جامعــة الموصــل

كليــة الطب البيطري

مدى انتشار جراثيم السالمونيلا المنتجة للبيتالاكتاميز في الحمام المحلي في محافظة نينوى

محمد جاسم محمد عويد

رسالة ماجستير

الطب البيطري/ الصحة العامة البيطرية

بإشراف

الاستاذ الدكتور

عقيل محمد شريف خضر

1444هـ

2022م

مدى انتشار جراثيم السالمونيلا المنتجة للبيتالاكتاميز في الحمام المحلي في محافظة نينوى

رسالة تقدم بها

محمد جاسم محمد عويد

إلى

مجلس كلية الطب البيطري في جامعة الموصل

وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير

في إختصاص الطب البيطري / الصحة العامة البيطرية

بإشراف

الاستاذ الدكتور

عقيل محمد شريف خضر

1444هـ 2022م

بسم الله الرحمن الرحيم

ٱ □ □ □ □ □ □ □ □ بر

□ □ بن بى بي تر □ □

□ □ □ تن تى تي

□ □ □

سـورة الأنعام

الآيـة : 38

إقرار المشرف

أشهدُ بأنَّ إعداد هذه الرسالة جرت تحت إشرافي في جامعة الموصل، وهي جزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في اختصاص الطب البيطري/ الصحة العامة البيطرية

التوقيع:

الاسم: **أ.د.عقيل محمد شريف**

التاريخ: / / **2022**

إقرار المقوم اللغوي

أشهدُ بأنَّ هذه الرسالة الموسومة بـ(**مدى انتشار جراثيم السالمونيلا المنتجة للبيتالاكتاميز في الحمام المحلي في محافظة نينوى**) تمت مراجعتها من الناحية اللغوية وتصحيح ما ورد فيها من أخطاء لغوية وتعبيرية، وبذلك أصبحت الرسالة مؤهلة للمناقشة بقدر تعلق الأمر لِسلامة الأسلوب وصحة التعبير.

التوقيع:

الاسم: **أ.م.د. أحمد يحيى علي**

التاريخ: / **/2022**

إقرار رئيس فرع الصحة العامة البيطرية

بناءً على التوصيتين المقدمتين من قبل المشرف والمقوم اللغوي، أرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: **أ.د.ضياء محمد طاهر**

التاريخ: / / **2022**

إقرار رئيس لجنة الدراسات العليا

بناءً على التوصيات المقدمة من قبل المشرف والمقوم اللغوي ورئيس فرع الصحة العامة البيطرية، أُرشح هذه الرسالة للمناقشة.

التوقيع:

الاسم: **أ.د. رعد عبد الغني بشير**

التأريخ: **/ / 2022**

شكر وتقدير

وأنا اضع اللمسات الأخيرة على هذا الجُهد المتواضع أجدُ نفسي رافعاً اكف الشكر عالياً مستحضراً قول الباري (سبحانهُ وتعالى) في محكم كتابه الكريم (لئن شكرتم لأزيدنكم)، فاللهم لك الحمد والشكر على ما افرغت علي من نعم لا تُحصى وافضال لا تُعد وحسبي أن أكون ذلك العبد الشكور، إن قلمي يعجز أن يُسطر ما يدور في النفس من مشاعر تفيضُ شكراً وامتناناً إلى عمادة كلية الطب البيطري في جامعة الموصل والمتمثلة بالسيد العميد وإلى رئاسة جامعة الموصل، ثم الشكر كل الشكر الى أولئكَ الذينَ مدوا يد العون والمساعدة وفي مقدمتهم مشرفي **أ.د.عقيل محمد شريف** الذي لم يدخر جُهداً في مُساعدتي، كما اتقدم بالشكر الجزيل إلى أساتذة فرع الصحة العامة البيطرية جميعاً لما قدموة من مساعدة وتوجيهات....واخر دعوانا أن الحمدلله رب العالمين والصلاه والسلام على اشرف الخلق وخاتم الانبياء والمرسلين محمد (صلى الله عليه واله وسلم).

