهزة والتركيبية وأغلب المحاليل المستعملة في هذه الدراسة والتي لا تتأثر بالحرارة بجهاز المؤسدة (Autoclave) بدرجة حرارة ١٢١م° وتحت ضغط ١٥ باوند/أنج<sup>٢</sup> لمدة دقيقة ١٥ (Solon and Killeen, 2019).

**٣-٢-١-٢: التعقيم بالترشيح.**

عقمت قسم من المحاليل التي تتأثر طبيعتها بالحرارة مثل السكريات وبعض الصبغات باستعمال وحدات الترشيح الدقيقة ذات قطر 0.22 مايكرومتر (Taylor et al., 2021).

**٣-٢-١-٣: التعقيم بالتهيب المباشر.**

تم تعقيم المواد المعدنية مثل ناقل الزرع (Standard Wire Loop) المعدني والطاعن المعدني والأسطح المعدنية والناشر الزجاجي بالتهيب المباشر (Elbing and Brent, 2019).

**٣-٢-١-٤: التعقيم بالمحاليل المعقمة**

استخدمت المعقمات مثل (الكحول الأيثلي ٧٠% والديتول) لتعقيم اليدين والأدوات المختبرية المستخدمة في الدراسة وكذلك تم استخدام المعقمات في تعقيم الأسطح وارضية المختبر (Solon and Killeen, 2019).

**٣-٢-١-٥: التعقيم بالأشعة فوق البنفسجية (UV rays).**

عقمت المواد المعدنية والبلاستيكية مثل (الأدوات المستخدمة بالزرع الجرثومي واطباق بتري والانابيب الاختبار...الخ) بالأشعة فوق البنفسجية (Kalate, 2021).

### ٣-٢-٢: تحضير الأوساط الزراعية.

استخدمت عدة أوساط زرعية في هذه الدراسة وحضرت كمايلي:

#### ٣-٢-٢-١: تحضير وسط الأيوسين مثيلين الأزرق.

حضر هذا الوسط بالاعتماد على التعليمات الخاصة بالشركة المصنعة إذ تم إذابة ٣٧.٥ غم من وسط الأيوسين مثيلين الأزرق في ٨٠٠ مل الماء المقطر وتكملته الى ١ لتر ومن ثم تسخين الوسط الى أن يذوب الوسط بالكامل ويصبح رائقا وبعدها يوضع الوسط في جهاز المؤصدة لغرض التعقيم بعدها يتم صب الوسط في اطباق بتري المعقمة ويترك الوسط الى حين أن يبرد ويتصلب واستخدم كوسط انتخابي لعزل جرثومة الاشريكية القولونية, MacFaddin, (2000).

#### ٣-٢-٢-٢: تحضير وسط الماكونكي

حضر هذا الوسط بالاعتماد على التعليمات الخاصة بالشركة المصنعة إذ تم تحضير الوسط بإذابة ٥١.٥ غم في ٨٠٠ مل الماء المقطر وتكملته الى ١ لتر ومن ثم تسخينه الى حين إذابة الوسط بشكل كامل وبعد ذلك عقم بوضع الوسط داخل جهاز المؤصدة. بعد التعقيم صب الوسط في أطباق بتري وترك الوسط ليتصلب (MacFaddin, 2000).

#### ٣-٢-٢-٣: تحضير وسط المتألق *Brilliance E. coli /coliform agar*

اعتمدت التعليمات الخاصة بالشركة المصنعة في تحضير هذا الوسط، أذيب ٥٥.٨ غم من الوسط في ٨٠٠ مل الماء المقطر وتكملته الى ١ لتر وعقم باستخدام جهاز المؤصدة والوسط في أطباق بتري المعقمة وتترك كي تبرد ويتصلب الوسط (Lee et al., 2021).

#### ٣-٢-٢-٤: تحضير وسط الكروم *Chromogenic E. coli O157:H7 agar*

تم تحضير الوسط عن طريق إذابة ٢٨.٨٥ غم في ٨٠٠ مل الماء المقطر وتكاملته الى ١ لتر وتسخينه إلى ١٠٠ م° ببطء ويقاس الأس - الهيدروجيني بحيث يكون ٦.٨ ثم يعقم بواسطة المؤسدة ثم يبرد إلى ٤٥ درجة مئوية ويصب الوسط في أطباق بتري المعقمة ويترك حتى يتصلب ومن ثم يستخدم كوسط كاشف عن النمط المصلي O157:H7 (Al-Saadi et al., 2018).

### ٣-٢-٢-٥: تحضير وسط مولر هنتون

تم تحضير الوسط بإذابة ٣٨ غم في ٨٠٠ مل من الماء المقطر وتكاملته الى ١ لتر وتعقيمه بالمؤسدة ثم وزع في اطباق بتري وترك ليبرد ويتصلب وتم استخدامه كوسط في إختبارات الحساسية للمضادات الحيوية (Åhman et al., 2020)

### ٣-٢-٢-٦: تحضير وسط اختبار إنتاج الاندول

استخدم هذا الوسط لمعرفة قدرة الجراثيم على إنتاج حلقة الاندول Indole Production حضر الوسط بإذابة ٧٣ غم من البيبتون في ٨٠٠ مل من الماء المقطر وتكاملته الى ١ لتر ثم وزع المحلول في أنابيب اختبار زجاجية معقمة بعد أن ضبط الأس الهيدروجيني ليكون متعادلا ثم تعقيمه بالمؤسدة (Harrigan and McCance, 2014).

### ٣-٢-٢-٧: تحضير وسط المثيل الأحمر

حضر كاشف المثيل الأحمر وذلك بإذابة ٠.١ غم من المثيل الأحمر في ٣٠٠ مل من الكحول المثيلي بتركيز ٩٥% ومن ثم أكمل الحجم الى ٥٠٠ مل بإضافة ٢٠٠ مل من الماء المقطر وأصبح الكاشف جاهزاً للتحري عن قابلية جرثومة الأشريكية القولونية على تخمر سكر الكلوكوز (MacFaddin, 2000).

### ٣-٢-٢-٨: تحضير وسط فوكس- بروسكاور

تم تحضير كاشف فوكس بروسكاور كما يلي:

١. محلول الفانفتول ٥ %.

تم التحضير بإذابة ٥ غم من الفانفتول في ١٠٠ مل من الكحول الأيثيلي بتركيز ٩٥%.

٢. محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 40 KOH %.

يتم تحضير هذا المحلول بإذابة ٤٠ غم من هيدروكسيد البوتاسيوم في ١٠٠ مل من الماء المقطر.

تم إجراء هذا الإختبار بنقل عدد من مستعمرات الجرثومة الى أنابيب الإختبار الحاوية على الوسط الزراعي MR.VP. Agar وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م° ولمدة ٢٤ ساعة وبعد ذلك أضيف ١ مل من الكاشف الى كل أنبوبة مع التحريك الهادئ ثم ترك ساكنا لمدة ١٠- ١٥ دقيقة واستدل على النتيجة الموجبة بظهور اللون الأحمر ويرجع السبب في تغير اللون في الوسط الى قابلية الجرثومة على تحليل سكر الكلوكوز جزئيا (MacFaddin, 2000).

### ٩-٢-٢-٣: تحضير وسط استهلاك السترات

حضر الوسط بإذابة ٣٧ غم في الماء المقطر وتكلمته الى ١ لتر ثم عقم بالمؤصدة ووزع في أنابيب اختبار زجاجية (٥ مل لكل أنبوبة) ثم ترك الوسط بصورة مائلة ليبرد وحفظ بالثلاجة لحين الإستعمال. إستخدم هذا الوسط للكشف عن قابلية الجراثيم على إستهلاك السترات كمصدر للكربون والأمونيا كمصدر وحيد للنترجين (Tortora et al., 2015).

### ١٠-٢-٢-٣: تحضير وسط الحديد والسكر الثلاثي

حضر وسط Triple Sugar Iron agar بحسب التعليمات الخاصة بالشركة المصنعة وذلك بإذابة ٣٧ غم من الوسط في الماء المقطر وتكلمته الى ١ لتر ومن ثم وزع الوسط على أنابيب الإختبار المعقمة ٥ مل لكل أنبوبة ومن ثم عقم باستخدام جهاز المؤصدة وبعد إجراء التعقيم يتم ترك الوسط بصورة مائلة الى ان يبرد واستخدم الوسط للكشف عن تخمر السكريات وإنتاج الغازات (Tille, 2014).

### ٣-٢-٣: تحضير الكواشف والمحاليل

#### ١-٣-٢-٣: تحضير كاشف اختبار الأوكسديز

حضر الكاشف أنيا بإذابة ٠,١ غم من مادة Tetra methyl-P-phenylene diamine في ١٠ مليلتر من الماء المقطر المعقم إذ تم استخدامه للكشف عن قابلية الجراثيم على إنتاج إنزيم الأوكسديز (MacFaddin, ٢٠٠٠).

**٣-٢-٣: تحضير كاشف اختبار الكتاليز**

حضر بتركيز ٣% من بيروكسيد الهيدروجين  $H_2O_2$  واستعمل في الكشف عن قدرة العزلات الجرثومية على إنتاج إنزيم الكتاليز (Holding and Collee, 1971).

**٣-٣-٢: تحضير كاشف كوفاكس (Kovac's reagent)**

حُضِر الكاشف بإذابة ١٠ غم من (p-dimethyl amino benzaldehyde) في ١٥٠ مل من كحول الأيزوأميل (Isoamyl Alcohol) ثم إضافة ٥٠ مل من حمض الهيدروكلوريك المركز (Concentrated Hydrochloric acid) ببطء. ليصبح لون الكاشف أصفر وبعدها حفظ في قنينة معتمة في الثلاجة وأستخدم في اختبار الأندول.

**٣-٢-٤: عزل الجراثيم****٣-٢-٤-١: جمع العينات**

جمعت عينات لحوم العجول ومسحات اخذت من محلات القصابة لمناطق مختلفة في مدينة الموصل شملت كلا جانبي المدينة (الايمن والايسر). كان المجموع الكلي للعينات التي تم جمعها خلال فترة الدراسة هو ٥٠٤ عينة لحم ومسحات اخذت من (ايدي العمال والسكاكين والكالليب وماكنة الفرغ واخيرا المناضد). كانت فترة جمع العينات هي اربعة أشهر ابتداءً من شهر تشرين الأول ٢٠٢١ الى نهاية شهر كانون الثاني ٢٠٢٢. جمعت العينات باستخدام أدوات معقمة مثل مسحات وعلب معقمة ونقلت جميع العينات باستخدام صندوق مبرد الى مختبرات الصحة العامة البيطرية / كلية الطب البيطري / جامعة الموصل.

**٣-٢-٤-٢: التعامل مع العينات**

وضعت جميع العينات والمسحات في انابيب زجاجية معقمة تحتوي على ١٠ مل من ماء الببتون وتم حضنها في درجة حرارة ٣٧م □ ولمدة تتراوح من ٤ الى ١٠ ساعات.

**٣-٢-٤-٣: التشخيص المزرعي**

درست الصفات المظهرية للمستعمرات المعزولة بعد زراعة عزلات جراثيم الاشريشيا القولونية وتنقيتها على اوساط زرعية مختلفة وهي وسط اكار الأيوسين مثلين الأزرق وسط

الماكونكي وسط اكار المتالق ووسط اكار الكروم وشملت الدراسة الصفات المظهرية لمستعمرات الاشريكية القولونية وهي من الشكل والحجم والقوام واللون والحافات والارتفاعات للمستعمرات الجرثومية المعزولة.

### ٣-٢-٤-١: الزرع على وسط الأيوسين مثيلين الأزرق

زرعت عزلات جراثيم الاشريكية القولونية بعد تنقيتها على وسط الايوسين مثيلين الأزرق لملاحظة الخصائص المظهرية والنشاط الجرثومي لمستعمرات الاشريكية القولونية وحضنت عند ٣٧م° درجة مئوية لمدة ٢٤ إلى ٤٨ ساعة. (Metallic Sheen) (Ogunleye) (et al., 2013).

### ٣-٢-٤-٢: الزرع على وسط الماكونكي

زرعت عزلات الجراثيم بعد تنقيتها على وسط الماكونكي لملاحظة الخصائص المظهرية والنشاط الجرثومي لمستعمرات الاشريكية القولونية وحضنت عند ٣٧م° درجة مئوية لمدة ٢٤ إلى ٤٨ ساعة. (El-Mongy et al., 2017).

### ٣-٢-٤-٣: الزرع على وسط المتالق الانتخابي Brilliance™ E. coli coliform agar

زرعت جميع عزلات جراثيم الاشريكية القولونية بعد تنقيتها على وسط المتالق لملاحظة الخصائص المظهرية والنشاط الجرثومي لمستعمرات الاشريكية القولونية وحضنت عند ٣٧ م° لمدة من ٢٤ إلى ٤٨ ساعة. جميع العزلات أنتجت مستعمرات ذات لون بنفسجي غامق على وسط التالق (Rizaldi et al., 2019).

### ٣-٢-٤-٤: الزرع على وسط الكروم Chromogenic E. coli O157:H7 agar

وسط الكروم Chromogenic E. coli O157:H7 agar هو وسط تفريقي تم استخدامه للتفريق بين عزلات E. coli O157:H7 والتي تكون بلون بنفسجي فاتح وبين

العزلات Non- *E. coli* O157:H7 والتي تكون بلون تركوازي وزرعت الجراثيم على وسط الكروم وحضنت بدرجة حرارة ٣٧م° ولمدة ٢٤ ساعة (Abdulrazzaq *et al.*, 2021).

### ٣-٢-٤-٥: الزرع على وسط مولر هنتون

١. تم وضع الاوساط الزرعية (التي تحتوي على عزلات جراثيم الاشريكية القولونية واقراص المضادات الحيوية بالتدفئة في درجة حرارة الغرفة.

٢. تم تحضير العالق الجرثومي من خلال:

أ. باستخدام عروة الزرع معقمة أو مسحة تم نقل ثلاث إلى خمس مستعمرات من عزلات جراثيم الاشريكية القولونية إلى ٥ مل من ماء الببتون المعقم.

ب. تم حضن العالق الجرثومي عند ٣٥ م° حتى العكارة التي تعادل ٠.٥ مكفارلاند القياسية والذي يعادل  $(1.5 \times 10^8 \text{ CFU} / \text{مل})$ .

٣. تم زرع العالق الجرثومي على وسط مولر هنتون من خلال:

أ. تم غمس المسحة المعقمة في العالق بعد ضبط عكارة العالق وتدويره عدة مرات.

ب. إزالة العالق الزائد عن طريق الضغط المسحة على جدار الأنبوب فوق السائل.

ج. تم نشر المسحة على سطح الاكار بالكامل ثلاث مرات وبثلاث اتجاهات متعامدة لضمان التوزيع المتساوي العالق الجرثومي.

د. تم مسح حافة الأكار الداخلية لضمان الانتشار المتجانس.

هـ. تركت الاطباق المزروعة لمدة ٣-١٥ دقيقة قبل وضع أقراص المضادات الحيوية.

٤. تم وضع الأقراص على الاكار المزروعة:

أ. باستخدام ملقط معقم تم وضع الأقراص بمسافات متساوية وبشكل يضمن قياس اقطار نطاق تأثير المضاد الحيوي.

ب. ضغط على كل قرص للأسفل لضمان الاتصال الكامل بسطح الأكار.

٥. الحضانة:

أ. حضنت الأوساط المزروعة عند  $35 \pm 2$  م° لمدة ١٨-٢٤ ساعة في الحاضنة.

ب. تم وضع الاطباق بالوضع المعكوس (الأغطية متجهة لأسفل) ولا تتكدس أكثر من خمسة اطباق فوق بعضها البعض.

٦. قراءة الاطباق:

تم قياس قطر مناطق التنشيط لنمو الجرثومي بواسطة المسطرة الخاصة لقياس الأقطار بالمليمتر (Schwalbe *et al.*, 2007).

### ٣-٢-٤-٤: التشخيص الكيموحيوي Biochemical Identification:

تم اجراء الاختبارات الكيموحيوية على جميع عزلات جرثومة الاشريشيا القولونية وكمايلي:

#### 3-2-4-4-1: اختبار الأوكسيداز Oxidase Test :

الطريقة الأولى: نقلت مستعمرة نامية على وسط اكار الماكونكي عمرها ٢٤ ساعة على ورقة ترشيح بوساطة عيدان خشبية معقمة ثم اضيف اليها قطرة من كاشف الاوكسيداز المحضر مسبقاً يعد تغير اللون الى الارجواني في(٣٠-٦٠) ثانية دليل على انتاج انزيم الاوكسيداز (Shields and Cathcart, 2010).

اما الطريقة الثانية: نقلت مستعمرة نامية على وسط اكار الماكونكي عمرها ٢٤ ساعة على شريط خاص لاختبار الاوكسيداز بوساطة مسحة معقمة وعدم ظهور اللون الأزرق دليل على ان النتيجة السالبة (Selwet, 2021).

#### 3-2-4-4-2: اختبار الاندول Indole Test :

اجري هذا الاختبار من خلال تلقيح انابيب الاختبار الحاوية على وسط ماء البيتون بالمستعمرات الجرثومية ثم حضنت لمدة ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة ٣٧ م° بعدها أضيف للوسط ١-٢ قطرة من كاشف كوفاكس Kovac's reagent. يعد ظهور حلقة حمراء اللون على سطح الوسط دليل على ايجابية الاختبار (MacWilliams, 2012).

#### 3-2-4-4-3: اختبار الكتاليز Catalase Test :

نقلت مستعمرة نامية على وسط اكار الماكونكي عمرها ٢٤ ساعة على شريحة زجاجية معقمة وجافة بوساطة عيدان خشبية معقمة ثم اضيفت فوقها قطرة واحدة من كاشف الكتاليز بتركيز ٣%. يعد ظهور الفقاعات على سطح الشريحة الزجاجية دليل على انتاج انزيم الكتاليز (Reiner, 2010).

#### ٣-٢-٤-٤-٤: إختبار المثل الأحمر Methyl Red Test:

حقت الانابيب الحاوية على ماء البيتون مع الكلوكوز بالمستعمرات الجرثومية ثم حضنت لمدة ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة ٣٧ م° ثم اضيف لكل انبوبة ٢-٥ قطرات من كاشف المثل

الاحمر Methyl Red Regent. يعد تحول لون الوسط الى الاحمر دليل على ايجابية الاختبار (McDevitt, 2009)

### ٣-٢-٤-٥: إختبار الفوكس بروسكاور Voges- Proskauer Test:

لقت الانابيبي الحاوية على ماء البيتون والكلوكوز بالمستعمرات الجرثومية ثم حضنت لمدة ٢٤ ساعة وبدرجة حرارة ٣٧ م° ثم اضيف لكل انبوبة ١٠ قطرات من المحلول الأول (VP1) الالفا - نفثول Alpha - Naphthol ثم ٥ قطرات من المحلول الثاني (VP2) هيدروكسيد البوتاسيوم KOH ثم رجت الانابيبي جيدا ولوحظت النتائج بعد ٥ دقائق ثم سجلت النتائج بعد نصف ساعة. (McDevitt, 2009).

### ٣-٢-٤-٦: إختبار استهلاك السترات Citrate Utilization Test:

زرع وسط السايمون ستريت بمستعمرات جرثومية تم تنميتها على وسط الماكونكي بطريقة التخطيط وحضن عند درجة حرارة ٣٧ م° ولمدة ٢٤ ساعة. يعد تحول لون الوسط من الأخضر إلى الأزرق مع ظهور نمو جرثومي دلالة على النتيجة الموجبة. استعمل هذا الاختبار لغرض معرفة قابلية العزلات الجرثومية على استهلاك السترات كمصدر وحيد للكربون والطاقة وعلى استهلاك أملاح الامونيوم كمصدر للنيتروجين (MacWilliams, 2009).

### ٣-٢-٤-٧: إختبار وسط ثلاثي سكر الحديد Triple Sugar Iron Test:

لقت الأنابيبي الحاوية على وسط Triple Sugar Iron agar بطريقة الطعن والتخطيط على السطح المائل بالجراثيم. و حضنت الأنابيبي بدرجة حرارة ٣٧ م° لمدة من ٢٤ الى ٧٢ ساعة إن تغير لون الوسط من الأحمر إلى الأصفر دليل على قدرة الجراثيم على تخمر السكريات الكلوكوز و اللاكتوز و السكروز مع ظهور فقاعات غازية كدلالة على تكون غاز CO<sub>2</sub> (Tille, 2015).

### ٣-٢-٤-٥: التشخيص البايولوجي الجزيئي Molecular identification:

خضعت جميع العزلات الجرثومية الى التشخيص الجزيئي وذلك باستعمال تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل بالاعتماد على الجين التشخيصي *uidA gene* الذي يتميز بكونه جينا ثابتا وقليل التغاير لمدة طويلة في النوع الجرثومي.

## 3-2-4-٥-١: الخصائص الجزيئية لجراثيم الإشريكية القولونية

الطرائق البيولوجية الجزيئية التي تستخدم في الكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية ومعرفة خصائصها ذلك يكون بالاعتماد على الحامض النووي DNA ومن اهم الطرائق المستخدمة بشكل واسع هي طريقة تفاعل البلمرة المتسلسل . استخدمت في الدراسة تقنية تفاعل البلمرة المتسلسل التقليدي للتشخيص التأكدي للعزلات وخصائصها الجزيئية التي شخصت بالعزل الجرثومي والاختبارات الكيموحيوية .

## 3-2-4-٥-٢: إستخلاص الحامض النووي DNA:

تم استخلاص الحمض النووي DNA لجرثومة الإشريكية القولونية المعزولة باستخدام العدة الخاصة لغرض الاستخلاص / Presto™ Mini g DNA Bacteria Kit (Geneaid). كما هو موضح ادناه:

## تحليل الخلية الجرثومية سالبة الكرام Cell Lysis for Gram-Negative Bacteria

تم إستخلاص الحامض النووي الخاص بجرثومة الأشريكية القولونية وذلك باستخدام العدة (Presto™ Mini g DNA Bacteria Kit / Geneaid) تم الاعتماد على التعليمات الخاصة بالشركة من أجل إستخلاص الحامض النووي. وأهم الخطوات الخاصة للاستخلاص هي:

## المرحلة الأولى: تحضير العينة:

١. نقل العالق الجرثومي وبتركيز  $1 \times 10^9$  الى انبوبة ابندورف بحجم ١.٥ مل.
٢. وضع العينات بجهاز الطرد المركزي لمدة دقيقة واحدة وبسرعة تتراوح بين ١٤٠٠٠-١٦٠٠٠ دورة/ دقيقة.
٣. يهمل السائل ثم يضاف  $180 \mu\text{l}$  GT Buffer الى الراسب الجرثومي للحصول على عالق.
٤. مزج العالق الجرثومي بجهاز الخلاط Vortex Mixer.
٥. يتم إضافة  $20 \mu\text{l}$  من انزيم Proteinase K الى المزيج.
٦. يتم حضن أنبوبة أبندورف في درجة حرارة ٦٠ م° لمدة لا تقل عن ١٠ دقائق مع خلط المكونات بالتقليب كل ثلاث دقائق.

**المرحلة الثانية: تحلل الجدار الخلوي وبروتينات الخلية الجرثومية:**

١. إضافة  $200 \mu\text{l}$  من GB Buffer بعد ذلك تخلط المكونات باستخدام جهاز Vortex لمدة ١٠ ثواني.
٢. يحضن المزيج بدرجة حرارة  $70^\circ\text{C}$  لمدة ١٠ دقائق لضمان تحلل المواد البروتينية مع خلط المكونات بالتقليب كل ثلاث دقائق.

**المرحلة الثالثة: ارتباط الكحول بالـ DNA**

١. يتم إضافة  $200 \mu\text{l}$  من الايثانول المطلق بتركيز ٩٩% الى المزيج مباشرة بعد ذلك يتم خلط المكونات باستخدام جهاز Vortex ثم نقل جميع المكونات الى أنابيب GD Column الموضوعه في انابيب جامعة سعة ٢ مل.
٢. يتم وضع أنابيب GD Column في جهاز الطرد المركزي الخاص بأنابيب الأندوف ويتم إجراء عملية الطرد بسرعة  $14000-16000$  دورة/دقيقة ولمدة ٢ دقيقة.
٣. تهمل جميع السوائل التي تجمعت في نهاية الأنابيب جامعة ذات الحجم ٢ مل في قنينة خاصة لجمع السوائل.
٤. توضع GD Column الذي يحتوي على المادة الوراثية في انابيب ذات الحجم ٢ مل جديدة.

**المرحلة الرابعة: غسل الـ DNA**

١. تبدأ مرحلة الغسل من خلال إضافة  $400 \mu\text{l}$  من W1 Buffer الى أنبوبة GD Column ومن ثم توضع في جهاز الطرد المركزي ويتم إجراء عملية الطرد بسرعة  $14000-16000$  دورة/دقيقة ولمدة 30 ثانية.
٢. تهمل جميع السوائل التي تجمعت في نهاية الانابيب الجامعة.
٣. إضافة  $600 \mu\text{l}$  من W2 Buffer الى أنبوبة GD Column ومن ثم توضع في جهاز الطرد المركزي ويتم تكرار عملية الفصل كما في الخطوة الاولى.
٤. تهمل جميع السوائل التي تجمعت في الانابيب الجامعة توضع مرة ثانية في جهاز الطرد المركزي أنابيب GD Column ويتم الطرد بسرعة  $14000-16000$  دورة/دقيقة ولمدة ٣ دقائق لتجفيف الـ DNA.

٥. يتم نقل أنابيب GD Column الى أنابيب أبندوف جديدة لتبدأ مرحلة جمع الـ

DNA.

### المرحلة الخامسة: جمع الـ DNA

الحجم القياسي الصافي لعينة الـ DNA هو  $100 \mu\text{l}$  ولكن إذا تم تقليل الحجم الى  $30-50 \mu\text{l}$  سيتم الحصول على DNA بتركيز عالي.

١. يتم إضافة  $50 \mu\text{l}$  من TE Buffer ومن ثم توضع في جهاز الطرد المركزي يتم إجراء الطرد بسرعة  $14000$  دورة/دقيقة ولمدة دقيقة واحدة.

٢. تكرر الخطوة الأخيرة مرة ثانية ومن ثم تكتب جميع المعلومات على أنابيب الأبندوف وتحفظ بدرجة حرارة  $-20$  م<sup>٥</sup> الى حين استخدام DNA.

### ٣-٢-٤-٥-٣: قياس نقاوة وتركيز الحامض النووي:

تم قياس نقاء وتركيز الحمض النووي المستخلص باستخدام مقياس الطيف النانوي Biodrop.

تم نقل أنابيب PCR التي تحتوي على خليط التضخيم الى جهاز Thermocycler (Biometra) ويتم برنامج التضخيم كما موضح في الجدول (٣-٨) والجدول (٣-٩).

### الجدول (٣-٨): برنامج PCR الخاص بتشخيص جين *uidA*

عدد الدورات No. of cycle	الوقت Time	درجة الحرارة Temp. °c	الخطوات Steps
1	5 min.	95	مرحلة المسخ الاولي Initial denaturation
35	1 min.	95	مرحلة المسخ Denaturation
	1 min.	57	مرحلة ارتباط البادئات Annealing
	1 min.	72	مرحلة الاستطالة

			Extension
1	5 min.	72	مرحلة إطالة الدنا النهائية Final extension

الجدول (٩-٣): برنامج PCR الخاص بتشخيص جين *Stx1* و *Stx2*

عدد الدورات No. of cycle	الوقت Time	درجة الحرارة Temp. °c	الخطوات Steps
1	5 min.	95	مرحلة المسخ الاولي Initial denaturation
35	1 min.	95	مرحلة المسخ Denaturation
	1 min.	٥5	مرحلة ارتباط البادئات Annealing
	1 min.	72	مرحلة الاستطالة Extension
1	٥ min.	72	مرحلة إطالة الدنا النهائية Final extension

٣-٢-٤-٥-٤: تحضير هلام الاكاروز:

تم اعداد هلام الاكاروز كما يلي:

١. يتم إذابة ٢% من الأكاروز في ١٠٠ مل من محلول 1X TBE buffer ثم يوضع في المايكرووف لمدّة ٢ دقيقة حتى يصبح رائق.
٢. يتم إضافة 2 µl من إيثيديوم برومايد Ethidium Bromide الى ٢٥ مل من محلول الهلام المحضر ثم يتم صب الهلام في الوعاء الخاص لجهاز الترحيل ويثبت المشط في الموضع المخصص له ويترك لحين التصلب وبعد ذلك يزال المشط وينقل الى جهاز

الترحيل الذي يحوي على محلول 1X TBE Buffer الذي تم استخدامه في إعداد هلام الأكاروز.

#### مكونات 10X TBE buffer.

١. 108 g of tris base [ tris (hydroxymethyl) aminomethane]
٢. 55 g of boric acid
٣. 7.5 g of disodium salt, EDTA
٤. Deionized distal water

#### ٣-٢-٤-٥: الترحيل الكهربائي بالهلام Gel electrophoresis:

تم الترحيل الكهربائي بالهلام كما في الخطوات التالية:

١. يتم حقن 2 µl من الدليل الحجمي Ladder في اول حفرة بحجم 100 bp التي صممت لتحديد قطع الحامض النووي من 100-1000 bp ولكل دليل حجمي نقطة أساس والتي تتمثل 1000 bp , 500 pb , 100 bp وتكون هذه النقطة مضيئة جدا لتسهيل عملية القراءة.
٢. حقن عينات DNA بقياس 6-8 µl في الحفر المتبقية.
٣. يتم تشغيل جهاز الترحيل بطاقة 100 فولت لمدة 30 دقيقة او طاقة 60 فولت لمدة 60 دقيقة وبعدها ينقل الهلام الى جهاز قراءة الهلام لمشاهدة حزم الحامض النووي المرحلة خلال الهلام عبر الاشعة فوق البنفسجية ويتم التصوير بوساطة الكاميرا.

#### ٣-٢-٤-٦: إختبار الحساسية للمضادات الحيوية Sensitivity test:

- تم اختبار حساسية جراثيم الاشريكية القولونية للمضادات الحيوية باستعمال طريقة kirby-baure بحسب ما جاء في (Patel *et al.*, 2015).
- ١- نقلت (3-5) من المستعمرات التي تم تنميتها على وسط اكار الماكونكي بعمر ٢٤ ساعة الى انبوبة تحوي على ٥ مل من المحلول الملحي الفسيولوجي normal saline وضبطت عكارة المحلول مع عكارة محلول ماكفرلاند 1.5 المحضر مسبقا والذي يعادل (1.5 x 10<sup>8</sup>) خلية/مليلتر.

- ٢- ادخلت المسحة القطنية المعقمة في الانبوبة الحاوية على العالق الجرثومي وتم تدويرها وضغطها على الجدار الداخلي للانبوبة لإزالة العالق الزائد وبعد ذلك مررت على اطباق حاوية على وسط اكار مولر- هنتون عدة مرات وباتجاهات مختلفة للحصول على نمو متجانس.
- ٣- وضعت اقراص المضادات الحيوية على سطح الوسط المزروع وعلى ابعاد متساوية وضغطت الاقراص باستعمال الملقط المعقم وبعدها حضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م لمدة ٢٤ ساعة .
- ٤- سجلت نتائج اقطار مناطق التثبيط حول الاقراص بالمليمتر وذلك باستعمال المسطرة ثم تم مقارنة النتائج بجداول قياسية (CLSI, 2017).

### 3-2-4-٧: حفظ وإدامة العزلات الجرثومية:

#### 3-2-4-٧-١: الحفظ قصير المدى Short Preservation Period

تم حفظ العزلات من خلال تلقيح الأنابيب الحاوية على الوسط المغذي الصلب المائل بالجراثيم و حضت في درجة حرارة 37 م ° لمدة ٢٤ ساعة ثم حفظت بدرجة ٤ م ° (Overmann, 2006)

#### 3-2-4-٧-٢: الحفظ طويل المدى Long Preservation Period

تم تلقيح الأنابيب الحاوية على الوسط المغذي السائل المدعم بالكليسيروول بتركيز (25%) بالجراثيم و حفظت بدرجة - ٨٥ م ° (Bryukhanov and Netrusov, 2006).

### 3-2-4-٨: التحليل الاحصائي Statistical Analysis

تم استخدام البرنامج الاحصائي Sigma Stat واختبار Chi Square لايجاد الفروق المعنوية بين عينات الدراسة .

## الفصل الرابع

### النتائج

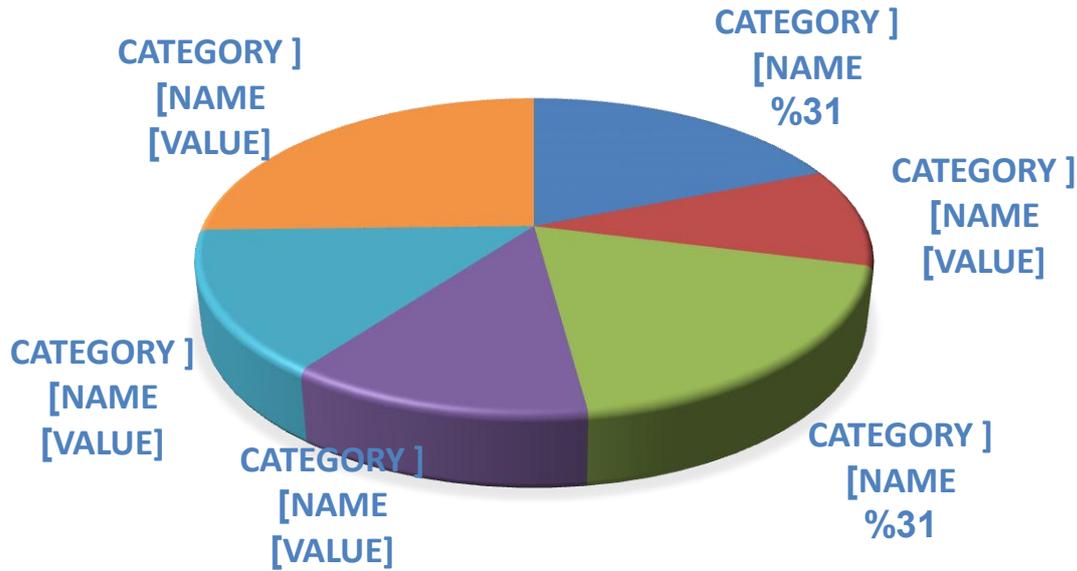
### Results

#### ٤-١: عزل جراثيم الإشريكية القولونية

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة عزل جراثيم الاشريكية القولونية من عينات لحوم العجول والأدوات المستعملة في محلات القصابة من مناطق مختلفة في مدينة الموصل كانت ٢٧.٤% (٥٠٤/١٣٨). كانت اعلى نسبة عزل لجراثيم الاشريكية القولونية من لحوم العجول ٤١.٧% (٨٤/٣٥) بينما كانت اقل نسبة عزل للجراثيم من الكلاب ١٦.٧% (٨٤/١٤). بالإضافة الى ذلك اظهرت نتائج الدراسة بان نسبة العزل من مكائن فرم اللحم وايدي العمال السكاكين والمناضد كانت ٢٠.٢% (٨٤/١٧) ٢٣.٨% (٨٤/٢٠) ٣١% (٨٤/٢٦) ٣١% (٨٤/٢٦) على التوالي كما موضح بالجدول رقم (٤-١) والشكل (٤-١).

الجدول ٤-١: عدد العينات ونسب العزل لجراثيم الاشريكية القولونية المعزولة

نوع العينة	عدد العينات المفحوصة	عدد العزلات	النسبة المئوية
السكاكين	٨٤	٢٦	31%
الكلاب	٨٤	١٤	16.7%
المناضد	٨٤	٢٦	31%
مكائن فرم اللحم	٨٤	١٧	20.2%
ايدي العمال	٨٤	٢٠	23.8%
لحم العجول	٨٤	٣٥	41.7%
المجموع الكلي	٥٠٤	١٣٨	27.4%



الشكل ٤-١: نسب العزل لجراثيم الإشريكية القولونية في عينات الدراسة

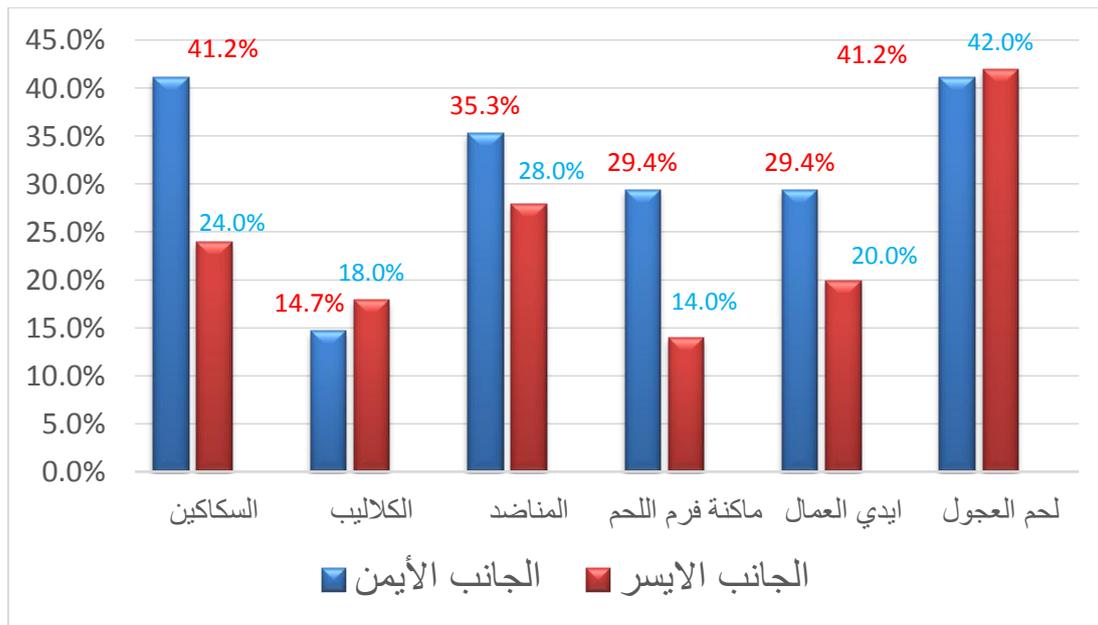
كما اظهرت الدراسة بوجود اختلاف في نسبة عزل جراثيم الاشريكية القولونية المعزولة من جانبي مدينة الموصل الأيمن والايسر، حيث كانت نسبة عزل جراثيم الاشريكية القولونية في الجانب الايمن اعلى من الجانب الايسر وبنسبة ٣١.٩% (٢٠٤/٦٥) بينما كانت نسبة العزل من جانب الايسر ٢٤.٣% (٣٠٠/٧٣). اضافة الى ذلك اظهرت النتائج بان اعلى نسبة عزل لجراثيم الاشريكية القولونية من الجانب الايمن كانت من لحوم العجول والسكاكين وبنسبة ٤١.٢% (٣٤/١٤) بينما كانت اقل نسبة عزل لجراثيم الاشريكية القولونية من الكلاب ١٤.٧% (٣٤/٥). علاوة على ذلك فان نسبة عزل جراثيم الاشريكية القولونية من ايدي العمال ومكائن الفرغ هي ٢٩.٤% (٣٤/١٠) بينما كانت نسبة عزل جراثيم الاشريكية القولونية من المناضد ٣٥.٣% (٣٤/١٢).

اشارت الدراسة كذلك الى ان اعلى نسبة عزل لجراثيم الاشريكية القولونية في الجانب الايسر كانت من لحوم العجول وبنسبة ٤٢% (٥٠/٢١) بينما كانت اقل نسبة عزل جراثيم الاشريكية القولونية من مكائن فرغ اللحم ١٤% (٥٠/٧). واشارت الدراسة الى ان نسبة عزل جراثيم الاشريكية القولونية من كلاب وايدي العمال وسكاكين والمناضد هي ١٨% (٥٠/٩) و ٢٠% (٥٠/١٠) و ٢٤% (٥٠/١٢) و ٢٨% (٥٠/١٤) على التوالي كما موضح في الجدول (٢-٤) والشكل (٢-٤).

الجدول ٤-٢: نسب عزل جراثيم الاشريكية القولونية من اللحوم ومحلات القصابة لجانبي

P- value	الجانب الايسر نسبة العزل			الجانب الايمن نسبة العزل			نوع العينة
	النسبة المئوية	عدد العزلات	عدد العينات	النسبة المئوية	عدد العزلات	عدد العينات	
0.0962	(%٢٤)	١٢	٥٠	(%٤١.٢)	١٤	٣٤	السكاكين
0.6921	(%١٨)	٩	٥٠	(%١٤.٧)	٥	٣٤	الكلايب
0.4801	(%٢٨)	١٤	٥٠	(%٣٥.٣)	١٢	٣٤	المناضد
0.1808	(%١٤)	٧	٥٠	(%٢٩.٤)	١٠	٣٤	مكائن فرم اللحم
0.3236	(%٢٠)	١٠	٥٠	(%٢٩.٤)	١٠	٣٤	ايدي العمال
0.9422	(%٤٢)	٢١	٥٠	(%٤١.٢)	١٤	٣٤	لحم العجول
<b>0.05</b>	<b>(%٢٤.٣)</b>	<b>٧٣</b>	<b>٣٠٠</b>	<b>(%٣١.٩)</b>	<b>٦٥</b>	<b>٢٠٤</b>	المجموع

مدينة الموصل الأيمن والأيسر



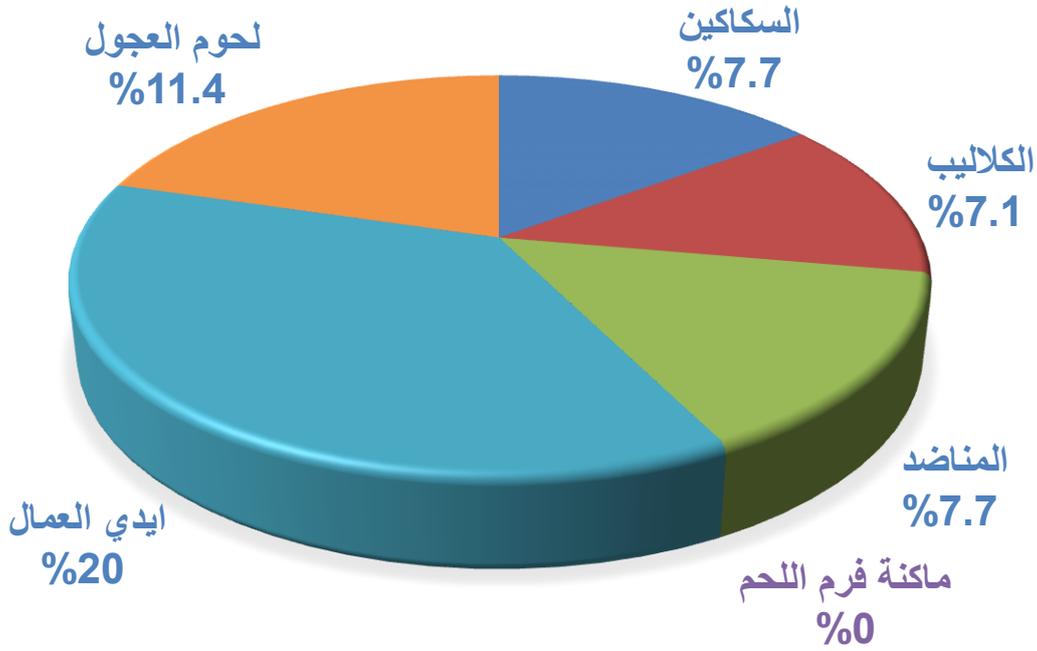
الشكل ٤-٢: مقارنة بين نسب عزل جراثيم الاشريكية القولونية من لحوم العجول ومحلات القصابة لجانبي مدينة الموصل الأيمن والأيسر.

## ٢-٤ عزل النمط المصلي O157:H7

اظهرت نتائج هذه الدراسة بان نسبة عزل النمط المصلي O157:H7 هي ٩.٤% (١٣٨/١٣) وذلك باعتماد على وسط الكروم الخاص بالنمط المصلي O157:H7. كانت اعلى نسبة عزل للنمط المصلي O157:H7 هي ٢٠% (٢٠/٤) من ايدي العمال بينما كانت اقل نسبة عزل للنمط المصلي O157:H7 هي ٧.١% (١٤/١) من الكلابيب. فضلا عن ذلك كانت نسبة عزل النمط المصلي O157:H7 من المناضد سكاكين ولحوم العجول هي ٧.٧% (٢٦/٢) و ٧.٧% (٢٦/٢) و ١١.٤% (٣٥/٤) على التوالي. لم يتم عزل النمط المصلي O157:H7 من مكائن فرم اللحوم كما موضح في الجدول (٣-٤) والشكل (٣-٤)

الجدول ٣-٤: عدد ونسبة عزل النمط المصلي O157:H7 من اللحوم ومحلات القصابة.

النسبة المئوية	عدد عزلات النمط المصلي O157:H7	عدد عزلات الاشريشيا القولونية	العدد الكلي لكل نوع	نوع العينة
(٧.٧%)	٢	26	84	السكاكين
(٧.١%)	١	14	84	الكلابيب
(٧.٧%)	٢	26	84	المناضد
-	-	17	84	مكائن فرم اللحم
(٢٠%)	٤	20	84	ايدي العمال
(١١.٤%)	٤	35	84	لحم العجول
(٩.٤%)	١٣	138	504	المجموع الكلي



الشكل ٤-٣: نسب عزل النمط المصلي O157:H7 في لحوم العجول ومحلات القصابية في مدينة الموصل

#### ٤-٣: التشخيص المظهري Morphological Identification

٤-٣-١: العزل الجرثومي لجراثيم الإشريكية القولونية باستخدام وسط الأيوسين المثيلين الأزرق أظهرت الصفات المظهرية لجراثيم الإشريكية القولونية عند نموها على الوسط الزرعي EMB agar مستعمرات ذات لون اخضر معدني لماع. والشكل (٤-٤) يوضح نمو جراثيم الإشريكية القولونية على وسط EMB.



الشكل (٤-٤): نمو جراثيم الإشريكية القولونية على وسط EMB

٤-٣-٢: العزل الجرثومي لجراثيم الإشريكية القولونية باستخدام وسط الماكونكي

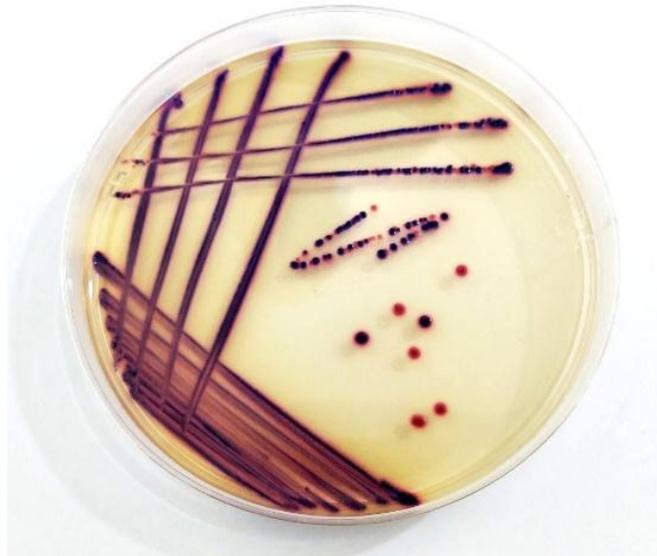
أظهرت الصفات المظهرية لجراثيم الإشريكية القولونية عند نموها على الوسط الزراعي MacConkey agar بان مستعمرات جرثومة الإشريكية القولونية ذات لون وردي ناعمة وذات حافة حادة كما هو موضح في الشكل (٤-٥).