الباحث
محمد جاسم محمد عويد

الخلاصة

أُجريت هذه الدراسة عن مدى إصابة الحمام غير البالغ والحمام البالغ وبيئة تربيتهُما من معالف ومناهل وفرشة وأيدي المربين بجراثيم السالمونيلا لـ 34 منطقة موزعة في محافظة نينوى. إذ تم أخذ 400 مسحة للأعضاء الداخلية من الحمام غير البالغ والحمام البالغ، وزعت على الشكل التالي: 195 مسحة للحمام غير البالغ (بعمر أقل من 6 أشهر) شملت 50 مسحة أمعاء و50 مسحة أكباد و35 مسحة من فتحة المجمع و35 مسحة قلب و 20 مسحة طحال و5 مسحات بنكرياس ، وكذلك 205 مسحة للحمام البالغ (أكثر من 6 أشهر) شملت 50 مسحة أمعاء و50 مسحة أكباد و40 مسحة من فتحة المجمع و40 مسحة قلب و 20 مسحة طحال و5 مسحات بنكرياس.

أما مسحات بيئة تربية الحمام فقد شملت 50 مسحة من الفرشة و50 مسحة من المعالف و45 مسحة من المناهل(مياه الشرب) و 5 مسحات لغسول أيدي المربين .أسُتخدمت مختلف الأوساط الناقلة والأغنائية والانتخابية في عزل جراثيم السالمونيلا وتم التاكد منها باستخدام الصبغات والفحوصات الكيموحيوية الخاصه بها. ولأختبار الحساسية أخُضعت 30 مسحة من جراثيم السالمونيلا المعزولة لـ 16 نوع من انواع المضادات الحيوية. تم فحص قابلية 16 من عزلات جراثيم السالمونيلا في انتاجها لانزيم البيتا لاكتاميز بأستخدام المضادات الحاوية على حلقة البيتا لاكتام.

كما وجُمعت ومن الطيور ذاتها 23 عينة دم من الحمام غير البالغ و 69 عينة من الحمام البالغ لقياس مستوى أضداد جراثيم الـ *Salmonella enteritides* باستخدام طريقة الادمصاص(الإمتزاز) المناعي المرتبط بالانزيم (ELISA). ولتحديد نوع جراثيم السالمونيلا المعزولة بالاعتماد على جين 16SrRNA تم استخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) لإربعة عزلات شملت عينات من أيدي المربين ومن الفرشة ومن عينات الحمام غير البالغ والحمام البالغ والتعرف على التسلسل الجيني من خلال شجرة النشوء والتطور.

وللوقوف على فوعة جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام تم استخدام ثلاث بادءات هي *IroN* و *IucC* و*IucD* على 10 عزلات أخذت من الحمام غير البالغ والحمام البالغ وبيئة التربية، أوضحت نتائج عزل جراثيم السالمونيلا من الحمام غير البالغ إن نسبة العزل من

الاعضاء الداخلية بلغت 24% ، 6% ،5.7%،2.8% و0% و0% لكل من مسحات الامعاء والكبد وفتحة المجمع و القلب والطحال و البنكرياس على التوالي وبنسبة كلية بلغت 9.23% ، نسبة عزل جراثيم السالمونيلا من الأمعاء كانت أعلى من بقية الاعضاء الاخرى، أما نسبة العزل في الأعضاء الداخلية للحمام البالغ فكانت كالآتي:36% ، 14%، 15% ،5% ،10% و0% لكل من مسحات الأمعاء والكبد وفتحة المجمع و القلب والطحال و البنكرياس على التوالي وبنسبة كلية بلغت 17% ، وكانت نسبة عزل جراثيم السالمونيلا من الأمعاء فيها ايضا أعلى من بقية الأعضاء الأخرى. وفيما يخص نسبة عزل جراثيم السالمونيلا من مسحات المحيط فقد بلغت 30%،22% ،6.66% و20% لكل من مسحات الفرشة والمعالف والمناهل وأيدي المربين على التوالي، وعليه فإن النسبة الكلية لعزل جراثيم السالمونيلا من الحمام وبيئتهُ هي 15% (العدد الكلي للعينات = 550 عينة) .