الشكل (٤-٥): نمو جراثيم الإشريكية القولونية على وسط وسط الماكونكي

٤-٣-٣: النمو الجرثومي على الوسط اللماح الانتخابي للإشريكية القولونية

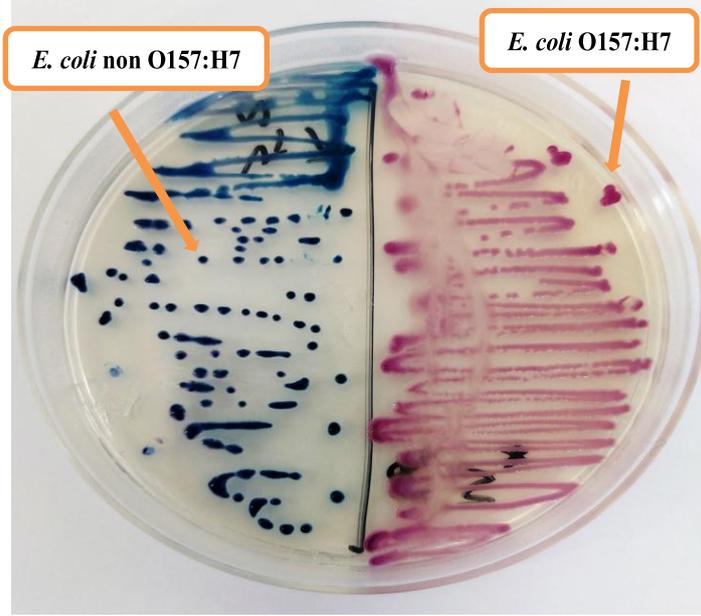
أظهرت نتائج للزرع الجرثومي على وسط Brilliance™ *E. coli* /coliform selective agar نمو مستعمرات الإشريكية القولونية ذات لون بنفسجي الغامق كما موضح في الشكل (٤-٦).



الشكل (٤-٦): وسط Brilliance *E. coli*/coliform للكشف عن مستعمرات جراثيم الإشريكية القولونية

#### ٤-٣-٤: النمو الجرثومي على الوسط الكروم Chromogenic *E. coli* O157:H7 agar

أظهرت نتائج للزرع الجرثومي على وسط Chromogenic *E. coli* O157:H7 agar مستعمرات النمط المصلي O157:H7 ذات لون بنفسجي فاتح كما موضح في الشكل (٤-٧).

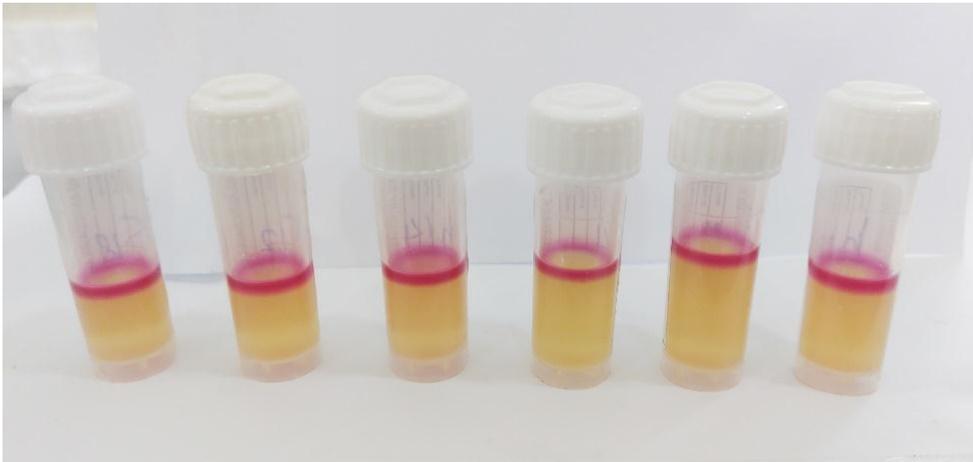


الشكل (٤-٧): نمو *E. coli* O157:H7 و Non-*E. coli* O157:H7

#### Chromogenic *E. coli* O157:H7 agar

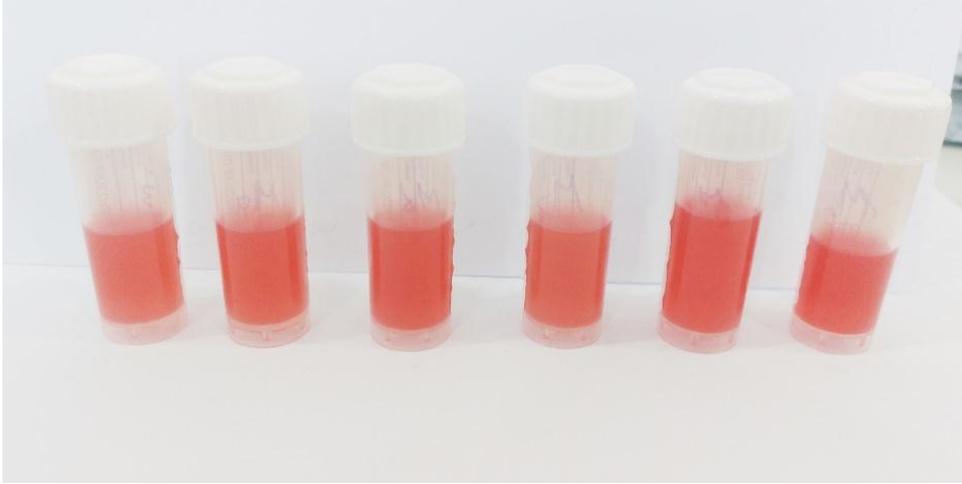
#### ٤-٤: التشخيص الكيموحيوي Biochemical Identification

تم اجراء الاختبارات الكيموحيوية على جميع عزلات جراثيم الاشريكية القولونية والمستحصل عليها كمايلي: اعطت جراثيم الأشريكية القولونية على اختبار الاندول نتيجة موجبة وذلك بظهور الحلقة الحمراء كما هو موضح في الشكل (٤-٨)

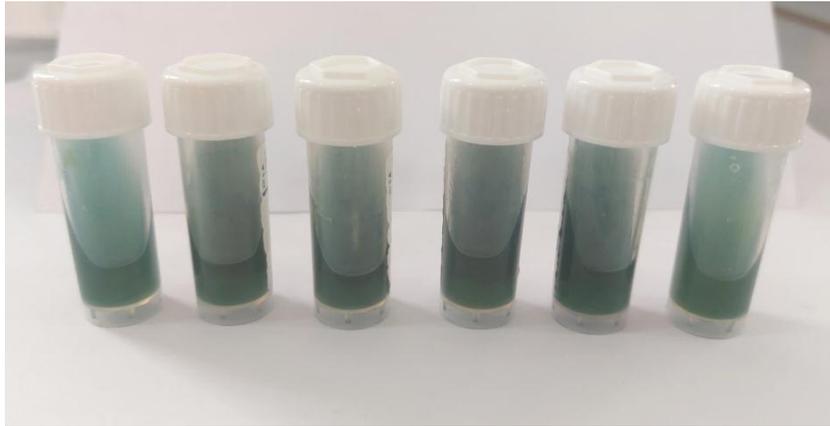


الشكل (٤-٨): اختبار Indole المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية

بينما اعطت جراثيم الإشريكية القولونية نتيجة موجبة باستخدام إختبار المثيل الأحمر كما هو موضح في الشكل (٩-٤).

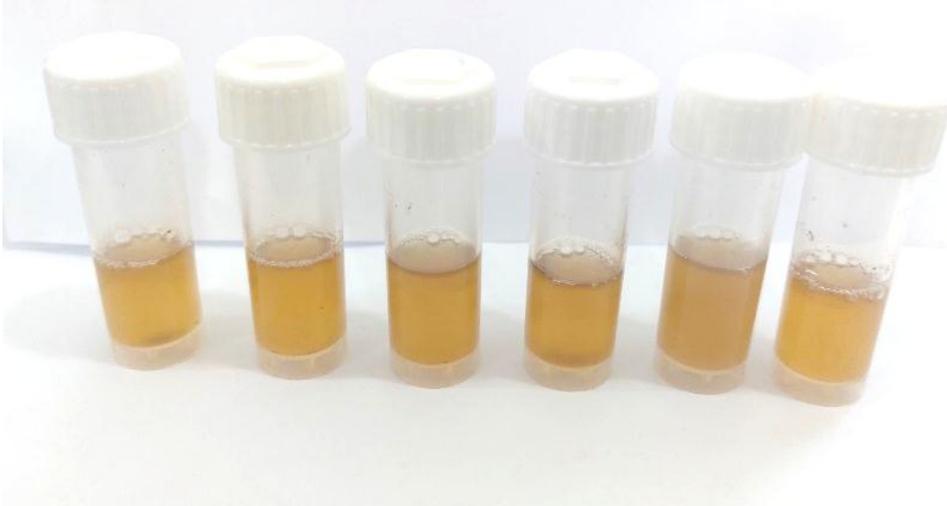


الشكل (٩-٤): اختبار Methyl Red المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية وبينما كانت نتيجة اختبار استهلاك السترات سالبة بسبب عدم تغير لون الوسط من الأخضر الى الأزرق كما هو في الشكل (١٠-٤).

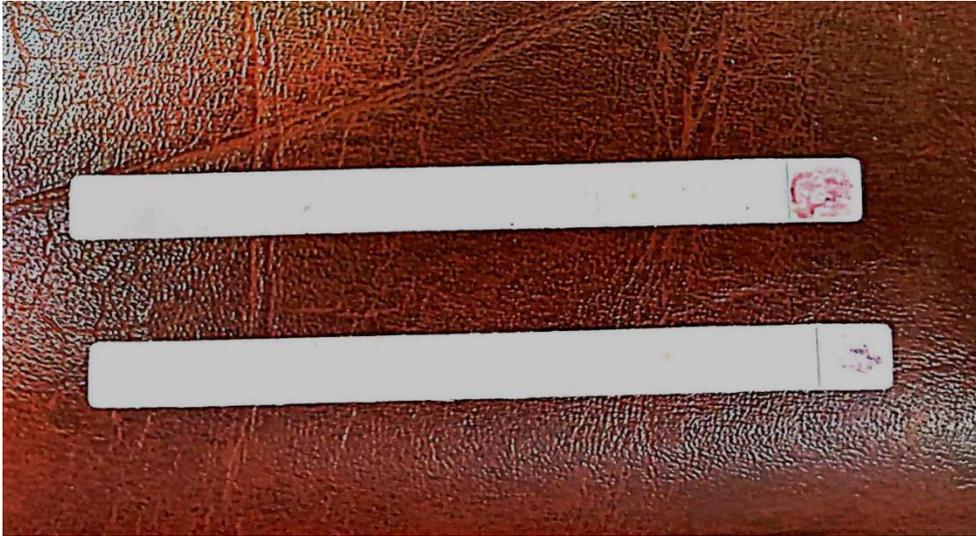


الشكل (١٠-٤): اختبار Citrate utilization المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية

في حين كانت نتيجة جراثيم الإشريكية القولونية سالبة لاختبار فوكس بروسكاور نتيجة عدم ظهور اللون الأحمر وظهور اللون الأصفر المائل للبيني للوسط السائل كما هو في الشكل (١١-٤).



الشكل (١١-٤): اختبار Voges-Proskauer المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية  
بينما كانت نتيجة جراثيم الإشريكية القولونية على إختبار الأوكسيديز سالبة وذلك بعدم تغير لون  
ورقة الترشيح المشبعة بكاشف الأوكسيديز الى اللون البنفسجي كما هو في الشكل (١٢-٤).

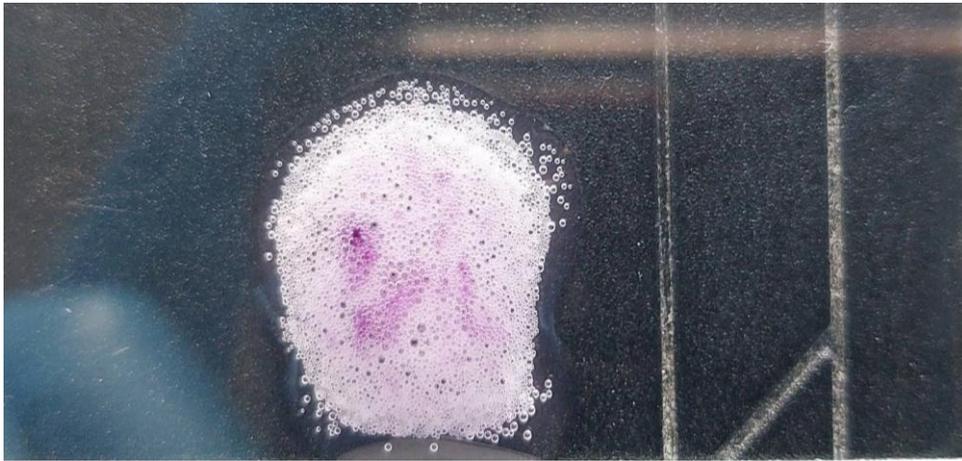


الشكل (١٢-٤): اختبار Oxidase test المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية

في حين كانت نتيجة اختبار وسط ثلاثي السكر والحديد موجبة وذلك بظهور اللون الأصفر على  
الوسط كما هو في الشكل (١٣-٤).



الشكل (١٣-٤): اختبار Triple Sugar Iron المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية  
واظهرت جميع عزلات جراثيم الاشريكية القولونية نتيجة موجبة لاختبار الكتاليز كما هو في  
الشكل (١٤-٤).



الشكل (١٤-٤): اختبار Catalase test المستخدم للكشف عن جراثيم الإشريكية القولونية

#### 6-4: التشخيص الجزيئي لجرثومة الاشريكية القولونية Molecular Identification

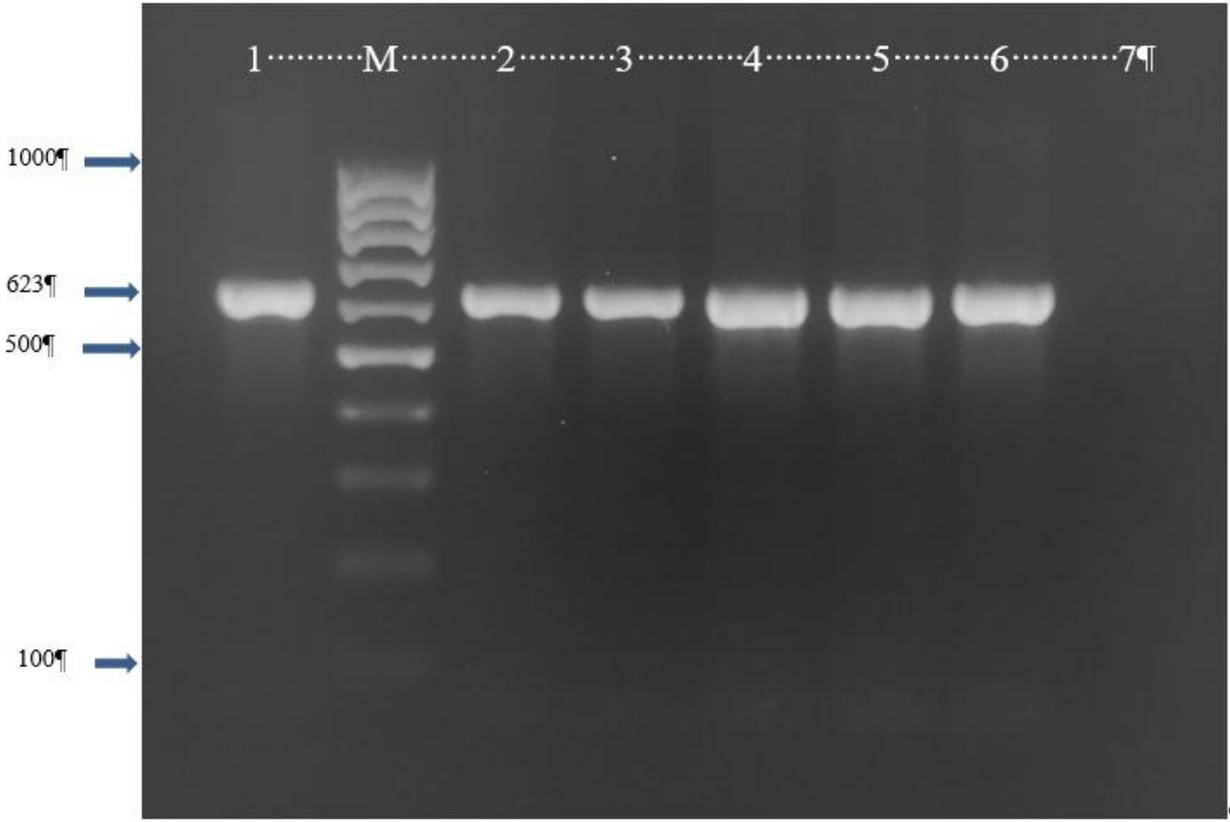
١-٦-٤: الكشف عن جينات *uidA* و *Stx1* و *Stx2* في جراثيم الاشريكية القولونية

تم اجراء التشخيص الجزيئي لجميع عزلات جراثيم الاشريكية القولونية باستعمال تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل للكشف عن جينات *uidA* و *Stx1* و *Stx2*. واطهرت نتائج الدراسة بالاعتماد على تقانة تفاعل البلمرة المتسلسل بامتلاك جميع عزلات الاشريكية القولونية على جين *uidA* وبنسبة ١٠٠ % بالإضافة الى ذلك فقد تم تحديد جين *Stx1* في بعض عزلات جراثيم الاشريكية القولونية وبنسبة ٢١.٧ %

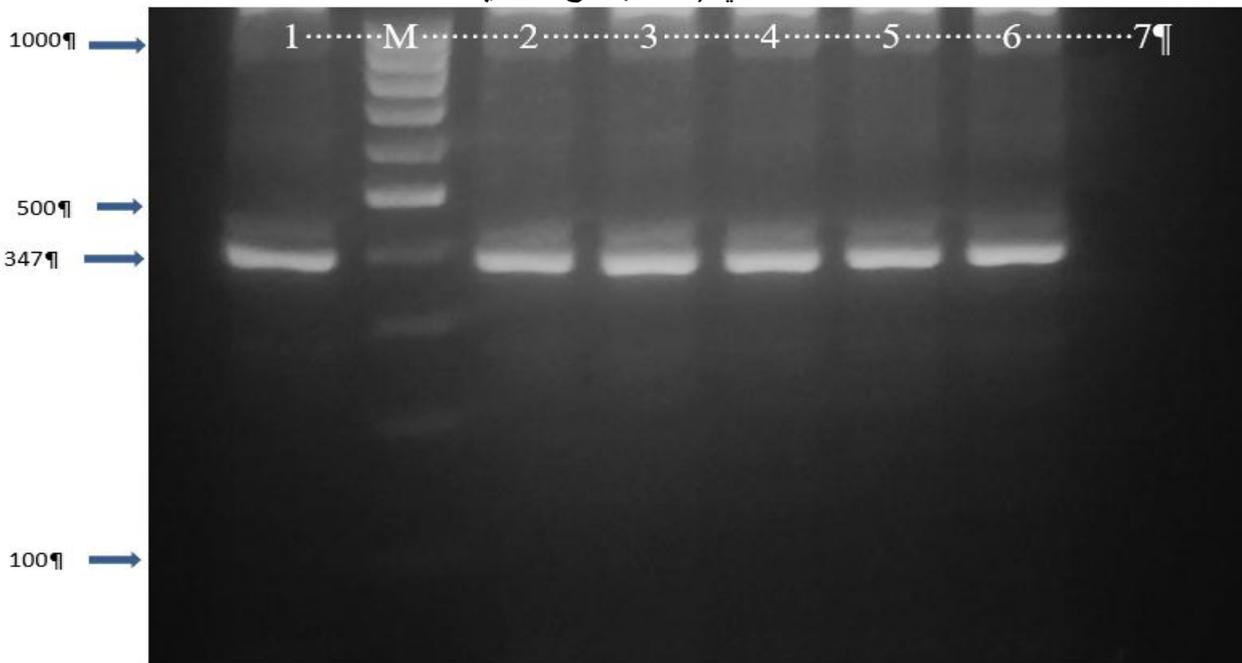
(١٣٨/٣٠) بينما جين *Stx2* فقد تم تحديده في بعض عزلات جراثيم الاشريكية القولونية وبنسبة ١٢.٣% (١٣٨/١٧) علاوة على ذلك فقد اظهرت الدراسة على امتلاك عدد كبير من جراثيم الاشريكية القولونية على جيني *Stx1* و *Stx2* وبنسبة ٦٦% (١٣٨/٩١). كما موضح بالجدول رقم (٤ \_ ٤) والشكل رقم (٤-١٥ و ٤-١٦ او ٤-١٧).

الشكل ٤-٤: تحديد جينات *uidA* و *Stx1* و *Stx2* في جراثيم الاشريكية القولونية

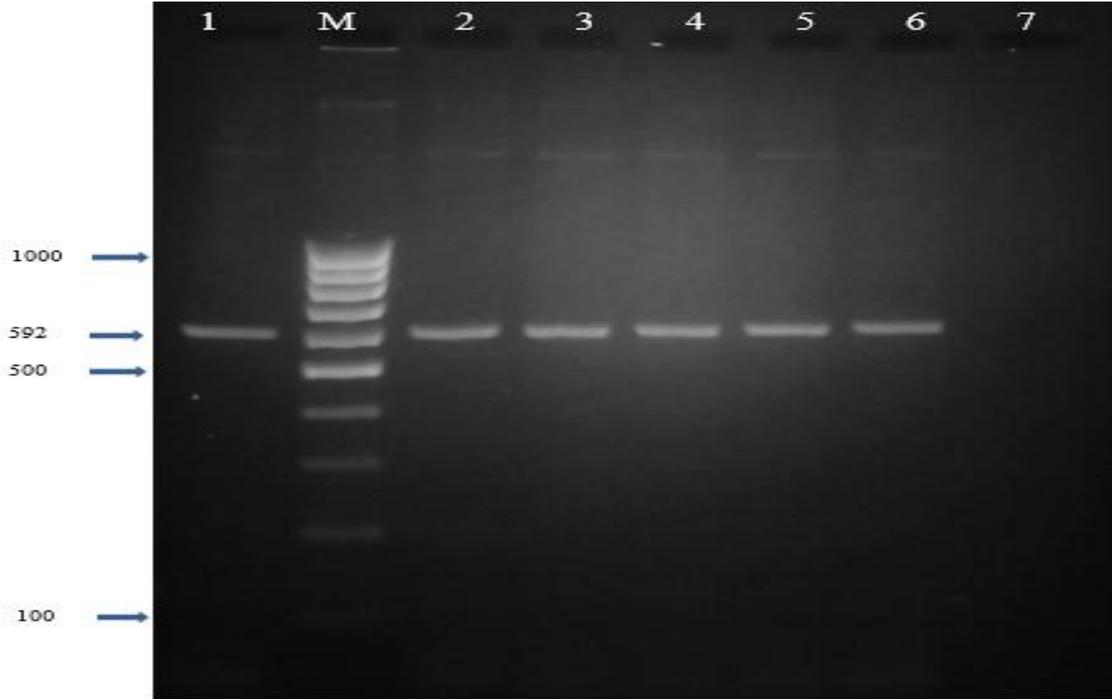
النسبة المئوية %	عدد العزلات التي تمتلك الجين	العدد الكلي للعزلات	الجين
100%	138	١٣٨	<i>uidA</i>
21.7%	30	١٣٨	<i>Stx1</i>
12.3%	17	١٣٨	<i>Stx2</i>
66%	91	١٣٨	<i>Stx1, Stx2</i>



الشكل ٤-١٥: اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل لجين *uidA* ذات الوزن الجزيئي ٦٢٣ bp. الممر ١: السيطرة الموجبة الممر ٢ و ٣ و ٤ و ٥ و ٦ هي جراثيم الاشريكية القولونية الموجبة الممر ٧: السيطرة السالبة بينما ممر M: الدليل الحجمي (100) زوج قاعدي



الشكل ٤-١٦: اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل لجين *StxI* ذات الوزن الجزيئي ٣٤٧ bp. الممر ١: السيطرة الموجبة الممر ٢ و ٣ و ٤ و ٥ و ٦ هي جراثيم الاشريكية القولونية الموجبة الممر ٧: السيطرة السالبة بينما ممر M: الدليل الحجمي (100) زوج قاعدي



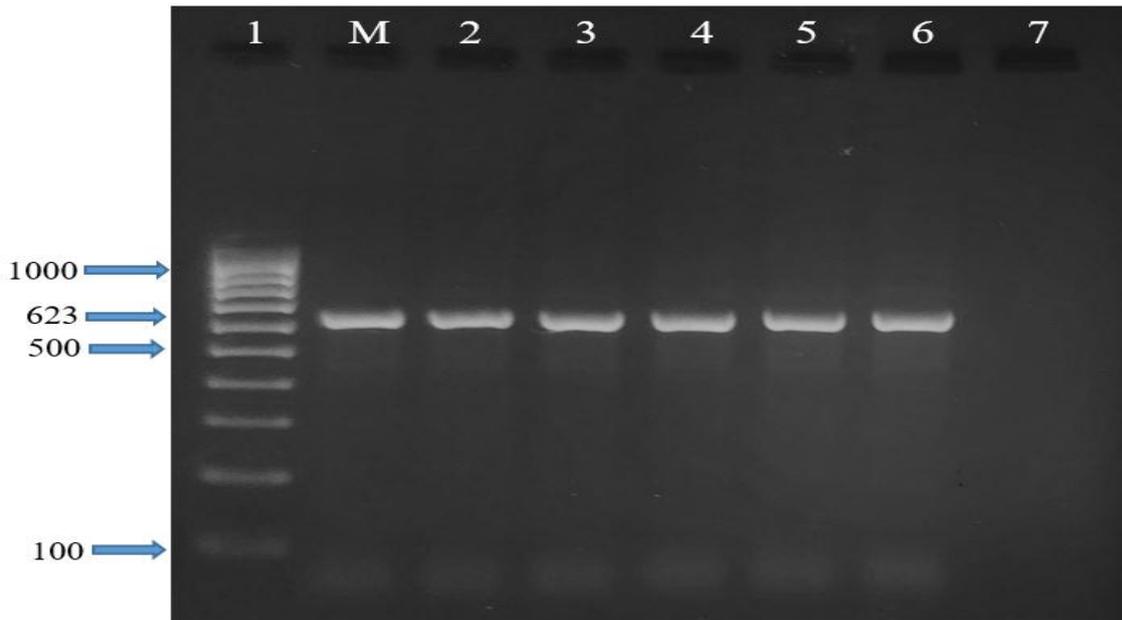
الشكل ٤-١٧: اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل لجين *Stx2* ذات الوزن الجزيئي 592 bp. الممر ١: السيطرة الموجبة الممر ٢ و ٣ و ٤ و ٥ و ٦ هي جراثيم الاشريكية القولونية الموجبة الممر ٧: السيطرة السالبة بينما ممر M: الدليل الحجمي (100) زوج قاعدي.

#### ٤-٦-٢: الكشف عن جينات *uida* و *Stx1* و *Stx2* وفي النمط المصلي O157:H7

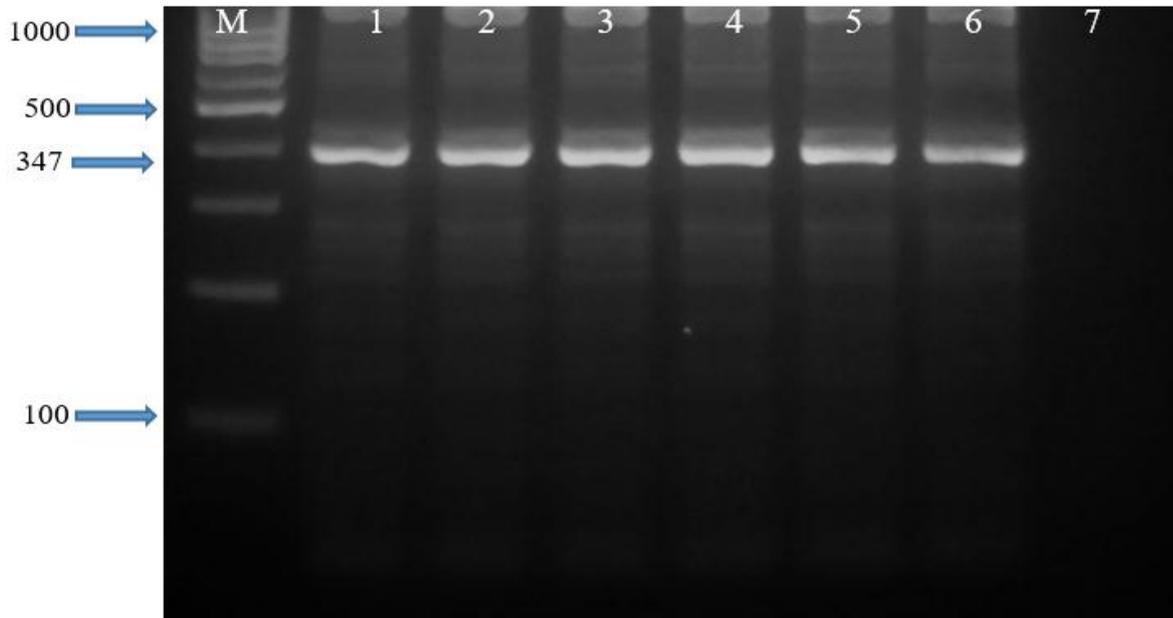
اظهرت نتائج الكشف الجيني للنمط المصلي O157:H7 بواسطة استخدام طريقة تفاعل البلمرة المتسلسل بان جميع الانماط المصلية O157:H7 تمتلك جين *uida* و *Stx2* وبنسبة ١٠٠%، بينما تم تحديد جين *Stx1* في النمط المصلي O157:H7 وبنسبة ٩٢.٣%. كما موضح في الجدول (٤-٥) والاشكال (٤-١٨) و (٤-١٩) و (٤-٢٠)

#### الجدول ٤-٥: تحديد جينات *uida* و *Stx1* و *Stx2* في النمط المصلي O157:H7

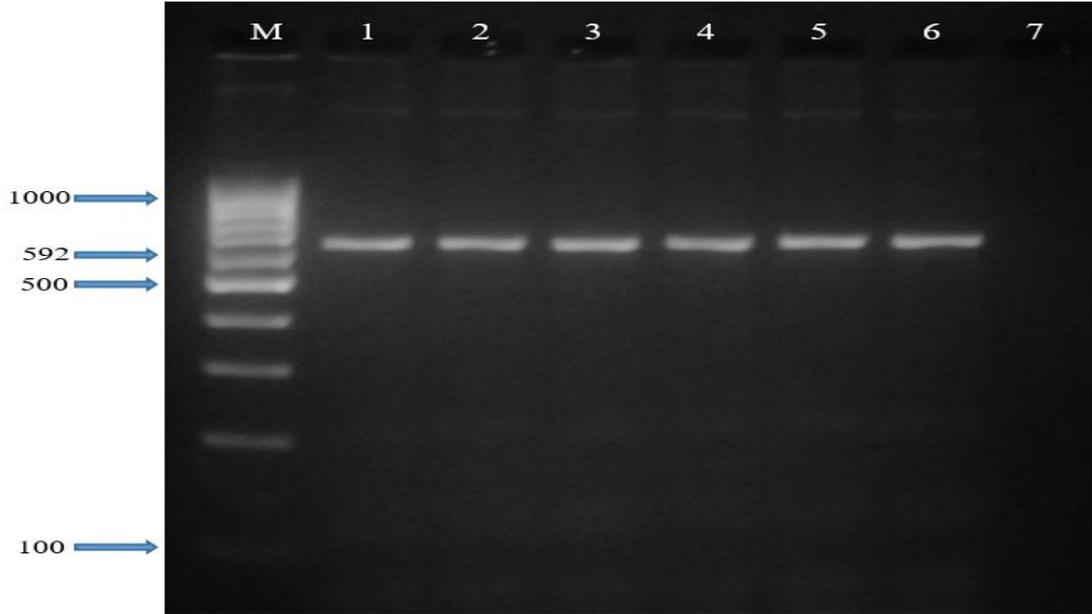
النسبة المئوية %	عدد العزلات التي تمتلك الجين	عدد العزلات	الجين
100%	13	١٣	<i>uida</i>
92.3%	12	١٣	<i>Stx1</i>
100%	13	١٣	<i>Stx2</i>



الشكل ٤-١٨: اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل لجين *uidA* ذات الوزن الجزيئي 623 bp. ممر M: الدليل الحجمي (100) زوج قاعدي، الممر ٢: السيطرة الموجبة الممر ٣ و٤ و٥ و٦ و٧ هي جراثيم الاشريكية القولونية الموجبة نوع O157:H7 و الممر ٨: السيطرة السالبة



الشكل ٤-١٩: اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل لجين *Stx1* ذات الوزن الجزيئي 347 bp. ممر M: الدليل الحجمي (100) زوج قاعدي، الممر ٢: السيطرة الموجبة الممر ٣ و٤ و٥ و٦ و٧ هي جراثيم الاشريكية القولونية الموجبة نوع O157:H7 و الممر ٨: السيطرة السالبة



الشكل ٤-٢٠: اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل لجين *Stx2* ذات الوزن الجزيئي ٥٩٢ bp . ممر M: الدليل الحجمي ( 100)زوج قاعدي، الممر ٢: السيطرة الموجبة الممر ٣ و٤ و٥ و٦ و٧: هي جراثيم الاشريكية القولونية الموجبة نوع O157:H7 و الممر ٨: السيطرة السالبة

#### ٤-٧: اختبار فحص الحساسية للاشريكية القولونية

##### ٤-٧-١: اختبار فحص الحساسية لـ *Commensal E. coli*

أظهرت نتائج الدراسة مقاومة الأشريكية القولونية للمضادات الحيوية وكما هو موضح الجدول (٤-٦) حيث كانت اعلى نسبة مقاومة لجراثيم الأشريكية القولونية للمضادات الحيوية هي سيفالوثين وبنسبة (١٠٠%) وايرثرومايسين وبنسبة (٩٤%) واموكسيسيلين وبنسبة (٨٠%) و تتراسايكلين (٦٦%) و نايتروفورانتين وبنسبة (٥٤%) بينما كانت اقل نسبة مقومة لجراثيم الاشريكية القولونية للمضاد الحيوي ستربتومايسين (٣٨%) وكلورمفينيكول وبنسبة (٢٦%) وسيفكسيم وسيفتراكسون وبنسبة (١٠%) ترايمثريم وبنسبة (٤%) في حين لم تظهر جراثيم الاشريكية القولونية أي مقاومة للمضاد الحيوي سيبروفلوكساسين وجينتاماييسين (٠%).

كما اظهرت الدراسة الى اختلاف في نسب الحساسية لجراثيم الأشريكية القولونية للمضادات الحيوية حيث كانت جراثيم الاشريكية القولونية حساسة وبنسبة عالية للمضادات الحيوية سيبروفلوكساسين وجينتاماييسين وبنسبة (١٠٠%) وترايمثريم وبنسبة (٩٦%) سيفكسيم وبنسبة (٩٠%) سيفتراكسون وبنسبة (٩٠%). بينما اظهرت جراثيم الاشريكية القولونية حساسية منخفضة للمضادات الحيوية سيفالوثين وبنسبة (٠%) ايرثرومايسين وبنسبة (٦%) اموكسيسيلين وبنسبة (٢٠%). اضافة الى ذلك فقد اظهرت جراثيم الاشريكية القولونية حساسية متباينة

للمضادات الحيوية تيتراسايكلين وبنسبة (٣٤%) نايتروفيورانيتين وبنسبة (٤٦%) وستربتومايسين وبنسبة (٦٢%) كلورمفينيكول وبنسبة (٧٢%) كما موضح في الجدول (٦-٤) الجدول (٦-٤): نسب مقاومة وحساسية (*Commensal E. coli*) للمضادات الحيوية.

ت	المضاد الحيوي	عدد العينات	الرمز	حساسية المضاد الحيوي	مقاومة المضاد الحيوي
١	ايرثرومايسين	٥٠	E	٦%	٩٤%
٢	سيبروفلوكساسين	٥٠	CIP	١٠٠%	-
٣	سيفيكسيم	٥٠	CFM	٩٠%	١٠%
٤	كلورمفينيكول	٥٠	C	٧٢%	٢٨%
٥	سيفالوثين	٥٠	KF	-	١٠٠%
٦	تيتراسايكلين	٥٠	TE	٣٤%	٦٦%
٧	تراي مثيريم	٥٠	TMP	٩٦%	٤%
٨	نايتروفيورانيتين	٥٠	F	٤٦%	٥٤%
٩	جنتاميسين	٥٠	CN	١٠٠%	-
١٠	سيفترياكسون	٥٠	CRO	٩٠%	١٠%
١١	اموكسيسيلين	٥٠	Ax	٢٠%	٨٠%
١٢	ستربتومايسين	٥٠	S	٦٢%	٣٨%

#### ٤-٧-٢: اختبار فحص الحساسية لـ *E. coli* O157:H7

أظهرت نتائج مقاومة النمط المصلي O157:H7 للمضادات الحيوية وكما هو موضح بالجدول (٧-٤) حيث سجل النمط المصلي O157:H7 اعلى مقاومة للمضادات الحيوية للسيفالوثين وارثرومايسين واموكسيسيلين بنسبة (١٠٠%)، كما سجل النمط المصلي O157:H7 اقل نسبة مقاومة للمضادات الحيوية للتيتراسايكلين وبنسبة (٥٣%) ونايتروفيورانيتين وبنسبة (٧٧%) وبينما لم يظهر النمط المصلي O157:H7 أي نوع من المقاومة للمضادات الحيوية ستربتومايسين وكلورمفينيكول وسيفيكسيم وسيفتراكسون وتراي مثيريم وسيبروفلوكساسين وجنتاميسين كما هو موضح في الجدول (٧-٤).

الجدول (٧-٤): نسب مقاومة وحساسية (*E. coli* O157:H7) للمضادات الحيوية.

ت	المضاد الحيوي	عدد العزلات	الرمز	حساسية المضاد الحيوي	مقاومة المضاد الحيوي
١	ايرثرومايسين	١٣	E	-	%١٠٠
٢	سيبروفلوكساسين	١٣	CIP	% ١٠٠	-
٣	سيفيكسيم	١٣	CFM	% ١٠٠	-
٤	كلورمفينيكول	١٣	C	% ١٠٠	-
٥	سيفالوثين	١٣	KF	-	% ١٠٠
٦	تيتراسايكلين	١٣	TE	% ٤٧	% ٥٣
٧	تراي مثيريم	١٣	TMP	% ١٠٠	-
٨	نايتروفورانتين	١٣	F	% ٢٣	% ٧٧
٩	جنتاميسين	١٣	CN	% ١٠٠	-
١٠	سيفترياكسون	١٣	CRO	% ١٠٠	-
١١	اموكسيسيلين	١٣	Ax	-	% ١٠٠
١٢	ستربتومايسين	١٣	S	% ١٠٠	-

## الفصل الخامس

### المناقشة

### Discussion

اللحم هي أحد المصادر الرئيسية للبروتين ذات المصدر الحيواني وذات القيمة الغذائية العالية التي تجعله وسيلة ممتازة لنمو الجراثيم. لضمان إنتاج اللحم بجودة ممتازة يجب أن يكون الذبح في المسالخ تحت إشراف طبيب بيطري ورقابة صحية فعالة. التلوث الجرثومي لأسطح جثث الحيوانات يرجع أساساً إلى وجود مجموعة واسعة من الكائنات الحية الدقيقة (منها جراثيم الإشريكية القولونية) في بيئة معالجة اللحم مثل المسالخ ومحلات القصابة. مصادر التلوث الرئيسية للحوم التي تحدث أثناء عمليات الذبح مثل الجلود ومحتويات الجهاز الهضمي للحيوانات المذبوحة والموظفين وبيئة العمل. والادوات التي تلازم اعداد اللحم مثل الواح التقطيع والسكاكين يحدث لها التلوث المتبادل بينها وبين اللحم بشكل مستمر. متابعة التقييم الصحي لهذه الادوات امرٌ ضروري لضمان الجودة الصحية (Aynewa *et al.*, 2021).

تُعد الاحياء المجهرية الممرضة التي تنتقل عبر الاغذية أحد اهم الأسباب الرئيسية لحدوث الامراض للإنسان والتي تؤدي الى الوفاة في جميع انحاء العالم. ان هذه الكائنات تشكل عبئاً ثقيلاً من خلال ما تسببه من خسائر اقتصادية كبيرة قد يكلف مليارات الدولارات في الرعاية الطبية والتكاليف الاجتماعية والآثار الاقتصادية الشاملة والبنية التحتية للبلدان وتهديد للأمن الاقتصادي لها. على مدى السنوات العشرين الماضية استمر ظهور مسببات الأمراض الرئيسية المنقولة بالغذاء ومن اهمها جراثيم الإشريكية القولونية باعتبارها مصدر قلق رئيسي للصحة العامة (Todd, 2014). ولأهمية هذه الجراثيم وتأثيرها على صحة الانسان تم اختيار هذا الموضوع للدراسة.

#### ١-٥: عزل وتمييز الإشريكية القولونية

أظهرت نتائج دراستنا إن نسبة عزل جراثيم الأشريكية القولونية في مدينة الموصل في محلات القصابة بلغت ٢٧.٤% (٥٠٤/١٣٨) و جاءت نتائج دراستنا متوافقة تقريبا مع نتائج الدراسة أجريت في مصر بمدينة المنصورة حيث كانت نسبة العزل ٢٦.٧% (Sallam, *et al.*, 2013). وكانت نسبة العزل

في دراستنا أعلى من العديد من الدراسات منها الدراسة التي أجريت في مدينة هاوسا في اثيوبيا إذ كانت نسبة عزل جراثيم الأشريكية القولونية من محلات القصابية واللحوم هي ٢.٣% (Worku *et al.*, 2022). وفي دراسة أخرى أجريت في العاصمة الأرجنتينية حيث كانت نسبة العزل ١١.١% (Barril *et al.*, 2019). ويعزى هذا الاختلاف في نسب العزل لجراثيم الأشريكية القولونية الى غياب برامج التعقيم والنظافة الفعالة للقضاء على تلك الجراثيم ومقاومتها للعوامل الفيزيائية والكيميائية إذ تلعب المياه قليلة الكلور والافرازات المخاطية والدماء والروث والجلود الملوثة كبيئة مناسبة لنمو وتكاثر جراثيم الأشريكية القولونية لفترة طويلة بينما كانت نسبة العزل في دراستنا اقل من بعض الدراسات منها الدراسة التي أجريت في مدينة جدة / السعودية حيث بلغت ٦٠% (Iyer *et al.*, 2013) وفي مدينة كربلاء / العراق ٤٥% (Hameed *et al.*, 2021).

اللحوم الطازجة الملوثة هي أحد المصادر الرئيسية للأمراض التي تنقلها الأغذية ويرتبط خطر انتقال العدوى الحيوانية المنشأ أيضاً باللحوم الملوثة. فالمدن الكبيرة والظروف الصحية غير الملائمة وسوء النظافة العامة اضافة الى محلات القصابية التي تعرض اللحوم في الهواء الطلق دون التحكم المناسب في درجة الحرارة يتم شراؤها من قبل عامة الناس (Abebe *et al.*, 2020).

أظهرت نتائج دراستنا أن النسبة المئوية لجراثيم الأشريكية القولونية كانت في اللحوم ٤١.٧%. (٨٤/٣٥) وهو ما يتفق تقريبا مع الدراسات السابقة التي وجدت أن نسبة جراثيم الأشريكية القولونية في اللحوم كانت ٤٣.١% في الهند (Sethulekshmi *et al.*, 2018) و ٤٣.٤% في الولايات المتحدة (Arthur *et al.*, 2002). بينما كانت نتائجنا أقل من الدراسات السابقة التي أظهرت أن النسبة المئوية لجراثيم الأشريكية القولونية من اللحوم في مصر كانت ٥٤% (Gwida *et al.*, 2014) و ٨٨% في غانا (Adzitey, 2020). بالإضافة إلى ذلك كانت نتائج الدراسة أعلى من الدراسات الأخرى التي وجدت أن معدل انتشار لجراثيم الأشريكية القولونية في اللحوم في إيران كانت ١.٥% (Maktabi *et al.*, 2016) وفي أستراليا كانت ١٧.٨% (Phillips *et al.*, 2008) وفي الولايات المتحدة ٢١.١% (٢٣٢/٤٩) (Tate *et al.*, 2021). هناك معدلات تلوث مختلفة لجراثيم الأشريكية القولونية في اللحوم والتي قد تكون بسبب الاختلافات في التوزيع الجغرافي وانظمة تغذية الحيوانات والاختلافات في معالجة اللحوم (Pezzoli *et al.*, 2008). تتعرض اللحوم ومنتجاتها للتلوث بجراثيم الأشريكية القولونية من دخول الحيوانات إلى المسلخ حتى تناول اللحوم. هناك العديد من العوامل التي تلعب دوراً مهماً في نقل جراثيم الأشريكية القولونية إلى اللحوم ومنتجاتها مثل جلود الحيوانات المتسخة بالبراز وأدوات القطع والآلات الأخرى والبيئة غير الصحية وعدم الاهتمام بالنظافة الشخصية للعمال (Boukary *et al.*, 2012). في البلدان النامية يرغب معظم الناس في شراء لحوم رخيصة من الأسواق غير الرسمية التي لا تطبق الشروط الصحية ومعايير سلامة اللحوم أثناء تجهيز اللحوم (Oguttu *et al.*, 2014).

وأظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة عزل الإشريكية القولونية في السكاكين هي ٣١% (٨٤/٢٦) وهذه النتائج كانت متوافقة مع ما توصلت اليه دراسة في البرازيل حيث كانت نسبة العزل ٣٢% (Lara et al., 2019). بينما كانت نتائج دراستنا أكثر من نتائج العزل التي توصل اليها الدراسة التي اجريت في اثيوبيا حيث كانت نسبة العزل (١٦.٧%) من السكاكين المستخدمة في تقطيع اللحوم في محلات القصابة (Sebsibe and Asfaw, 2020). وفي دراسة أخرى أجريت في نيجيريا هدفت هذه الدراسة الى معرفة مصادر تلوث اللحوم في محلات القصابة وكانت نسبة العزل للإشريكية القولونية في السكاكين ٢٥% وهذه النسبة تعتبر اقل من النتائج التي توصلت اليها دراستنا (Egbule et al., 2020)، قد يعود سبب هذا التفاوت بتلوث اللحوم بجراثيم الإشريكية القولونية بين النسب التي شملتها هذه الدراسة والدراسات السابقة الى اختلاف عدد العينات والفترة الزمنية وبيئة محلات القصابة والموقع الجغرافي والمراقبة الصحية اضافة الى ذلك عدم تطبيق الشروط الصحية.

في حين جاءت نتائجنا مغايرة لما توصلت اليه دراسة سابقة اذ بلغت نسبة العزل في السكاكين ٦٠% التي استخدمها في تقطيع اللحوم وبذلك كانت لديه نسبة العزل اعلى بضعف من النتائج التي توصلنا اليها (Adzitey et al., 2021). يعود السبب الى ان تلوث السكاكين وألواح التقطيع أمر شائع نظراً لوجود تماس مباشر ومتكرر باللحوم أثناء تقطيع اللحوم بيعها وعدم الغسل المنتظم للسكاكين وألواح التقطيع وعدم وجود عمليات تفتيش منتظمة تزداد نسبة التلوث بجراثيم الإشريكية القولونية. ومن جهة أخرى اجريت مؤخرًا دراسة في المغرب في مدينة مراكش وجدوا ان نسبة العزل في السكاكين المستخدمة في المجازر تصل الى ٩٠% ويعزى هذا التباين بنسب العزل الى الاختلاف في الظروف الصحية التي قد تكون محفوفة بالمخاطر لتلوث اللحوم وأسطح التلامس المختلفة (ومنها السكاكين) مع المواد البرازية (Bahir et al., 2022). أثناء الذبح والمعالجة في محلات القصابة تعد المستويات الأعلى من جراثيم الإشريكية القولونية في الأدوات مؤشراً على عدم كفاية التنظيف وسوء التطهير. يعد الحمل الميكروبي العالي على السكين مؤشراً على التنظيف غير الكافي وسوء أو عدم التعقيم والاستخدام المستمر لسكين واحد لعمليات مختلفة و ملامسته للأسطح المتسخة أو الملوثة وعدم الفصل بين العمليات النظيفة والمتسخة. اثناء التعامل وتجهيز الذبيحة وتم تأكيد ذلك خلال المسح وبين ان ٣١% من عمال المجزرة وضعوا سكاكينهم على الأرض مم قد يساهم وجود مسببات الأمراض الجرثومية على الأسطح الملامسة للحوم في تلوث اللحوم (Bahir et al., 2022).

تعتبر أيدي العمال مصدرًا رئيسيًا مهمًا لتلوث اللحوم أثناء تجهيز الذبيحة وتقطيعها وكذلك عند فرم اللحوم. والأيدي تلوث اللحوم اما من قلة النظافة الشخصية والعادات السيئة او وجود افة مرضية جلدية كما في حالة وجود الجروح والقروح على اليدين او قلة الوعي الصحي من خلال عدم الفصل بين

الجزء النظيف والجزء الملوث في عمليات الذبح وتجهيز اللحوم من خلال ملامستها للأسطح الغنية بالجراثيم مثل جلد الحيوانات المذبوحة والمحتويات المعوية والخراجات. يمكن أن تكون اليدين مصدرًا للتلوث أثناء نزع الجلد والأحشاء (Getaneh, 2019).

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة العزل لجراثيم الإشريكية القولونية من ايدي القصابين هي ٢٣.٨% (٨٤/٢٠). حيث كانت نسب دراستنا مقارنة مع نتائج دراسات سابقة حيث كانت نسبة العزل ٢٠% (Abayneh et al., 2019) وفي حين كانت نتائج الدراسة الحالية اعلى مما توصل اليه دراسات سابقة حيث كانت نسبة العزل من ايدي القصابين ١٠% (Adzitey et al., 2021). وكذلك الحال عندما سلط الباحث الضوء على ان نسبة العزل لجراثيم الإشريكية القولونية من ايدي العمال ١٦.٧% في محال القصابة في مدينة جيما في جنوب اثيوبيا (Sebsibe and Asfaw, 2020) وكانت كلتا النسبتين السابقتين اقل من نتيجة العزل للإشريكية القولونية من ايدي القصابين التي جاءت في دراستنا يعزى السبب في تباين النسب الى ظروف اخذ العينات وحجمها.

في حين جاءت نتائج دراستنا اقل مما توصلت اليه الدراسة في السعودية حيث سجل نسبة عزل لجراثيم الاشريكية القولونية من ايدي القصابين 30% (Elabbasy et al., 2021). وجاءت نتائجنا للعزل اقل بكثير مما توصلت اليه الدراسة في المغرب حيث بلغت نسبة عزل جراثيم الاشريكية القولونية وهي ٨٠% (Bahir et al., 2022). يعود السبب لهذا التفاوت في نسب العزل الى عدم التزام القصابين وعمال المجازر بالشروط الصحية الواجب مراعاتها اثناء العمل.

في هذه الدراسة كانت النسبة ٢٣.٨% من ايدي القصابين وهي اقل من دراسات سابقة اذ بلغت نتائج العزل من ايدي القصابين من أسواق مدينة جيما شمال شرق اثيوبيا ٤٠% (Sebsibe and Asfaw, 2020). و جنوب نيجيريا ٣٧.٥% (Egbule et al., 2020). يعزى السبب لهذا التفاوت في نسب العزل الى غياب البرامج التعليمية والدورات التدريبية المنتظمة للقصابين وعمال المجازر لتمكنهم من فهم أهمية توفير البيئة الصحية والنظيفة لإنتاج اللحوم فضلا عن المستوى الثقافي للعمال.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة العزل لجراثيم الإشريكية القولونية في المناضد هي ٣١% (٨٤/٢٦). حيث تقاربت نسب دراستنا من نتائج الدراسة مع نتائج دراسات سابقة التي اجريت حيث كانت نسبة العزل ٣٠% (Adzitey et al., 2021). وبينما كانت نتائج دراستنا اعلى مما توصل اليه دراسات سابقة حيث كانت نسبة العزل من المناضد ٢٥% (Abayneh et al., 2019). وفي نيجيريا كانت ٢٠% (Zailani et al., 2016) يعزى السبب في اختلاف النسب الى ظروف اخذ العينات وحجمها وطرائق الكشف عن الجراثيم ويمكن أن يعزى كذلك إلى التنظيف / الغسل أو التطهير غير المناسب لسطح الطاولة

فضلاً عن إمكانية ظهور الأغشية الحيوية لجراثيم الإشريكية القولونية على الطاولات ( Zailani *et al.*, 2016).

في الوقت الحاضر يتزايد استهلاك اللحوم المفرومة في جميع أنحاء العالم وذلك بزيادة أنواع الوجبات الغذائية التي تحتوي على اللحوم المفرومة أشهرها البرجر والكباب فيزداد خطر انتشار التلوث الجرثومي لجراثيم الإشريكية القولونية من خلال زيادة المساحة السطحية للتلوث وتدمير الحماية الطبيعية التي توفرها الأغشية المحاطة باللحوم. تصبح مكائن الفرغ أكثر خطورة من خلال نشرها للتلوث وذلك باستخدام مكائن فرغ ملوثة او مزج قطع اللحم التي تحتوي على جراثيم الإشريكية القولونية مع القطع الخالية من هذه الجراثيم وبهذه الطريقة يتم نشر التلوث ميكانيكياً.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة عزل لجراثيم الإشريكية القولونية في مكائن الفرغ هي ٢٠.٢% (٨٤/١٧). وهذه النتائج كانت غير متوافقة مع ما توصلت اليه دراسة أجريت في مصري حيث كانت نسبة عزل للإشريكية القولونية ٣٦.١% التي تم عزلها من الاسطح الملامسة للحوم مثل مكائن الفرغ في محلات بيع اللحوم في محافظة السويس / مصر (Abdelrahman *et al.*, 2016). وكذلك كانت نسبة العزل في دراستنا اقل مما توصلت اليه الدراسة الأرجنتينية حيث كانت نسبة العزل ٦٧.٧% (Brusa *et al.*, 2013). بينما كانت نتائج دراستنا أكثر من دراسة اجريت في مدينة بونس آيرس / ارجنتين حيث كانت نسبة العزل (١١.٩%) من مكائن الفرغ المستخدمة في فرغ اللحوم في محلات القصابة (Leotta *et al.*, 2016). وهذه النسبة تعتبر اقل من النتائج التي توصلت اليها دراستنا. ويعود السبب في هذا التفاوت بالنسب الى ان تلوث مكائن الفرغ أمر شائع نظراً لوجود تماس مباشر ومتكرر باللحوم أثناء فرغ اللحوم وعدم الغسل المنتظم بالمنظفات الفعالة والمطهرات لمكائن الفرغ تزيد من فرص التلوث بجراثيم الإشريكية القولونية.

في خطوط سلسلة معالجة اللحوم من المحتمل أن تكون الأسطح الرئيسية مستعمرة من قبل الكائنات الحية الدقيقة على سبيل المثال الكلاب السكاكين الأواني وأحزمة النقل علاوة على ذلك قد توجد بداخلها بعض المواقع التي يصعب الوصول إليها (على سبيل المثال الأجزاء المجوفة والحاشيات والمواد غير المصقولة أو البالية)؛ فهي عبارة عن منافذ محتملة لإيواء الكائنات الحية الدقيقة التي قد تشكل على الأرجح مستودعات لما يسمى بالجراثيم الثابتة.

أظهرت نتائج دراستنا ان نسبة العزل لجراثيم الإشريكية القولونية في الكلابيب ١٦.٧% (٨٤/١٤) وجاءت هذه النسبة اقل مما توصل اليه الباحث المغربي حيث كانت نسبة العزل لجراثيم الإشريكية القولونية في الكلابيب هي ٦٠% (Bahir *et al.*, 2022) وهذه النسبة عالية جدا قياساً بنتيجة

الدراسة الحالية ويعزى السبب لهذا التباين بنسب العزل الى عدم الالتزام بالتعليمات والشروط الصحية التي تؤكد على غسل وتعقيم الأدوات المستخدمة في محلات القصابة بشكل دوري.

### ٢-٥: عزل وتمييز النمط المصلي O157: H7

تم الكشف عن جميع العزلات للنمط المصلي O157: H7 باستخدام الطرائق التقليدية من خلال استخدام وسط الكروم واختبارات الكيموحيوية الخاص بجرثومة الأشريكية القولونية نوع O157: H7 والكشف عن الجينات المسؤولة عن افراز سموم الشيكات (*Stx1, Stx2*) كذلك تم إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية للكشف عن مقاومة الإشريكية القولونية نوع O157: H7 للمضادات الحيوية.

أظهرت نتائج دراستنا إن نسبة عزل النمط المصلي O157: H7 في مدينة الموصل في محلات القصابة بلغت ٩.٤% (١٣٨/١٣) وجاءت نتائج دراستنا مطابقة مع نتائج الدراسة التي قام بها الباحث الباكستاني في مدينة كويتا في باكستان حيث كانت نسبة العزل ١٠% (Samad et al., 2018). وكانت نسبة العزل في دراستنا أعلى من العديد من الدراسات منها الدراسة التي أجريت في مدينة هاوسا في إثيوبيا إذ كانت نسبة عزل النمط المصلي O157: H7 من محلات القصابة واللحوم هي ٢.٤% (Atnafie et al., 2017). ويعزى هذا الاختلاف في نسب العزل لجرثيم الأشريكية نوع O157: H7 الى غياب برامج التعقيم والنظافة الفعالة للقضاء على تلك الجرثيم ومقاومتها للعوامل الفيزيائية والكيميائية إذ تلعب المياه الغير معالجة بالكلور والافرازات المخاطية والدم والفضلات والجلود الملوثة كبيئة مناسبة لنمو وتكاثر النمط المصلي O157: H7. بينما كانت نسبة العزل في دراستنا اقل من بعض الدراسات منها الدراسة التي أجريت في مدينة سورا كارتا في اندونيسيا حيث جاءت النسب اعلى من نتائج الدراسة الحالية حيث بلغت ٢٨.٦% و قد يُعزى التلوث بالإشريكية القولونية نوع O157: H7 في المياه في المسالخ إلى حالة الخزانات التي لم تتم تغطيتها بحيث يمكن أن يحدث تلوث جرثومي من براز الحيوانات. قد يحدث التلوث أيضاً بسبب ملامسة أيدي القصابين (العمال) وأي شيء آخر من البيئة (Goma et al., 2019).

أظهرت نتائج دراستنا أن النسبة المئوية للنمط المصلي O157: H7 كانت في اللحوم ١١.٤% (٣٥/٤) كانت نتائجنا أقل من نسبة نتائج الدراسات السابقة التي أظهرت أن النسبة المئوية للنمط المصلي O157: H7 من اللحوم في الأرجنتين حيث بلغت النسبة ٢٥.٥% (Brusa et al., 2013). بينما كانت نتائج الدراسة الحالية أكثر من النتائج التي توصل اليها الباحثان Sebsibe و Asfaw (2020) حيث بلغت نسبة العزل ٤% في دراسته. قد يعود سبب الاختلاف بين النسب هو ان اللحوم الملوثة بالإشريكية القولونية O157: H7 في محلات القصابة ناتجة عن عوامل مختلفة بما في ذلك التلوث البرازي للحوم

والأدوات الملوثة التي لم يتم تعقيمها بأي شكل من الأشكال وممارسات النظافة الشخصية غير الملائمة وتلوث الهواء وجود الحشرات والقوارض (Atnafie et al., 2017).

وأشارت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة عزل النمط المصلي O157: H7 في ايدي العمال هي ٢٠% (٢٠/٤) ونسبة هذه النتائج كانت اعلى من نسبة النتائج التي توصل اليه الباحثان Sebsibe و Asfaw (2020) حيث كانت نسبة عزل النمط المصلي O157: H7 هي ٥.٥% وبينما كانت نتائج دراستنا اقل من النتائج التي توصل اليها الباحث (Akkaya et al., 2008) حيث كانت نسبة العزل ٣٣%. ويعزى السبب لهذا التفاوت في نسب العزل الى غياب البرامج التعليمية والدورات التدريبية المنتظمة للقسابيين وعمال المجازر لتمكنهم من فهم أهمية توفير البيئة الصحية والنظيفة لإنتاج اللحوم (Cook et al., 2017).

أظهرت نتائج دراستنا أن النسبة المئوية للنمط المصلي O157: H7 كانت في السكاكين ٧.٧% (٢٦/٢) هي أقل من الدراسات السابقة ومنها الدراسة التي أظهرت أن النسبة المئوية للنمط المصلي O157: H7 بلغت ٢٥% (Akkaya et al., 2008). بينما كانت نتائج الدراسة الحالية أكثر من النتائج التي توصلت اليها الدراسة حيث بلغت نسبة العزل ٥% (Sebsibe and Asfaw, 2020). وقد يرجع السبب في هذا الاختلاف بين نسبة العزل في دراستنا والدراسات السابقة الى الاختلاف في الظروف الصحية التي قد تكون محفوفة بالمخاطر لتلوث اللحوم وأسطح التلامس المختلفة (ومنها السكاكين) مع المواد البرازية والايدي الملوثة.

أظهرت نتائج الدراسة الحالية ان نسبة العزل للنمط المصلي O157: H7 في المناضد هي ٧.٧% (٢٦/٢). حيث اختلفت نسب دراستنا مع نتائج دراسات سابقة حيث كانت نسبة العزل ١٠% (Sebsibe and Asfaw 2020) وكانت نتائج دراستنا اعلى مما توصل اليه دراسات سابقة حيث كانت نسبة العزل من المناضد ٢.٢% (Brusa et al., 2013). يعزى السبب في اختلاف النسب الى ظروف اخذ العينات وحجمها وطرق الكشف عن الجراثيم ويمكن أن يعزى كذلك إلى التنظيف أو التطهير غير المناسب لسطح الطاولة فضلاً عن إمكانية ظهور الأغشية الحيوية للنمط المصلي O157: H7 على الطاولات.

أظهرت نتائج دراستنا ان نسبة العزل للنمط المصلي O157: H7 في الكلابيب ٧.١% (١٤/١) وجاءت نتائج دراستنا اقل مما توصل اليه الباحث Akkaya وجماعته، (2008). حيث كانت نسبة العزل للنمط المصلي O157: H7 في الكلابيب هي 25%. وكانت نسبة العزل أكثر من نسبة العزل التي توصل اليها الباحث (Kago 2015) حيث كانت النسبة ٠% ويعزى السبب لهذا التباين بنسب العزل الى عدم

الالتزام بالتعليمات والشروط الصحية الواجب اتباعها التي تؤكد على غسل وتعقيم الأدوات المستخدمة في محلات القصابة وبشكل دوري.

وأشارت نتائج الدراسة الحالية الى عدم عزل النمط المصلي O157: H7 في مكائن الفرغ وهذه النتائج كانت غير متوافقة مع دراسة سابقة حيث كانت نسبة العزل عالية جدا ٢٥% (Akkaya et al., 2008) ويعود السبب في هذا التفاوت الكبير بالنسب الى ان تلوث مكائن الفرغ أمراً شائعاً نظراً لوجود تماس مباشر ومتكرر باللحوم أثناء فرغ اللحوم وعدم الغسل المنتظم بالمنظفات الفعالة والمطهرات لمكائن الفرغ تزيد من فرص التلوث بجراثيم الإشريكية القولونية.

### ٣-٥: التوصيف الجزيئي

أظهرت الدراسة الحالية أن جراثيم الإشريكية القولونية تمتلك جين *Stx1* بنسبة ٢١.٧% (١٣٨/٣٠) في حين كانت العزلات نفسها تمتلك جين *Stx2* بنسبة ١٢.٣% (١٣٨/١٧) كما كشفت دراستنا أن معظم جراثيم الإشريكية القولونية تمتلك الجينات *Stx1* و *Stx2* وبنسبة ٦٦% (١٣٨/٩١). تم اكتشاف الجين *Stx1* في الغالب أكثر من *Stx2* في جراثيم الإشريكية القولونية وكانت نتائجنا مماثلة للدراسات السابقة التي أظهرت أن *Stx1* كان أكثر تكراراً في عزلات الإشريكية القولونية المعزولة من الاطعمة المقدمة للمرضى في المستشفيات الإيرانية بالإشريكية القولونية (Ranjbar et al., 2017). أظهرت العديد من الدراسات وجود اختلاف بالنسب بين الجين *Stx1* و *Stx2* في عزلات الإشريكية القولونية أظهرت الدراسة السابقة أن ٢٩% من عزلات جراثيم الإشريكية القولونية تمتلك الجين *Stx1* و ٥١% من عزلات الإشريكية القولونية تحمل الجين *Stx2* و ٢٠% من العزلات تمتلك كلا من *Stx1* و *Stx2* (Mora et al., 2007). بينما أظهرت دراسات سابقة في بوينس آيرس الأرجنتين أن ٥.٣% من عزلات جراثيم الإشريكية القولونية تحمل *Stx1* و ٨٦% من العزلات تحتوي على *Stx2* و ٨.٨% من العزلات تمتلك *Stx1* و *Stx2* (Llorente et al., 2014). وأظهرت دراسة أخرى أن ٤٠.٦٨% من عزلات الإشريكية القولونية تحتوي على جين *Stx1* و ٥.٨٨% من جراثيم الإشريكية القولونية المعزولة لديها جين *Stx2* حيث كان الهدف من هذه الدراسة هو تقييم مستوى ومصادر تلوث اللحم البقري الطازج بجراثيم الإشريكية القولونية وتحديد حالات حدوث سلالات بجراثيم الإشريكية القولونية في لحوم الأبقار الطازجة من المسالخ غير الرسمية والتجارية في Windhoek في ناميبيا (Nehoya et al., 2020).

### ٤-٥: اختبار فحص الحساسية للمضادات الحيوية

فحصت حساسية العزلات الجرثومية للمضادات الحيوية التي تم تحديدها في الدراسة وقد كانت الجراثيم مختلفة في مقاومتها لهذه المضادات المفحوصة اذ كانت اغلب العزلات الجرثومية متعددة المقاومة للمضادات الحيوية (MDR) multi-drug resistance.

تتفق نتائج هذه الدراسة بالنسبة للمضاد الحيوي Cephalothin مع ما سبقها من دراسات ومنها نتائج الباحث Jung وجماعته (2021) التي بلغت فيها نسبة العزلات الجرثومية المقاومة للسيفالوثين 100 % وتتفق نتائج هذه الدراسة مع النتائج التي توصلت اليها دراسة اجريت في مصر حيث كانت غالبية عزلات جراثيم الاشريكية القولونية المعزولة من الدجاج والانسان مقاومة لمضادات سيفالوثين وبنسبة ١٠٠ % (Badr *et al.*, 2022) والذي أشار الى ان الجراثيم قد استعملت اليات عديدة في المقاومة لهذا المضاد الحيوي كما اشار الى ان اسباب المقاومة العالية لأكثر المضادات الحيوية تعود الى الاستعمال المفرط للمضادات الحيوية الطفرات التي تشفر للإنزيمات فضلا عن احتمالية انتقال صفة المقاومة للإشريكية القولونية من الحيوانات الى الانسان عن طريق تناول الأغذية الملوثة بهذه الجراثيم.

بينما لم تتفق نتائج الدراسة الحالية مع النتائج التي توصل اليها الباحث Kim واخرون (2022) بلغت النسبة ٧١.٥ % وبين ان كثيراً ما تستخدم مضادات الحيوية ذات الأهمية الحاسمة في الطب البشري اما نتائج الدراسة الحالية اظهرت مقاومة جراثيم الاشريكية القولونية للمضاد الحيوي Erythromycin وبنسبة ٨٠ % فجاءت اقل من النسبة التي توصل اليها الباحث El-Ashmony واخرون في محافظة البحيرة في مصر حيث بلغت النسبة ٢٢/٢٢ (١٠٠ %) لمقاومة الإشريكية القولونية المضاد الحيوي Erythromycin المعزولة من المنتجات الحيوانية مثل لحوم الابقار والجاموس وحليب الجاموس ولحوم الدواجن ويعود السبب الى هذه الزيادة في نسبة المقاومة للمضاد الحيوي الى الاستعمال المفرط للمضادات الحيوية الطفرات التي تشفر الإنزيمات فضلا عن انتقال المقاومة بواسطة البلازميد plasmid. وجاءت نسبة مقاومة المضاد الحيوي Erythromycin في دراستنا أكثر من النسبة التي وجدت محليا في مدينة كربلاء / العراق حيث بلغت نسبة ٥٢ % ويعزى هذا الاختلاف بين النسبتين الى سوء الاستعمال من قبل مربى الحيوانات للمضاد الحيوي دون وصفة طبية بيطرية او إجراء إختبار الحساسية لتحديد المضاد الفعال (Hameed *et al.*, 2021).

غالبًا ما تسبب جراثيم الإشريكية القولونية المسببة للأمراض الإسهال والإنتان وأعراض إكلينيكية أخرى ولا تزال واحدة من مسببات الأمراض المعوية الرئيسية التي تؤثر على صحة الإنسان والحيوان. يستخدم الأمبيسلين (AMP) وهو مضاد حيوي شبه اصطناعي على نطاق واسع لعلاج عدوى جراثيم الإشريكية القولونية البشرية والحيوانية ولكن مؤخرًا زاد معدل مقاومته. غالبًا ما تقاوم الجراثيم مثل هذه

المضادات الحيوية بالطرق التالية: ترميز  $\beta$ -lactamase وتغيير البروتين المستهدف في جدار الخلية وتقليل نفاذية الغشاء الخارجي وزيادة نشاط مضخة تدفق الدواء التي تعمل على طرح المضاد الحيوي الى خارج الخلية الجرثومية. يعطى للحيوانات العقاقير المضادة للجراثيم ثم تنتشر في البيئة عن طريق الفضلات والتي لا تجعل البيئة ملوثة فحسب بل تلحق أيضاً ضرراً كبيراً بصحة الإنسان والتنمية المستدامة لتربية الحيوانات. (Li et al., 2019).

وأشارت الدراسة الى مقاومة جراثيم الإشريكية القولونية للمضاد الحيوي Amoxicillin وبنسبة ٦٢% وجاءت نتائج دراستنا مطابقة الى ما توصل اليه الباحث Aslani وجماعته، (2008) حيث كانت نسبة المقاومة للمضاد الحيوي (٦٢%). اما نتائج الدراسة الحالية بالنسبة للمضاد الحيوي Amoxicillin فجاءت اقل من النسبة التي توصلت اليها الدراسة التي اجريت في غانا حيث كانت نسبة مقاومة جراثيم الإشريكية القولونية المعزولة من اللحوم المحلية حيث كانت النسبة المقاومة هي ٧٠.٩% (Adzitey et al., 2021) ويرجع السبب في ارتفاع نسبة المقاومة للمضاد الحيوي الى سوء الاستخدام البيطري للمضاد الحيوي في الحيوانات المنتجة إذ يستعمل كمعزز للنمو وكعلاج لمنع الأمراض إذ تعتبر واحدة من اهم المشاكل الخطيرة التي تؤدي الى زيادة في مقاومة المضاد سواء في الإنسان او الحيوان وفي الحيوانات المنتجة للغذاء (اللحوم والحليب) يؤثر المضاد في وظيفة الجراثيم المعوية ويعمل على رفع نسب المقاومة. في حين جاءت نتائجنا اعلى مما توصلت اليه الدراسة التي اجريت في اندونيسيا حيث كانت نسبة المقاومة هي ٣٠.٧٧% (Amalo et al., 2021). يمكن أن يرجع سبب هذا المستوى العالي من المقاومة إلى حقيقة أن استخدام المضادات الحيوية وبشكل مفرط مما أدى الى ظهور جراثيم مقاومة. في معظم البلدان النامية تتوفر هذه المضادات الحيوية بسهولة دون وصفة طبية. قد يكون الاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية وإساءة استخدامها واستهلاك المضادات الحيوية دون المستوى الفعال قد أسهم على مر السنين في ارتفاع معدل مقاومة المضادات الحيوية.

## الفصل السادس

### الاستنتاجات والتوصيات

## Conclusions and Recommendations

### ١.٦ : الاستنتاجات

- ١- تلوث اللحوم بجراثيم الاشريكية القولونية المنتجة للسموم الشيغا فضلا عن تلوثه بالنمط المصلي O157:H7.
- ٢- تعدُّ محلات القصابة احدى محطات تلوث اللحوم بجراثيم الاشريكية القولونية من خلال تلوث جميع الادوات المستخدمة داخل محلات القصابة فضلا عن ايدي العمال.
- ٣- نسبة التلوث بجراثيم الاشريكية القولونية في محلات القصابة في الجانب الأيمن لمدينة الموصل أكثر من نسبة التلوث في الجانب الايسر.
- ٤- امكانية جراثيم الاشريكية القولونية من احداث التسمم الغذائي من خلال امتلاكها على جينات *Stx1* و *Stx2* المسؤولين عن انتاج سموم الشيكا.
- ٥- امتلاك جراثيم الاشريكية القولونية على صفة المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية multidrug resistance (MDR) سيما الايرثرومايسين والسيفالوثين الأموكسيسيلين نتيجة الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية من قبل المربين .

**٢.٦: التوصيات**

١. تطبيق جميع الشروط الصحية والوقائية داخل محلات القصابة مع اجراء زيارات دورية من قبل اللجنة الصحية لمتابعة محلات القصابة.
٢. متابعة ذبح الحيوانات داخل المجازر بصورة مستمرة مع اجراء فحوصات طبية للعاملين داخل المجازر مع فحص الحيوانات التي سوف يتم ذبحها.
٣. منع الذبح الخارجي الذي يحدث داخل محلات القصابة وذلك لما يسببه من مشاكل صحية ونشر الجراثيم المعوية داخل المدينة من خلال رمي محتويات الذبيحة في الاسواق والاحياء السكنية.
٤. التزام العاملين في المسالخ ومحلات القصابة بالشروط الصحية والنظافة الشخصية عند التعامل مع اللحوم للحد من تلوثها.
٥. تغليف الجثث وقطع اللحم والاجزاء الاخرى المعروضة في محلات القصابة.
٦. اجراء الدورات التثقيفية والتوعوية للقصابين ولبائعي اللحوم لمعرفة أهمية اللحوم بنقل الامراض الخطيرة على صحة الانسان.
٧. اجراء دراسات مستمرة لعزل الجراثيم المسببة للتسمم الغذائي من لحوم الحيوانات المذبوحة داخل المجازر ومحلات القصابة في مدينة الموصل.
٨. نشر الوعي الصحي بين مربى الحيوانات وعدم استخدام المضادات الحيوية الا بعد اخذ استشارة طبية من قبل الطبيب البيطري وعند وجوب استخدامها يجب التأكد من نوع المضاد الحيوي المناسب والفعال من خلال اجراء فحص الحساسية.

## المصادر

- Abass, A., F. Adzitey and N. Huda (2020). "*Escherichia coli* of ready-to-eat (RTE) meats origin showed resistance to antibiotics used by farmers." *Antibiotics* 9(12): 869.
- Abayneh, M., G. Tesfaw, K. Woldemichael, M. Yohannis and A. Abdissa (2019). "Assessment of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBLs)–producing *Escherichia coli* from minced meat of cattle and swab samples and hygienic status of meat retailer shops in Jimma town, Southwest Ethiopia." *BMC Infectious Diseases* 19(1): 1-8.
- Abd Al-Rubaey, M. G. (2016). "Detection of *Escherichia coli* and *E. coli* O157 in Veal Mincemeat in Baghdad." *Kufa Journal of Veterinary Medical Sciences* 7(1).
- Abdelrahim, S. S., M. Fouad, N. Abdallah, R. F. Ahmed and S. Zaki (2021). "Comparative Study of CTX-M-15 Producing *Escherichia coli* ST131 Clone Isolated from Urinary Tract Infections and Acute Diarrhoea." *Infection and Drug Resistance* 14: 4027.
- Abdelrahman, H., S. Ismail and A. Harydi (2016). "Bacteriological Evaluation of Meat Contact Surfaces at Egyptian Hypermarkets." *Suez Canal Veterinary Medical Journal. SCVMJ* 21(1): 99-107.
- Abdissa, R., W. Haile, A. T. Fite, A. F. Beyi, G. E. Agga, B. M. Edao, F. Tadesse, M. G. Korsas, T. Beyene and T. J. Beyene (2017). "Prevalence of *Escherichia coli* O157: H7 in beef cattle at slaughter and beef carcasses at retail shops in Ethiopia." *BMC infectious diseases* 17(1): 1-6.

- Abdulrazzaq, K. M., M. S. Owain, H. M. Majeed and O. H. Al-Hyani (2021). "Molecular detection of *rfb* O157, shiga toxins and hemolysin genes for *Escherichia coli* O157: H7 from canine feces in Tikrit and Mosul cities, Iraq." *Iraqi Journal of Veterinary Sciences* 35(2): 325-329.
- Abebe E., G. Gugsa, M. Ahmed,(2020). "Review on Major Food-Borne Zoonotic Bacterial Pathogens", *Journal of Tropical Medicine*, vol. 2020, Article ID 4674235, 19 pages, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/4674235>
- Abong'o, B. O. and M. N. Momba (2009). "Prevalence and characterization of *Escherichia coli* O157: H7 isolates from meat and meat products sold in Amathole District, Eastern Cape Province of South Africa." *Food microbiology* 26(2): 173-176.
- Adhikari, B. M. (2019). Study on hygienic quality of buffalo meat marketed in Dharan. A dissertation submitted to Central Campus of Technology, Food Technology Instruction Committee, in partial fulfillment of the requirements for the degree of Bachelor's Degree in Food Technology (B. Tech. Food). Tribhuvan – Nepal.
- Adzitey, F. (2020). "Incidence and antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* isolated from beef (meat muscle, liver and kidney) samples in Wa Abattoir, Ghana." *Cogent Food & Agriculture* 6(1): 1718269.
- Adzitey, F., N. Huda and A. H. M. Shariff (2021). "Phenotypic Antimicrobial Susceptibility of *Escherichia coli* from Raw Meats, Ready-to-Eat Meats, and Their Related Samples in One Health Context." *Microorganisms* 9(2): 326.

- Åhman, J., E. Matuschek and G. Kahlmeter (2020). "EUCAST evaluation of 21 brands of Mueller–Hinton dehydrated media for disc diffusion testing." *Clinical Microbiology and Infection* 26(10): 1412. e1411-1412. e1415.
- Akkaya, L., M. Alisarli, Z. Cetinkaya, R. Kara and R. Telli (2008). "Occurrence of *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* spp. in beef slaughterhouse environments, equipment and workers." *Journal of Muscle Foods* 19(3): 261-274.
- Ali, J., Q. A. Rafiq and E. Ratcliffe (2018). "Antimicrobial resistance mechanisms and potential synthetic treatments." *Future Science OA* 4(4): FSO290.
- Ali, N. H., A. Farooqui, A. Khan, A. Y. Khan and S. U. Kazmi (2010). "Microbial contamination of raw meat and its environment in retail shops in Karachi, Pakistan." *The Journal of Infection in Developing Countries* 4(06): 382-388.
- Al-Saadi, Z. H. A. and R. M. Abdullah (2019). "Phenotypic and Molecular Detection of *Escherichia coli* Efflux Pumps from Uti Patients." *Biochemical and Cellular Archives* 19 (Suppl. 1): 2371-2376.
- Al-Saadi, Z. H., A. H. Tarish and E. A. Saeed (2018). "Phenotypic detection and antibiotics resistance pattern of local serotype of *E. coli* O157:H7 from children with acute diarrhea in Hilla city/Iraq." *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research* 10(3): 604-609.
- Amalo, G. F., T. Purnawarman and H. Pisestyani (2021). "*Escherichia coli* Contamination and its Resistance to Antibiotics in se'i Meat." *Jurnal Kedokteran Hewan* March 15(1): 27-30.

- Animal and Plant Quarantine Agency (APQA). 2020. National antimicrobial resistance monitoring program. APQA, Gimcheon, Republic of Korea.
- Arthur, T. M., G. A. Barkocy-Gallagher, M. Rivera-Betancourt and M. Koohmaraie (2002). "Prevalence and characterization of non-O157 Shiga toxin-producing *Escherichia coli* on carcasses in commercial beef cattle processing plants." *Applied and environmental microbiology* 68(10): 4847-4852.
- Aryal, S. (2019). Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC). *Microbe Notes*. Available from: [www.microbenotes.com](http://www.microbenotes.com). [Accessed 1<sup>st</sup>, November, 2019].
- Aslani, M. M., S.-A. Ahrabi, Y. M. Alikhani, F. Jafari, R. M. Zali and M. Mani (2008). "Molecular detection and antimicrobial resistance of diarrheagenic *Escherichia coli* strains isolated from diarrheal cases." *Saudi medical journal* 29(3): 388-392.
- Atnafie, B., D. Paulos, M. Abera, G. Tefera, D. Hailu, S. Kasaye and K. Amenu (2017). "Occurrence of *Escherichia coli* O157: H7 in cattle feces and contamination of carcass and various contact surfaces in abattoir and butcher shops of Hawassa, Ethiopia." *BMC microbiology* 17(1): 1-7.
- Aynewa, D., Gizaw, Z., & Haile, A. F. (2021). Assessment of Bacteriological Quality of Sheep Carcasses, Effect Level of 2.5% Citric Acid Spray on Bacterial Contamination of Meat, and Hygiene Practices of Workers in a Selected Abattoir in Debrezeit Town, Central Ethiopia. *Environmental Health Insights*, 15, 11786302211037555.
- Aydogdu, M. H. and N. Kucuk (2018). "General analysis of recent changes in red meat consumption in Turkey." *IOSR Journal of Economics and*

- Finance (IOSRJEF) 9(6): 1-8. bacteria. 3 ed. William and Wilkins, USA.
- Badr, H., R. M. Reda, N. M. Hagag, E. Kamel, S. M. Elnomrosy, A. I. Mansour, M. A. Shahein, S. F. Ali and H. R. Ali (2022). "Multidrug-Resistant and Genetic Characterization of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *E. coli* Recovered from Chickens and Humans in Egypt." *Animals* 12(3): 346.
- Bahir, M. A., I. Errachidi, M. Hemlali, B. Sarhane, A. Tantane, A. Mohammed, B. Belkadi and A. Filali-Maltouf (2022). "Knowledge, Attitude, and Practices (KAP) Regarding Meat Safety and Sanitation among Carcass Handlers Operating and Assessment of Bacteriological Quality of Meat Contact Surfaces at the Marrakech Slaughterhouse, Morocco." *International Journal of Food Science* 2022.
- Bai, X., C. H. Nakatsu and A. K. Bhunia (2021). "Bacterial Biofilms and Their Implications in Pathogenesis and Food Safety." *Foods* 10(9): 2117.
- Banatvala, N., A. Magnano, M. Cartter, T. Barrett, W. Bibb, L. Vasile, P. Mshar, M. Lambert-Fair, J. Green and N. Bean (1996). "Meat grinders and molecular epidemiology: two supermarket outbreaks of *Escherichia coli* 0157: H7 infection." *Journal of Infectious Diseases* 173(2): 480-483.
- Banatvala, N., P. M. Griffin, K. D. Greene, T. J. Barrett, W. F. Bibb, J. H. Green and J. G. Wells (2001). "The United States national prospective hemolytic uremic syndrome study: microbiologic, serologic, clinical, and epidemiologic findings." *The Journal of infectious diseases* 183(7): 1063-1070.

- Band, V. I. and D. S. Weiss (2014). "Mechanisms of antimicrobial peptide resistance in Gram-negative bacteria." *Antibiotics* 4(1): 18-41. doi:10.3390/antibiotics4010018
- Barril, P. A., S. A. Soto, M. V. Jaureguiberry, G. Gottardi, I. Bascur, G. A. Leotta and J. M. Oteiza (2019). "Microbiological risk characterization in butcher shops from the province of Neuquen, Patagonia Argentina." *LWT* 107: 35-40.
- Bauzad, M., F. N. Yuliaty, K. I. Prahesti and R. Malaka (2019). Total plate count and *Escherichia coli* in raw buffalo milk in curio district enrekang regency. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing.
- Behlke, M. A., K. Berghof-Jäger and T. Brown (2019). Polymerase Chain Reaction: Theory and Technology, Caister Academic Press Norfolk. Available from: <https://www.caister.com/pcr4> [Accessed July 2019].
- Bell, B. P., M. Goldoft, P. M. Griffin, M. A. Davis, D. C. Gordon, P. I. Tarr, C. A. Bartleson, J. H. Lewis, T. J. Barrett and J. G. Wells (1994). "A multistate outbreak of *Escherichia coli* O157: H7—associated bloody diarrhea and hemolytic uremic syndrome from hamburgers: the washington experience." *Jama* 272(17): 1349-1353.
- Benz, R. (2016). "Channel formation by RTX-toxins of pathogenic bacteria: Basis of their biological activity." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* 1858(3): 526-537.
- Beutin, L. (2006). "Emerging enterohaemorrhagic *Escherichia coli*, causes and effects of the rise of a human pathogen." *Journal of Veterinary Medicine, Series B* 53(7): 299-305.

- Beutin, L., D. Geier, H. Steinrück, S. Zimmermann and F. Scheutz (1993). "Prevalence and some properties of verotoxin (Shiga-like toxin)-producing *Escherichia coli* in seven different species of healthy domestic animals." *Journal of clinical microbiology* 31(9): 2483-2488.
- Bhunja, A. K. (2018). *Foodborne microbial pathogens: mechanisms and pathogenesis*. 2nd Edition. Switzerland AG. Springer New York, NY.
- Bonardi, S., I. Alpigliani, R. Tozzoli, A. Vismarra, V. Zecca, C. Greppi, C. Bacci, I. Bruini and F. Brindani (2015). "Shiga toxin- producing *Escherichia coli* O157, O26 and O111 in cattle faeces and hides in Italy." *Veterinary record open* 2(1): e000061.
- Boukary, A., E. Thys, L. Rigouts, F. Matthys, D. Berkvens, I. Mahamadou, A. Yenikoye and C. Saegerman (2012). "Risk factors associated with bovine tuberculosis and molecular characterization of *Mycobacterium bovis* strains in urban settings in Niger." *Transboundary and emerging diseases* 59(6): 490-502.
- Boyce, T., A. Pemberton, J. Wells and P. Griffin (1995). "Screening for *Escherichia coli* O157: H7--a nationwide survey of clinical laboratories." *Journal of clinical microbiology* 33(12): 3275-3277.
- Bray, J. (1945). "Isolation of antigenically homogeneous strains of *Bact. coli* neapolitanum from summer diarrhoea of infants." *The Journal of Pathology and Bacteriology* 57(2): 239-247.
- Brenner, D. J. and J. Farmer III (2015). "*Enterobacteriaceae*." *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*: 1-24. John Wiley & Sons, Inc., in association with Bergey's Manual Trust. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00222>.

- Brown, A. and H. Smith (2014). Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual in General Microbiology. 13th Edition. Short Version, McGraw-Hill Education. Available from: <https://lib.hpu.edu.vn/handle/123456789/32674>.
- Brusa, V., V. Aliverti, F. Aliverti, E. E. Ortega, J. H. de la Torre, L. H. Linares, M. Sanz, A. I. Etcheverría, N. L. Padola and L. Galli (2013). "Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in beef retail markets from Argentina." *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 2: 171.
- Bruslind, L. (2020). General microbiology. 1st edition. Oregon State University. Available from: <https://openlibrary-repo.ecampusontario.ca/jspui/handle/123456789/842>. [Accessed 2020].
- Bryukhanov, A. and A. Netrusov (2006). "Long-term storage of obligate anaerobic microorganisms in glycerol." *Applied Biochemistry and Microbiology* 42(2): 177-180.
- Cagil, Y., S. Tan, M. Fadell, S. Husain and A. M. Yeh (2022). "The Risk of Colonic Strictures with Colitis Following Hemolytic Uremic Syndrome: A Case Report of a Toddler." *JPGN Reports* 3(2): e188.
- Castro, V. S., R. C. T. Carvalho, C. A. Conte- Junior and E. E. S. Figuiredo (2017). "Shiga- toxin producing *Escherichia coli*: pathogenicity, supershedding, diagnostic methods, occurrence, and foodborne outbreaks." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 16(6): 1269-1280.
- CDC, 2012. Multistate Outbreak of Listeriosis Linked to Whole Cantaloupes from Jensen Farms, Colorado [WWW Document]. URL.

<http://www.cdc.gov/listeria/outbreaks/cantaloupes-jensen-rms/index.html> (accessed 30.01.14.).

- Cepeda-Molero, M., S. Schüller, G. Frankel and L. Á. Fernández (2020). Systematic deletion of type III secretion system effectors in Enteropathogenic *E. coli* unveils the role of non-LEE effectors in a/E lesion formation. *E. coli* Infections-Importance of Early Diagnosis and Efficient Treatment, IntechOpen.
- Chan, Y. S. and T. B. Ng (2016). "Shiga toxins: from structure and mechanism to applications." *Applied microbiology and biotechnology* 100(4): 1597-1610.
- CLSI. (2018). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th ed. Clinical and Laboratory Standards Institute, 28(1):1-258.
- Cobbold, R. N., D. D. Hancock, D. H. Rice, J. Berg, R. Stilborn, C. J. Hovde and T. E. Besser (2007). "Rectoanal junction colonization of feedlot cattle by *Escherichia coli* O157: H7 and its association with supershedders and excretion dynamics." *Applied and environmental microbiology* 73(5): 1563-1568.
- Cook, E. A. J., de Glanville, W. A., Thomas, L. F., Kariuki, S., Bronsvort, B. M. D. C., & Fèvre, E. M. (2017). Working conditions and public health risks in slaughterhouses in western Kenya. *BMC public health*, 17(1), 1-12.
- Correa, M. G., F. B. Martínez, C. P. Vidal, C. Streitt, J. Escrig and C. L. de Dicastillo (2020). "Antimicrobial metal-based nanoparticles: a review on their synthesis, types and antimicrobial action." *Beilstein journal of nanotechnology* 11(1): 1450-1469.

- Croxen, M. A., R. J. Law, R. Scholz, K. M. Keeney, M. Wlodarska and B. B. Finlay (2013). "Recent advances in understanding enteric pathogenic *Escherichia coli*." *Clinical microbiology reviews* 26(4): 822-880.
- da Cruz, A. F., A. O. de Abreu, P. A. de Souza, B. Deveza, C. T. Medeiros, V. S. Sousa, B. P. Sabagh and M. H. S. V. Bôas (2021). "Adaptation and validation of a method for evaluating the bactericidal activity of ethyl alcohol in gel format 70%(w/w)." *Journal of Microbiological Methods*: 106402.
- Davis, R. K., S. Hamilton and J. V. Brahana (2005). "*Escherichia coli* survival in mantled karst springs and streams, northwest Arkansas Ozarks, USA 1." *JAWRA Journal of the American Water Resources Association* 41(6): 1279-1287.
- Deisingh, A. K. and M. Thompson (2004). "Strategies for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 in foods." *Journal of Applied Microbiology* 96(3): 419-429.
- Dey, S., A. Chakravarty, P. Guha Biswas and R. N. De Guzman (2019). "The type III secretion system needle, tip, and translocon." *Protein Science* 28(9): 1582-1593.
- Dixon, A., N. Cernicchiaro, R. G. Amachawadi, X. Shi, C. A. Cull and D. G. Renter (2020). "Longitudinal characterization of prevalence and concentration of Shiga toxin–producing *Escherichia coli* serogroups in feces of individual feedlot cattle." *Foodborne Pathogens and Disease* 17(10): 631-639.

- Dörr, T., P. J. Moynihan and C. Mayer (2019). "Bacterial cell wall structure and dynamics." *Frontiers in Microbiology*: 10, 2051. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02051>.
- Dudley, E. (2022). "Food Microbiology: Fundamentals and Frontiers, 5th Edition." *Emerging Infectious Diseases* 28: 267-267.
- Duguid, J. P., I. W. Smith, G. Dempster and P. Edmunds (1955). "Non-Flagellar Filamentous Appendages (" Fimbriae") and Haemagglutinating Activity in *Bacterium coli*." *Journal of Pathology and Bacteriology* 70(2): 335-348.
- Dulo, F. (2014). Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Escherichia coli* O157: H7 in goat slaughtered in dire dawa municipal abattoir as well as food safety knowledge, attitude and hygiene practice assessment among slaughter staff, Ethiopia, Addis Ababa University.
- Ebomah, K. E. and A. I. Okoh (2020). "An African perspective on the prevalence, fate and effects of carbapenem resistance genes in hospital effluents and wastewater treatment plant (WWTP) final effluents: A critical review." *Heliyon* 6(5): e03899.
- Edris, A. B., E. Ebraheem and A. M. Elsheewy (2020). "Biocontrol of food contamination." *Benha Veterinary Medical Journal* 38(2): 112-115.
- Egbule, O. S., B. C. Iweriebor and E. I. Odum (2020). "Beta-Lactamase-producing *Escherichia coli* isolates recovered from pig handlers in retail shops and Abattoirs in selected localities in Southern Nigeria: Implications for public health." *Antibiotics* 10(1): 9.
- Elabbasy, M. T., M. A. Hussein, F. D. Algahtani, A. El-Rahman, I. Ghada, A. E. Morshdy, I. A. Elkafrawy and A. A. Adeboye (2021). "MALDI-

- TOF MS based typing for rapid screening of multiple antibiotic resistance *E. coli* and virulent non-O157 shiga toxin-producing *E. coli* isolated from the slaughterhouse settings and beef carcasses." *Foods* 10(4): 820.
- El-Ashmony, A. L., R. Tarabees and A. E.-d. Mostafa (2022). "The Antimicrobial Pattern of *E. coli* Isolated from Different Animal Sources at El Bohera Governorate." *Alexandria Journal of Veterinary Sciences*: 0-0.
- Elbing, K. L. and R. Brent (2019). "Recipes and tools for culture of *Escherichia coli*." *Current protocols in molecular biology* 125(1): e83.
- El-Mongy, A., A. M. Bayome, G. M. Abd-El-Moneam and A. A. Moawad (2017). "Prevalence, Bacteriology, Pathogenesis and Isolation of *E. coli* in Broilers." *Kafrelsheikh Veterinary Medical Journal* 15(2): 1-16.
- Erjavec, M. S. (2019). "Introductory Chapter: The Versatile *Escherichia coli*." *The Universe of Escherichia coli* 3. IntechOpen . Available from: 10.5772/intechopen.73717. [Accessed 18th, September 2019].
- Escobar- Salom, M., G. Torrens, E. Jordana- Lluch, A. Oliver and C. Juan (2022). "Mammals' humoral immune proteins and peptides targeting the bacterial envelope: from natural protection to therapeutic applications against multidrug- resistant Gram- negatives." *Biological Reviews*.
- Etienne-Mesmin, L., B. Chassaing, P. Sauvanet, J. Denizot, S. Blanquet-Diot, A. Darfeuille-Michaud, N. Pradel and V. Livrelli (2011). "Interactions with M cells and macrophages as key steps in the pathogenesis of enterohemorrhagic *Escherichia coli* infections." *PLoS one* 6(8): e23594.

- Ewing, W. and J. Gravatti (1947). "*Shigella* types encountered in the mediterranean area." *Journal of Bacteriology* 53(2): 191-195.
- Fan, W., X.-y. Gao, H.-n. Li, W.-p. Guo, Y.-y. Li and S.-w. Wang (2022). "Rapid and simultaneous detection of *Salmonella* spp., *Escherichia coli* O157: H7, and *Listeria monocytogenes* in meat using multiplex immunomagnetic separation and multiplex real-time PCR." *European Food Research and Technology*: 1-11.
- Farrell, B. L., A. B. Ronner and A. C. LEE WONG (1998). "Attachment of *Escherichia coli* O157: H7 in ground beef to meat grinders and survival after sanitation with chlorine and peroxyacetic acid." *Journal of Food Protection* 61(7): 817-822.
- Fatima, R. and M. Aziz (2019). "Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (EHEC)." *StatPearls*; StatPearls Publishing: Treasure Island, FL, USA.
- Fox, J. T., D. G. Renter, M. W. Sanderson, D. U. Thomson, K. F. Lechtenberg and T. Nagaraja (2007). "Evaluation of culture methods to identify bovine feces with high concentrations of *Escherichia coli* O157." *Applied and environmental microbiology* 73(16): 5253-5260.
- Frank, C., S. Kapfhammer, D. Werber, K. Stark and L. Held (2008). "Cattle density and Shiga toxin-producing *Escherichia coli* infection in Germany: increased risk for most but not all serogroups." *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 8(5): 635-644.
- Friedman, D. I. and D. L. Court (2001). "Bacteriophage lambda: alive and well and still doing its thing." *Current opinion in microbiology* 4(2): 201-207.

- Friedmann, H. C. (2006). "*Escherich* and *Escherichia*." *Advances in applied microbiology* 60: 133-196. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(06\)60005-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(06)60005-1)
- Fujioka, M., Y. Otomo and C. R. Ahsan (2013). "A novel single-step multiplex polymerase chain reaction assay for the detection of diarrheagenic *Escherichia coli*." *Journal of microbiological methods* 92(3): 289-292.
- Galan-Malo, P., J.-C. Ortiz, V. Carrascon, P. Razquin and L. Mata (2019). "A study to reduce the allergen contamination in food-contact surfaces at canteen kitchens." *International Journal of Gastronomy and Food Science* 17: 100165.
- Garcia, R. G., R. C. M. Balaba, E. M. V. Ebro and R. C. D. Ilagan (2021). *Detection and Classification of Pathogens in Gram-Stained Dairy Cow Milk Using Otsu Method. 2021 IEEE 13th International Conference on Humanoid, Nanotechnology, Information Technology, Communication and Control, Environment, and Management (HNICEM), IEEE.*
- Gebisa, E. S., M. A. Gerasu and D. T. Leggese (2019). "A Review on Virulence Factors of *Escherichia coli*." *Animal and Veterinary Sciences* 7(3): 83-93.
- Getaneh, t. (2019). "Bacteriological quality and safety of fresh meat from some butcher houses of Feresbet town, Amhara regional state, northern Ethiopia."
- Gillen, A. L. and M. Augusta (2018). "The Coliform Kind: *E. coli* and Its "Cousins" The Good, the Bad, and the Deadly." *Faculty Publications*

and Presentations. 125.

[https://digitalcommons.liberty.edu/bio\\_chem\\_fac\\_pubs/125](https://digitalcommons.liberty.edu/bio_chem_fac_pubs/125).

Gladwin, M., W. Trattler and C. S. Mahan (2019). Clinical microbiology made ridiculously simple, 6<sup>th</sup> Edition. MedMaster, Inc. Available from: <https://www.amazon.com/Clinical-Microbiology-Made-Ridiculously-Simple/dp/1935660152> .

Godfray, H. C. J., P. Aveyard, T. Garnett, J. W. Hall, T. J. Key, J. Lorimer, R. T. Pierrehumbert, P. Scarborough, M. Springmann and S. A. Jebb (2018). "Meat consumption, health, and the environment." *Science* 361(6399): eaam5324.

Goma, M. K. E., A. Indraswari, A. Haryanto and D. A. Widiasih (2019). "Detection of *Escherichia coli* O157: H7 and Shiga toxin 2a gene in pork, pig feces, and clean water at Jagalan slaughterhouse in Surakarta, Central Java Province, Indonesia." *Veterinary world* 12(10): 1584.

Goode, B., C. O'Reilly, J. Dunn, K. Fullerton, S. Smith, G. Ghneim, J. Keen, L. Durso, M. Davies and S. Montgomery (2009). "Outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections after petting zoo visits, North Carolina state fair, October-November 2004." *Archives of pediatrics & adolescent medicine* 163(1): 42-48.

Goossens, P. L., C. Thépenier and M. R. Popoff (2020). "Toxin- Induced Neurological Diseases." *Infections of the Central Nervous System: Pathology and Genetics*: 411-418.

Gould, L. H., L. Demma, T. F. Jones, S. Hurd, D. J. Vugia, K. Smith, B. Shiferaw, S. Segler, A. Palmer and S. Zansky (2009). "Hemolytic uremic syndrome and death in persons with *Escherichia coli* O157:

- H7 infection, foodborne diseases active surveillance network sites, 2000–2006." *Clinical Infectious Diseases* 49(10): 1480-1485.
- Govindarajan, D. K., N. Viswalingam, Y. Meganathan and K. Kandaswamy (2020). "Adherence patterns of *Escherichia coli* in the intestine and its role in pathogenesis." *Medicine in Microecology* 5: 100025.
- Guanghai, Z., L. Jing, Z. Guojun and L. Hong (2020). "Epidemiology and risk factors of neurosurgical bacterial meningitis/encephalitis induced by carbapenem resistant *Enterobacteriaceae*." *Journal of Infection and Chemotherapy* 26(1): 101-106.
- Gun, H., A. Yilmaz, S. Turker, A. Tanlasi and H. Yilmaz (2003). "Contamination of bovine carcasses and abattoir environment by *Escherichia coli* O157: H7 in Istanbul." *International journal of food microbiology* 84(3): 339-344.
- Gwida, M., H. Hotzel, L. Geue and H. Tomaso (2014). "Occurrence of *Enterobacteriaceae* in raw meat and in human samples from Egyptian retail sellers." *International scholarly research notices* 2014.
- Hacker, J. and G. Blum-Oehler (2007). "In appreciation of Theodor Escherich." *Nature Reviews Microbiology* 5(12): 902-902.
- Hameed, M. A. K., H. Muhammed and A. Al-Rashedi (2021). "The bacterial load and contamination rate of raw meat in butcher shops in different areas of Karbala City." *Pak J Med Health Sci* 15: 960.
- Harrigan, W. F. and M. E. McCance (2014). *Laboratory methods in microbiology*, Academic press. Available from: <https://books.google.iq/books>.

- Hassan, R., S. Seelman, V. Peralta, H. Booth, M. Tewell, B. Melius, B. Whitney, R. Sexton, A. Dwarka and D. Vugia (2019). "A multistate outbreak of *E coli* O157: H7 infections linked to soy nut butter." *Pediatrics* 144(4).
- Hebbelstrup Jensen, B., K. E. Olsen, C. Struve, K. A. Krogfelt and A. M. Petersen (2014). "Epidemiology and clinical manifestations of enteroaggregative *Escherichia coli*." *Clinical microbiology reviews* 27(3): 614-630.
- Heiman, K. E., R. K. Mody, S. D. Johnson, P. M. Griffin and L. H. Gould (2015). "*Escherichia coli* O157 outbreaks in the United States, 2003–2012." *Emerging infectious diseases* 21(8): 1293.
- Heredia, N. and S. García (2018). "Animals as sources of food-borne pathogens: A review." *Animal nutrition* 4(3): 250-255.
- Hoffmann, S. and J.-W. Ahn (2021). "Economic cost of major foodborne illnesses increased \$2 billion from 2013 to 2018." *Amber Waves: The Economics of Food, Farming, Natural Resources, and Rural America* 2021(4).
- Holding, A. J. and J. G. Collee (1971). Chapter I Routine Biochemical Tests. *Methods in Microbiology*. J. R. Norris and D. W. Ribbons, Academic Press. **6**: 1-32. [https://doi.org/10.1016/S0580-9517\(08\)70573-7](https://doi.org/10.1016/S0580-9517(08)70573-7)
- Holloway, J. W. and J. Wu (2019). *Red Meat Science and Production: Volume 1. The Consumer and Extrinsic Meat Character*, Springer. Available from: <https://doi.org/10.1007/978-981-13-7860-7>.
- Hotinger, J. A., H. A. Pendergrass and A. E. May (2021). "Molecular targets and strategies for inhibition of the bacterial type III secretion system

- (T3SS); Inhibitors directly binding to T3SS components." *Biomolecules* 11(2): 316.
- Hudzicki, J. (2009). "Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol." *American society for microbiology* 15: 55-63.
- Hwang, C.-A. and L. Huang (2018). "Dynamic analysis of competitive growth of *Escherichia coli* O157: H7 in raw ground beef." *Food Control* 93: 251-259.
- Idalia, V.-M. N. and F. Bernardo (2017). *Escherichia coli* as a Model Organism and Its Application in Biotechnology. *Escherichia coli* - Recent Advances on Physiology, Pathogenesis and Biotechnological Applications.
- Imbens, G., & Rubin, D. (2015). *Causal Inference for Statistics, Social, and Biomedical Sciences: An Introduction*. Cambridge: Cambridge University Press. doi:10.1017/CBO9781139025751
- Irshaid, F. I., J. H. Jacob and S. I. Alhawamdeh (2018). "The slaughtering and dressing procedures of livestock inside the butcher shops generate high levels of bacterial contamination." *Journal of Basic and Applied Sciences* 14: 165-173.
- Iyer, A., T. Kumosani, S. Yaghmoor, E. Barbour, E. Azhar and S. Harakeh (2013). "*Escherichia coli* and *Salmonella* spp. in meat in Jeddah, Saudi Arabia." *The Journal of Infection in Developing Countries* 7(11): 812-818.
- Jackson, L.A., Keene, W.E., McAnulty, J.M., Alexander, E.R., Diermayer, M., Davis, M.A., Hedberg, K., Boase, J., Barrett, T.J., Samadpour, M., Fleming, D.W., 2000. Where's the Beef? *Arch. Intern. Med.* 160, 2380e2385.

- Janda, J. M. and S. L. Abbott (2021). "The Changing Face of the Family *Enterobacteriaceae* (Order: "Enterobacterales"): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes." *Clinical microbiology reviews* 34(2): e00174-00120.
- Jang, J., H. G. Hur, M. J. Sadowsky, M. Byappanahalli, T. Yan and S. Ishii (2017). "Environmental *Escherichia coli*: ecology and public health implications—a review." *Journal of applied microbiology* 123(3): 570-581.
- Jawetz, E.; Melnick, J. A. and Adelberg, E. A. (2016). *Review of Medical Microbiology 27th ed*. McGraw-Hill education, Inc : 851pp.
- Joseph, A., A. Cointe, P. Mariani Kurkdjian, C. Rafat and A. Hertig (2020). "Shiga toxin-associated hemolytic uremic syndrome: A narrative review." *Toxins* 12(2): 67.
- Jubelin, G., M. Desvaux, S. Schüller, L. Etienne-Mesmin, M. Muniesa and S. Blanquet-Diot (2018). "Modulation of enterohaemorrhagic *Escherichia coli* survival and virulence in the human gastrointestinal tract." *Microorganisms* 6(4): 115.
- Jung, H.-R., K. Kim and Y. J. Lee (2021). "Comparative analysis of genetic characterization of  $\beta$ -lactam-resistant *Escherichia coli* from bulk tank milk in Korea." *Irish Veterinary Journal* 74(1): 1-10.
- Jutras, B. L., R. B. Lochhead, Z. A. Kloos, J. Biboy, K. Strle, C. J. Booth, S. K. Govers, J. Gray, P. Schumann and W. Vollmer (2019). "Borrelia burgdorferi peptidoglycan is a persistent antigen in patients with Lyme arthritis." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 116(27): 13498-13507.

- Kago, J.M. 2015. Assessment of beef carcass contamination with *Escherichia coli* O157:H7 post-slaughter in Kenya. MSc thesis, University of Nairobi, Nairobi, Kenya. Available from: <https://hdl.handle.net/10568/68555>
- Kalate, M. (2021). "Application of ultraviolet (UV) radiation and its effect on the surfaces and climate of microbial laboratories." *J Comm Med and Pub Health Rep* 2(4).
- Kamala, K., & Kumar, V. P. (2018). Food products and food contamination. In *Microbial Contamination and Food Degradation* (pp. 1-19). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811515-2.00001-9>.
- Kamala, K., S. Rajeshkumar and P. Sivaperumal (2022). "The predominance of Shiga toxin-producing *E. coli* in the Southeast Coast of India." *Marine pollution bulletin* 174: 113188.
- Kaper, J. B. and A. D. O'Brien (2014). "Overview and historical perspectives." *Microbiology spectrum* 2(6): 2.6. 16. DOI: <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.EHEC-0028-2014>
- Kapoor, G., S. Saigal and A. Elongavan (2017). "Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians." *Journal of anesthesiology, clinical pharmacology* 33(3): 300.
- Karmali, M. A., V. Gannon and J. M. Sargeant (2010). "Verocytotoxin-producing *Escherichia coli* (VTEC)." *Veterinary microbiology* 140(3-4): 360-370.
- Khan, A. Y., S. S. Ahmad, M. Avais and K. Ashraf (2022). "Molecular prevalence with associated risk factors and haemato-serum electrolyte analysis of *E. coli* O157: H7 in Canine pups with diarrhoea."

- Khan, Z. A., M. F. Siddiqui and S. Park (2019). "Current and emerging methods of antibiotic susceptibility testing." *Diagnostics* 9(2): 49.
- kici, G. and E. Dümen (2019). *Escherichia coli* and food safety. The universe of *Escherichia coli*, IntechOpen. Available from: 10.5772/intechopen.73717. [Accessed 18th, September 2019].
- Kim, J. H., S. J. Hur and D. G. Yim (2018). "Monitoring of microbial contaminants of beef, pork, and chicken in HACCP implemented meat processing plants of Korea." *Korean journal for food science of animal resources* 38(2): 282.
- Kim, J.-h. and D.-G. Yim (2016). "Assessment of the microbial level for livestock products in retail meat shops implementing HACCP system." *Korean journal for food science of animal resources* 36(5): 594.
- Kim, S.-W., K. Kim and Y. J. Lee (2022). "Comparative analysis of antimicrobial resistance and genetic characteristics of *Escherichia coli* from broiler breeder farms in Korea." *Canadian Journal of Animal Science*: 1-10.
- Kolenda, R., M. Burdukiewicz and P. Schierack (2015). "A systematic review and meta-analysis of the epidemiology of pathogenic *Escherichia coli* of calves and the role of calves as reservoirs for human pathogenic *E. coli*." *Frontiers in cellular and infection microbiology* 5: 23.
- Koohmaraie, M., J. M. Bosilevac, M. De La Zerda, A. M. Motlagh and M. Samadpour (2015). "Distribution of *Escherichia coli* passage through processing equipment during ground beef production using inoculated trimmings." *Journal of food protection* 78(2): 273-280.

- Krause, M., H. Barth and H. Schmidt (2018). "Toxins of locus of enterocyte effacement-negative Shiga toxin-producing *Escherichia coli*." toxins 10(6): 241.
- Krieg, N. R., J. T. Staley, D. R. Brown, B. P. Hedlund, B. J. Paster, N. L. Ward, W. Ludwig and W. B. Whitman (2010). *Bergey's Manual® of Systematic Bacteriology: Volume Four the Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae, and Planctomycetes*, Springer.
- Kudva, I. T., E. R. Oosthuysen, B. Wheeler and C. A. Loest (2021). "Evaluation of Cattle for Naturally Colonized Shiga Toxin-Producing *Escherichia coli* Requires Combinatorial Strategies." *International journal of microbiology* 2021.
- Kumar, V., Abbas, A. K., & Aster, J. C. (2017). *Robbins basic pathology e-book*. Elsevier Health Sciences.
- Kunduru, B. R., S. A. Nair and T. Rathinavelan (2016). "EK3D: an *E. coli* K antigen 3-dimensional structure database." *Nucleic Acids Research* 44(D1): D675-D681.
- Laban, S., M. Mashaly, A. Aly, N. Maher and M. Zaki (2021). "Evaluation of different hygienic practices applied in slaughterhouses and its effect on beef quality." *Advances in Animal and Veterinary Sciences* 9(3): 429-437.
- Laird, Edward Dylan (2016). *Characterization of Antibiotic Resistance Profiles of Surface Water Bacteria in an Urbanizing Watershed*. Master's thesis, Texas A & M University. Available electronically from <https://hdl.handle.net/1969.1/157788>.

- Lara, E., C. L. Felix, T. D. Duarte and V. K. Vivi (2019). "Microbiological analysis of surfaces in butchers of the municipal market of Cuiabá/Análisis microbiológico de superficies en carnicerías del mercado municipal de Cuiabá/Análise microbiológica de superfícies em açougues do mercado municipal de Cuiabá." *Journal Health NPEPS* 4(2): 253-267.
- Lee, Z. Z., R. Abraham, M. O’Dea, A. Harb, K. Hunt, T. Lee, S. Abraham and D. Jordan (2021). "Validation of selective agars for detection and quantification of *Escherichia coli* resistant to critically important antimicrobials." *bioRxiv*.
- Leotta, G. A., V. Brusa, L. Galli, C. Adriani, L. Linares, A. Etcheverría, M. Sanz, A. Sucari, P. Peral Garcia and M. Signorini (2016). "Comprehensive evaluation and implementation of improvement actions in butcher shops." *PLoS One* 11(9): e0162635.
- Li, D., B. Liu, M. Chen, D. Guo, X. Guo, F. Liu, L. Feng and L. Wang (2010). "A multiplex PCR method to detect 14 *Escherichia coli* serogroups associated with urinary tract infections." *Journal of microbiological methods* 82(1): 71-77.
- Li, M., Liu, Q., Teng, Y., Ou, L., Xi, Y., Chen, S., & Duan, G. (2019). The resistance mechanism of *Escherichia coli* induced by ampicillin in laboratory. *Infection and drug resistance*, 12: 2853–2863.
- Liu, X., Y. Cheng, L. Shao and Z. Ling (2020). "Alterations of the predominant fecal microbiota and disruption of the gut mucosal barrier in patients with early-stage colorectal cancer." *BioMed research international* 2020.

- Liu, Y., S. Tian, H. Thaker and M. Dong (2021). "Shiga toxins: an update on host factors and biomedical applications." *Toxins* 13(3): 222.
- Liu, Y., T. Kumblathan, G. K. Uppal, A. Zhou, B. Moe, S. E. Hrudey and X.-F. Li (2020). "A hidden risk: Survival and resuscitation of *Escherichia coli* O157: H7 in the viable but nonculturable state after boiling or microwaving." *Water Research* 183: 116102.
- Llorente, P., L. Barnech, K. Irino, M. V. Rumi and A. Bentancor (2014). "Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* isolated from ground beef collected in different socioeconomic strata markets in Buenos Aires, Argentina." *BioMed research international* 2014.
- Luthra, R., R. R. Singh and K. P. Patel (2016). *Clinical applications of PCR, Third Edition*. Springer. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-3360-0>
- MacFaddin, J.F., (2000). *Biochemical test for identification medical*. 3rd ed. Baltimore (Md.) : Williams and Wilkins, 2000. <https://lib.ugent.be/catalog/rug01:000694128>.
- MacWilliams, M. P. (2009). Citrate test protocol. American Society for Microbiology Laboratory Protocols. Available online: <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol,3203>.
- MacWilliams, M. P. (2012). "Indole test protocol." American Society for Microbiology, Washington, DC. [https://asm.org/Protocols/ Indole test -Protocol](https://asm.org/Protocols/Indole%20test-Protocol).
- Maktabi, S., M. Zarei and H. Mohammadpour (2016). "Isolation and molecular characterization of non-sorbitol fermenting *Escherichia coli* isolated from fresh ground beef." *Jundishapur Journal of Health Sciences* 8(1).

- Mare, A. D., C. N. Ciurea, A. Man, B. Tudor, V. Moldovan, L. Decean and F. Toma (2021). "Enteropathogenic *Escherichia coli*—A summary of the literature." *Gastroenterology Insights* 12(1): 28-40.
- Martin, P., S. Tronnet, C. Garcie and E. Oswald (2017). "Interplay between siderophores and colibactin genotoxin in *Escherichia coli*." *IUBMB life* 69(6): 435-441.
- McDevitt, S. (2009). "Methyl red and voges-proskauer test protocols." *American Society for Microbiology* 8.
- McEvoy, J. L., Y. Luo, W. Conway, B. Zhou and H. Feng (2009). "Potential of *Escherichia coli* O157: H7 to grow on field-cored lettuce as impacted by postharvest storage time and temperature." *International Journal of Food Microbiology* 128(3): 506-509.
- Mead, P. S., L. Slutsker, V. Dietz, L. F. McCaig, J. S. Bresee, C. Shapiro, P. M. Griffin and R. V. Tauxe (1999). "Food-related illness and death in the United States." *Emerging infectious diseases* 5(5): 607.
- Mellata, M. (2013). "Human and avian extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: infections, zoonotic risks, and antibiotic resistance trends." *Foodborne pathogens and disease* 10(11): 916-932.
- Menge, C. (2020). "Molecular biology of *Escherichia coli* Shiga toxins' effects on mammalian cells." *Toxins* 12(5): 345.
- Mengistu, S., E. Abayneh and D. Shiferaw (2017). "*E. coli* O157: H7 and *Salmonella* species: public health importance and microbial safety in beef at selected slaughter houses and retail shops in eastern Ethiopia." *J Vet Sci Technol* 8(468): 2.

- Michelacci, V., R. Tozzoli, S. Arancia, A. D'Angelo, A. Boni, A. Knijn, G. Prosseda, D. R. Greig, C. Jenkins and T. Camou (2020). "Tracing Back the Evolutionary Route of Enteroinvasive *Escherichia coli* (EIEC) and Shigella Through the Example of the Highly Pathogenic O96: H19 EIEC Clone." *Frontiers in cellular and infection microbiology* 10: 260.
- Mirhoseini, A., J. Amani and S. Nazarian (2018). "Review on pathogenicity mechanism of enterotoxigenic *Escherichia coli* and vaccines against it." *Microbial pathogenesis* 117: 162-169.
- Modgil, V., P. Chaudhary, B. Bharti, J. Mahindroo, M. Yousuf, M. Koundal, B. Mohan and N. Taneja (2021). "Prevalence, Virulence Gene Profiling, and Characterization of Enteroaggregative *Escherichia coli* from Children with Acute Diarrhea, Asymptomatic Nourished, and Malnourished Children Younger Than 5 Years of Age in India." *The Journal of pediatrics* 234: 106-114. e105.
- Moo, C.-L., S.-K. Yang, K. Yusoff, M. Ajat, W. Thomas, A. Abushelaibi, S.-H.-E. Lim and K.-S. Lai (2020). "Mechanisms of antimicrobial resistance (AMR) and alternative approaches to overcome AMR." *Current drug discovery technologies* 17(4): 430-447.
- Mora, A., M. Blanco, J. E. Blanco, G. Dahbi, C. López, P. Justel, M. P. Alonso, A. Echeita, M. I. Bernárdez and E. A. González (2007). "Serotypes, virulence genes and intimin types of Shiga toxin (verocytotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from minced beef in Lugo (Spain) from 1995 through 2003." *Bmc Microbiology* 7(1): 1-9.

- Morgan, R. N., S. E. Saleh, H. A. Farrag and M. M. Aboulwafa (2021). "Bacterial cyclomodulins: types and roles in carcinogenesis." *Critical reviews in microbiology*: 1-25.
- Moyo, S. J., S. Y. Maselle, M. I. Matee, N. Langeland and H. Mylvaganam (2007). "Identification of diarrheagenic *Escherichia coli* isolated from infants and children in Dar es Salaam, Tanzania." *BMC infectious diseases* 7(1): 1-7.
- Nehoya, K. N., N. Hamatui, R. P. Shilangale, H. Onywera, J. Kennedy and L. M. Mwapagha (2020). "Characterization of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in raw beef from informal and commercial abattoirs." *Plos one* 15(12): e0243828.
- Octavia, S. and R. Lan (2014). The family *Enterobacteriaceae*. The Prokaryotes: Gammaproteobacteria, eds Rosenberg E, DeLong EF, Lory S, Stackebrandt E, Thompson F, Springer, Berlin.
- Ogunleye, A., A. Okunlade, F. Jeminlehin and A. Ajuwape (2013). "Antibiotic resistance in *Escherichia coli* isolated from healthy cattle at a major cattle market in Ibadan, Oyo State, South Western, Nigeria." *African Journal of Microbiology Research* 7(37): 4572-4575.
- Oguttu, J. W., C. M. McCrindle, K. Makita and D. Grace (2014). "Investigation of the food value chain of ready-to-eat chicken and the associated risk for staphylococcal food poisoning in Tshwane Metropole, South Africa." *Food Control* 45: 87-94.
- Oliveira, R. V.; Oliveira, M. C. and Pelli, A. (2017). Disease Infection *Enterobacteriaceae* Family in Fishes: A Review. *J Microbiol Exp.* 4(5): 00128.

- Osaili, T. M., B. Q. Saeed, S. Taha, A. Omar Adrees and F. Hasan (2022). "Knowledge, Practices, and Risk Perception Associated with Foodborne Illnesses among Females Living in Dubai, United Arab Emirates." *Foods* 11(3): 290.
- Overmann, J. (2006). "Principles of enrichment, isolation, cultivation and preservation of prokaryotes." *The prokaryotes* 1: 80-136.
- Paletta, A. C., V. S. Castro and C. A. Conte-Junior (2020). "Shiga toxin-producing and enteroaggregative *Escherichia coli* in animal, foods, and humans: Pathogenicity mechanisms, detection methods, and epidemiology." *Current microbiology* 77(4): 612-620.
- Patel, J. B., F. Cockerill and P. A. Bradford (2015). "Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twenty-fifth informational supplement."
- Peng, W., M. de Souza Santos, Y. Li, D. R. Tomchick and K. Orth (2019). "High-resolution cryo-EM structures of the *E. coli* hemolysin ClyA oligomers." *PLoS One* 14(5): e0213423.
- Pezzoli, L., R. Elson, C. L. Little, H. Yip, I. Fisher, R. Yishai, E. Anis, L. Valinsky, M. Biggerstaff and N. Patel (2008). "Packed with Salmonella—investigation of an international outbreak of *Salmonella senftenberg* infection linked to contamination of prepacked basil in 2007." *Foodborne pathogens and disease* 5(5): 661-668.
- Phillips, D., D. Jordan, S. Morris, I. Jenson and J. Sumner (2008). "A national survey of the microbiological quality of retail raw meats in Australia." *Journal of food protection* 71(6): 1232-1236.
- Podlacha, M., Ł. Grabowski, K. Kosznik-Kawśnicka, K. Zdrojewska, M. Stasiłojć, G. Węgrzyn and A. Węgrzyn (2021). "Interactions of

- Bacteriophages with Animal and Human Organisms—Safety Issues in the Light of Phage Therapy." *International Journal of Molecular Sciences* 22(16): 8937.
- Pota, V., M. Passavanti, F. Coppolino, F. Di Zazzo, L. De Nardis, R. Esposito, M. Fiore, G. Mangoni di Santostefano, C. Aurilio and P. Sansone (2021). "Septic shock due to *Escherichia coli* meningoencephalitis treated with immunoglobulin-M-enriched immunoglobulin preparation as adjuvant therapy: a case report." *Journal of Medical Case Reports* 15(1): 1-8.
- Procop, G. W., D. L. Church, G. S. Hall and W. M. Janda (2020). *Koneman's color atlas and textbook of diagnostic microbiology, Seventh Edition*. Jones & Bartlett Publishers. <https://www.amazon.com/Konemans-Color-Textbook-Diagnostic-Microbiology/dp/1451116594>.
- Quinn, P. J., B. K. Markey, F. Leonard, E. FitzPatrick and S. Fanning (2015). "Concise review of veterinary microbiology."
- Rahman, M., M. Sobur, M. Islam, S. Ievy, M. Hossain, M. E. El Zowalaty, A. Rahman and H. M. Ashour (2020). "Zoonotic diseases: etiology, impact, and control." *Microorganisms* 8(9): 1405.
- Raj, S. J., Y. Wang, H. Yakubu, K. Robb, C. Siesel, J. Green, A. Kirby, W. Mairinger, J. Michiel, C. Null, E. Perez, K. Roguski and C. L. Moe (2020). "The SaniPath Exposure Assessment Tool: A quantitative approach for assessing exposure to fecal contamination through multiple pathways in low resource urban settlements." *PLOS ONE* 15(6): e0234364.

- Rangel, J. M., P. H. Sparling, C. Crowe, P. M. Griffin and D. L. Swerdlow (2005). "Epidemiology of *Escherichia coli* O157: H7 outbreaks, united states, 1982–2002." *Emerging infectious diseases* 11(4): 603.
- Ranjbar, R., M. Masoudimanesh, F. S. Dehkordi, N. Jonaidi-Jafari and E. Rahimi (2017). "Shiga (Vero)-toxin producing *Escherichia coli* isolated from the hospital foods; virulence factors, o-serogroups and antimicrobial resistance properties." *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 6(1): 1-11.
- Reiner, K. (2010). "Catalase test protocol." *American society for microbiology*: 1-6.
- Riley, L. W., R. S. Remis, S. D. Helgerson, H. B. McGee, J. G. Wells, B. R. Davis, R. J. Hebert, E. S. Olcott, L. M. Johnson and N. T. Hargrett (1983). "Hemorrhagic colitis associated with a rare *Escherichia coli* serotype." *New England journal of medicine* 308(12): 681-685.
- Rizaldi, A., D. Lukman and H. Pisestyani (2019). "Antibiotic resistance of *Escherichia coli* in pork sold at tamiang layang market, east barito district." *Adv. Anim. Vet. Sci* 7(9): 791-797.
- Rodríguez-Rubio, L., N. Haarmann, M. Schwidder, M. Muniesa and H. Schmidt (2021). "Bacteriophages of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and their contribution to pathogenicity." *Pathogens* 10(4): 404.
- Roels, T., P. Frazak, J. Kazmierczak, W. Mackenzie, M. Proctor, T. Kurzynski and J. Davis (1997). "Incomplete sanitation of a meat grinder and ingestion of raw ground beef: contributing factors to a large outbreak of *Salmonella typhimurium* infection." *Epidemiology & Infection* 119(2): 127-134.

- Sabir, N., W. Hussain, A. Ahmed, G. Zaman, I. A. Mirza and A. Ikram (2020). "Burden of multi-drug resistant, extensively-drug resistant and pan-drug resistant superbugs isolated from various indoor microbiological specimens at tertiary care centers Rawalpindi." *pafmj* 70(1): 79-85.
- Sachdeva, S., R. V. Palur, K. U. Sudhakar and T. Rathinavelan (2017). "*E. coli* group 1 capsular polysaccharide exportation nanomachinery as a plausible antivirulence target in the perspective of emerging antimicrobial resistance." *Frontiers in Microbiology* 8: 70.
- Salem, A., Z. IM and A. MO (2018). "Assessment of microbiological critical control points in Food processing and serving plant." *Benha Veterinary Medical Journal* 34(1): 10-20.
- Sallam, K. I., M. A. Mohammed, A. M. Ahdy and T. Tamura (2013). "Prevalence, genetic characterization and virulence genes of sorbitol-fermenting *Escherichia coli* O157: H-and *E. coli* O157: H7 isolated from retail beef." *International journal of food microbiology* 165(3): 295-301.
- Samad, A., F. Abbas, Z. Ahmad, Z. Tanveer, I. Ahmad, S. G. Patching, N. Nawaz, M. T. Asmat, A. Raziq and M. Naeem (2018). "Multiplex polymerase chain reaction detection of Shiga toxin genes and antibiotic sensitivity of *Escherichia coli* O157: H7 isolated from beef meat in Quetta, Pakistan." *Journal of Food Safety* 38(6): e12540.
- Sánchez, D. E. R., A. A. Sánchez and Y. R. M. Fandiño (2019). "Hot springs as sources of infection: An environment overlooked by public health practitioners." *Journal of infection and public health* 12(1): 104-105.

- Sandvig, K., J. Bergan, A.-B. Dyve, T. Skotland and M. L. Torgersen (2010). "Endocytosis and retrograde transport of Shiga toxin." *Toxicon* 56(7): 1181-1185.
- Sapountzis, P., A. Segura, M. Desvaux and E. Forano (2020). "An overview of the elusive passenger in the gastrointestinal tract of cattle: The Shiga toxin producing *Escherichia coli*." *Microorganisms* 8(6): 877.
- Sarowska, J., B. Futoma-Koloch, A. Jama-Kmiecik, M. Frej-Madrzak, M. Ksiazczyk, G. Bugla-Ploskonska and I. Choroszy-Krol (2019). "Virulence factors, prevalence and potential transmission of extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* isolated from different sources: recent reports." *Gut pathogens* 11(1): 1-16.
- Scheutz, F., L. D. Teel, L. Beutin, D. Piérard, G. Buvens, H. Karch, A. Mellmann, A. Caprioli, R. Tozzoli and S. Morabito (2012). "Multicenter evaluation of a sequence-based protocol for subtyping Shiga toxins and standardizing Stx nomenclature." *Journal of clinical microbiology* 50(9): 2951-2963.
- Schwalbe, R., L. Steele-Moore and A. C. Goodwin (2007). *Antimicrobial susceptibility testing protocols*, Crc Press.
- Schwidder, M., L. Heinisch and H. Schmidt (2019). "Genetics, toxicity, and distribution of enterohemorrhagic *Escherichia coli* hemolysin." *Toxins* 11(9): 502.
- Sebsibe, M. A. and E. T. Asfaw (2020). "Occurrence of multi-drug resistant *Escherichia coli* and *Escherichia coli* O157: H7 in meat and swab samples of various contact surfaces at abattoir and butcher shops in Jimma town, Southwest district of Ethiopia." *Infection and Drug Resistance* 13: 3853.

- Selwet, M. (2021). "Use of Ultrasounds to Reduce the Count of *Campylobacter coli* in Water." Polish Journal of Microbiology 70(3): 339.
- Sethulekshmi, C., C. Latha and C. Anu (2018). "Occurrence and quantification of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* from food matrices." Veterinary world 11(2): 104.
- Sharapov, U. M., A. M. Wendel, J. P. Davis, W. E. Keene, J. Farrar, S. Sodha, E. Hyytia-Trees, M. Leeper, P. Gerner-Smidt and P. M. Griffin (2016). "Multistate outbreak of *Escherichia coli* O157: H7 infections associated with consumption of fresh spinach: United States, 2006." Journal of Food Protection 79(12): 2024-2030.
- Sharp, J. H., K. Clements, M. Diggins, J. E. McDonald, S. K. Malham and D. L. Jones (2021). "*E. coli* Is a Poor End-Product Criterion for Assessing the General Microbial Risk Posed from Consuming Norovirus Contaminated Shellfish." Frontiers in Microbiology 12: 150.
- Shenouda, R. N., N. T. Abou El-Khier, M. A. El-Daker, Y. Osman and R. I. Badr (1970). "Bacteriuria in Patients with Orthotopic Ileal Neobladder: The Role of Uropathogenic *Escherichia coli*."
- Shields, P. and L. Cathcart (2010). "Oxidase test protocol." American Society for Microbiology: 1-9.
- Siew, Y. Y. and W. Zhang (2021). "Downstream processing of recombinant human insulin and its analogues production from *E. coli* inclusion bodies." Bioresources and Bioprocessing 8(1): 1-27.
- Skarżyńska, M., M. Zajac, A. Bomba, Ł. Bocian, W. Kozdruń, M. Polak, J. Wiącek and D. Wasyl (2021). "Antimicrobial Resistance Glides in the

- Sky—Free-Living Birds as a Reservoir of Resistant *Escherichia coli* with Zoonotic Potential." *Frontiers in microbiology* 12: 673.
- Slater, S. L., A. M. Sångfors, D. J. Pollard, D. Ruano-Gallego and G. Frankel (2018). "The type III secretion system of pathogenic *Escherichia coli*." *Escherichia coli*, a versatile pathogen: 51-72.
- Soare, C., T. N. McNeilly and A. Seguíno (2021). "A review of potential risk factors linked to Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) in wild deer populations and the practices affecting the microbial contamination of wild deer carcasses with enteric bacteria." *Food Control* 127: 108128.
- Solon, J. G. and S. Killeen (2019). "Decontamination and sterilization." *Surgery (Oxford)* 37(1): 51-57.
- Staji, H., A. Tonelli, A. Javaheri-Vayeghan, E. Changizi and M. R. Salimi-Bejestani (2015). "Distribution of Shiga toxin genes subtypes in B1 phylotypes of *Escherichia coli* isolated from calves suffering from diarrhea in Tehran suburb using DNA oligonucleotide arrays." *Iranian journal of microbiology* 7(4): 191.
- Stanford, K., C. A. Agopsowicz and T. A. McAllister (2012). "Genetic diversity and antimicrobial resistance among isolates of *Escherichia coli* O157: H7 from feces and hides of super-shedders and low-shedding pen-mates in two commercial beef feedlots." *BMC veterinary research* 8(1): 1-9.
- Tang, Y.-W., C. W. Stratton and Y.-W. Tang (2013). *Advanced techniques in diagnostic microbiology*, Springer.
- Tate, H., C. Li, E. Nyirabahizi, G. H. Tyson, S. Zhao, C. Rice-Trujillo, S. B. Jones, S. Ayers, N. M. M'ikanatha and S. Hanna (2021). "A National

- Antimicrobial Resistance Monitoring System Survey of Antimicrobial-Resistant Foodborne Bacteria Isolated from Retail Veal in the United States." *Journal of food protection* 84(10): 1749-1759.
- Taylor, N., W. J. Ma, A. Kristopeit, S.-c. Wang and A. L. Zydney (2021). "Retention characteristics of sterile filters—Effect of pore size and structure." *Journal of Membrane Science* 635: 119436.
- Terlizzi, M. E., G. Gribaudo and M. E. Maffei (2017). "UroPathogenic *Escherichia coli* (UPEC) infections: virulence factors, bladder responses, antibiotic, and non-antibiotic antimicrobial strategies." *Frontiers in microbiology* 8: 1566.
- Tille, P. (2015). *Bailey & Scott's diagnostic microbiology-E-Book*, Elsevier Health Sciences.
- Tironi-Farinati, C., C. F. Loidl, J. Boccoli, Y. Parma, M. E. Fernandez-Miyakawa and J. Goldstein (2010). "Intracerebroventricular Shiga toxin 2 increases the expression of its receptor globotriaosylceramide and causes dendritic abnormalities." *Journal of neuroimmunology* 222(1-2): 48-61.
- Todd, E. C. D. (2014). *Foodborne diseases: Overview of biological hazards and foodborne diseases*. *Encyclopedia of Food Safety*, 221.
- Toldrá, F. (2017). Preface. *Lawrie's Meat Science (Eighth Edition)*. F. Toldrá, Woodhead Publishing: xv-xvi. DOI <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100694-8.05001-9>
- Tomino, Y., M. Andoh, Y. Horiuchi, J. Shin, R. Ai, T. Nakamura, M. Toda, K. Yonemitsu, A. Takano and H. Shimoda (2020). "Surveillance of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* and *Campylobacter* spp. in

- wild Japanese deer (*Cervus nippon*) and boar (*Sus scrofa*)." Journal of Veterinary Medical Science: 19-0265.
- Tortora, G. J., B. R. Funke and C. L. Case (2015). "Microbiology: An Introduction, Global Edition." USA: Pearson Education.
- Tortora, G. J., B. R. Funke and C. L. Case (2018). Microbiology: an introduction, Pearson.
- Trofa, A. F., H. Ueno-Olsen, R. Oiwa and M. Yoshikawa (1999). "Dr. Kiyoshi Shiga: discoverer of the dysentery *bacillus*." Clinical infectious diseases 29(5): 1303-1306.
- Wallace, M., S. Fishbein and G. Dantas (2020). "Antimicrobial resistance in enteric bacteria: current state and next-generation solutions." Gut Microbes 12(1): 1799654.
- Wang, H., Z. Zhong, Y. Luo, E. Cox and B. Devriendt (2019). "Heat-stable enterotoxins of enterotoxigenic *Escherichia coli* and their impact on host immunity." Toxins 11(1): 24.
- Wang, Y., Y. Zou, J. Wang, H. Ma, B. Zhang and S. Wang (2020). "The protective effects of 2'-fucosyllactose against *E. coli* O157 infection are mediated by the regulation of gut microbiota and the inhibition of pathogen adhesion." Nutrients 12(5): 1284.
- Warren, L. (2016). Review of medical microbiology and immunology. 16th Edition. McGraw-Hill Education.  
<http://localhost:8080/dspace/handle/TLU-123456789/178>
- Whittaker, R. H. and L. Margulis (1978). "Protist classification and the kingdoms of organisms." Biosystems 10(1-2): 3-18.

- Woo, H.-J., J.-H. Kang, C.-H. Lee and K. B. Song (2020). "Inactivation of *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* O157: H7, and pre-existing bacteria on spinach by combined treatment of *Cudrania tricuspidata* leaf extract washing and ultraviolet-C irradiation." *Food and Bioprocess Technology* 13(7): 1229-1239.
- Worku, W., M. Desta and T. Menjetta (2022). "High prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of *Salmonella* species and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *Escherichia coli* from raw cattle meat at butcher houses in Hawassa city, Sidama regional state, Ethiopia." *Plos one* 17(1): e0262308.
- Xu, Y., Z. Zhao, W. Tong, Y. Ding, B. Liu, Y. Shi, J. Wang, S. Sun, M. Liu and Y. Wang (2020). "An acid-tolerance response system protecting exponentially growing *Escherichia coli*." *Nature communications* 11(1): 1-13.
- Xu, Z., K. Yang, J. Zhang, T. Zuo, C. Chevarin, L. C. Chu, F. Chan, J. Sung, J. Yu and N. Barnich (2019). IDDF2019-ABS-0184 Role of adherent-invasive *E. coli* in inflammatory bowel disease—epidemiology, genetics and therapeutics, BMJ Publishing Group.
- Yu, D., G. Banting and N. F. Neumann (2021). "A review of the taxonomy, genetics, and biology of the genus *Escherichia* and the type species *Escherichia coli*." *Canadian Journal of Microbiology* 67(8): 553-571.
- Yue, Y., Z. He, Y. Zhou, R. P. Ross, C. Stanton, J. Zhao, H. Zhang, B. Yang and W. Chen (2020). "*Lactobacillus plantarum* relieves diarrhea caused by enterotoxin-producing *Escherichia coli* through inflammation modulation and gut microbiota regulation." *Food & Function* 11(12): 10362-10374.

- Zailani, S. A. Q., M. Bello, M. A. Raji, J. Kabir and S. M. Yahuza (2016). "Microbial evaluation of meat contact surfaces in red meat abattoirs of Bauchi State, North-Eastern Nigeria." *Open Journal of Medical Microbiology* 6(01): 3.
- Zhang, H., X. Chen, L. K. Nolan, W. Zhang and G. Li (2019). "Identification of host adaptation genes in extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* during infection in different hosts." *Infection and immunity* 87(12): e00666-00619.
- Zhang, P., S. Essendoubi, J. Keenlside, T. Reuter, K. Stanford, R. King, P. Lu and X. Yang (2021). "Genomic analysis of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* O157: H7 from cattle and pork-production related environments." *npj Science of Food* 5(1): 1-12.
- Zilelidou, E. A., V. Tsourou, S. Poimenidou, A. Loukou and P. N. Skandamis (2015). "Modeling transfer of *Escherichia coli* O157: H7 and *Listeria monocytogenes* during preparation of fresh-cut salads: impact of cutting and shredding practices." *Food microbiology* 45: 254-265.

## Abstract

Contamination of meat with *E. coli* affects its quality because it has many virulence factors, the most important of which are (Shiga toxins) that cause food poisoning and are likely to lead to human death. This study aimed to isolate *E. coli*, detect the *uidA*, *Stx1* and *Stx2* genes, as well as determine the serotype O157:H7 isolated from veal and butcher shops in Mosul city.

(504) different samples of meat and butcher shops were collected from different areas of the city of Mosul, including samples (veal meat, swabs of knives, hooks, butchers' hands, mincing machines and tables) 84 samples for each type of samples. Samples were collected by sterile swabs and containers, samples were transferred directly by a cooler box to the Veterinary Public Health Laboratories at the College of Veterinary Medicine/Mosul University.

samples were grown on conventional selective and differential media for the purpose of isolating and diagnosing *E. coli*. Biochemical tests were conducted on *E. coli* such as oxidase, catalase, triple sugar iron test, indole test, Methyl Red test, Voges Proskauer test and citrate utilization test. In addition, the molecular biology method was used, where the polymerase chain reaction (PCR) technique was used based on Deoxyribonucleic acid to confirm the results obtained from conventional methods.

The results of this study showed the growth of *E. coli* colonies on eosin methylene blue agar, where colonies of *E. coli* were grown with a bright green color called metallic sheen, while the isolated colonies were planted on Macconkey agar (as a confirmatory test). *E. coli* on chromium agar of serotype O157:H7 to determine this serotype among the isolates of *E. coli*, where colonies appeared on this media in a light purple color.

The results of the study showed that the rate of isolation of Escherichia coli was 27.4% (138/504) and the rate of isolation of serotype O157:H7 was 9.4% (13/138). All these results were in agreement with the

polymerase chain reaction test to detect the gene of *E. coli uidA* Where the ratio was 100% (138/138). In addition, the results of the study showed that the virulence factors of *Stx1* gene were identified in some of the *E. coli* bacteria by 21.7% (30/138), while the *Stx2* gene was identified and in some of the *E. coli* bacteria at a rate of 12.3% (17/138). The results showed that the highest rate of identification of *Stx1* and *Stx2* genes together in *Escherichia coli* was 66% (91/138). Moreover, the *uidA* gene was identified in the serotype O157:H7 at 100%, *Stx1* gene at 92.3%, and finally, the *Stx2* gene at 100%. The effect of antibiotics on the isolates used in the study was studied by conducting a sensitivity test for twelve types of antibiotics, which included (tetracycline, erythromycin, gentamicin, chloramphenicol, amoxicillin, ciprofloxacin, nitrofurantoin, cephalothin, cefixime, trimethoprim, ceftriaxone and streptomycin). The result of these assays for commensal *E. coli* was 100%, 94% and 80% for the bacteria's resistance to the following antibiotics (cephalothin, erythromycin, and amoxicillin), while the bacteria's sensitivity to antibiotics was 100% to (gentamicin and ciprofloxacin). and 96% to trimethoprim and 90% to (cefixime and ceftriaxone). The result of these tests for *E. Coli* O157:H7 was 100% for bacterial sensitivity to the following antibiotics (ciprofloxacin, cefixime, chloramphenicol, trimethoprim, gentamicin, ceftriaxone, and streptomycin). While the resistance of bacteria to antibiotics was 100% for each of (erythromycin, cephalothin and amoxicillin).

**Detection of some pathogenic genes of serotype  
O157:H7 of *Escherichia coli* isolated from veal  
meat and butcher shops in Mosul city**

A Thesis Submitted

By

**Shaker Mahmood Othman Abdullah**

To

The council of the College  
of Veterinary Medicine  
University of Mosul  
In

Partial of Fulfillment of the Requirements  
for the Degree of Master of Science  
In

Veterinary Medicine  
Veterinary Public Health

Supervised by  
Assistant Professor  
**Dr. Omar Hashim Sheet**

---

---

2022 A.D.

1443 A.H

**University of Mosul  
College of Veterinary Medicine**



**Detection of some pathogenic genes of serotype  
O157:H7 of *Escherichia coli* isolated from veal  
meat and butcher shops in Mosul city**

**Shaker Mahmood Othman Abdullah**

**M.Sc. Thesis  
Veterinary Medicine  
Veterinary Public Health**

**Supervised by  
Assistant Professor  
Dr. Omar Hashim Sheet**

---

---

**2022 A.D.**

**1444 A.H.**