أوضحت النتائج أن المقاومة لـ 30 من عزلات السالمونيلا للمضادات الحيوية وجود مقاومة عالية للسيبروفلوكساسين (73.33%) يليها الكوليستين (70٪) ،والفلورفينيكول (66.6%)، ثم سلفاميثوكسازول–تريميثوبريم (60%)، لينكومايسين وأموكسيسيلين (46.6%) ، سبيرامايسين ودوكسيسايكلين (40%) ، تتراسيكلين (36.66%) ، ليفوفلوكساسين وإنروفلوكساسين (33.33%)، فوسفوميسين (26.6%) ، نورفلوكساسين (23.3%) ، سيفاليكسين ، نيومايسين وجنتاميسين (16.6%) . وفيما يخص انتاج عزلات السالمونيلا لانزيم البيتا لاكتاميز فقد اتضح أنَ النسبة باستخدام طريقة القياس الحمضي هي 13 عزله من 16عزلة (81.25٪) ، وبأستخدام طريقة انتشار القرص كان هناك 7عينات موجبة (43.75٪) للمضادات ذات الطيف الواسع (ESBL) وبنسبة مقاربة كان هناك أيضاً 6 / 16 (37.50٪) عينات موجبة للمضادات ذات الطيف الواسع ß -lactam نوع *ampC* (ESBL / *ampC*).

وأوضحت نتائج قياس مستوى الأضداد أن 5عينات من مجموع 23 (21.73٪) للحمام غير البالغ كانت موجبة لأضداد *Salmonella enteritides* باستخدام تقنية IDEXX iELISA بمعيار أضداد (681) وهو أعلى من معيار أضداد العينات السالبة (215.5) .اما في الحمام البالغ فقد ظهر إن 8 عينات من مجموع 69 عينة (11.59%) كانت موجبة لإضداد *Salmonella enteritides* وبمعيار أضداد (793.62) وهو أعلى من معدل العينات السالبة (202.65).

كانت نتائج تفاعل PCR للتسلسلات الجينية في عزلات السالمونيلا والمرسلة الى بنك الجينات GenBank والتي شملت غسول أيدي المربين ، و الفرشة ، والحمام غير البالغ و الحمام البالغ إن المسحة المأخوذه من غسول أيدي المربين تعود إلى

Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium

كما وأظهرت النتائج ولأول مرة في العراق وفي محافظة نينوى تسجيل ثلاثة تسلسلات جينية جديدة وهي للعزلة المأخوذة من الفرشة وهي MO-A1 (LOCUS LC714863)، و من الحمام غير البالغ MO-A2 (LOCUS LC714864) ومن الحمام البالغ MO-A3 (LOCUS LC714865). أما فيما يخص عوامل الفوعة التي تحملها جراثيم السالمونيلا فقد اتضح إن عزلات السالمونيلا الـ10 من تلك التي تم فحصها حاوية جميعهاَ على عوامل الضراوة *IucC* و *IucD* و *Iro N* الثلاثة وبنسبة (100%) .

ثُبت المحتويات

الموضوع	الصفحة
الخلاصة	أ- ج
ثُبت المحتويات	د- ز
ثُبت الجداول	ز- ح
ثُبت الأشكال	ط – ك
ثُبت المختصرات	ي – ك
الفصل الاول :المقدمة	**1 – 2**
الفصل الثاني:استعراض المراجع	**3-21**
2.1_نبذة تاريخية	**3**
2.2_ السالمونيلا (التعريف والخصائص)	**3-4**
2.3_تصنيف السالمونيلا	**5**
2.4_ طُرق أصابة الحمام بجراثيم السالمونيلا	**5-6**
2.5_ نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الحمام	**6-7**
2.6_مصادر التلوث بالسالمونيلا	**8**
2.7_ العلامات السريرية للأصابة بالسالمونيلا في الحمام	**7-8**
2.8_ الامراضية	**8-9**
2.9_المناعة ضد جراثيم السالمونيلا	**9**
2.9.1_ المناعة الخلطية	**10**
2.9.2_ المناعة الخلوية	**10-11**
2.10_ طرق تشخيص السالمونيلا في الطيور(الحمام)	**11**
2.10.1 _ التشخيص الزرعي	**11-13**
2.10.2 _ الفحص المجهري	**13**
2.10.3-الطريقة الكيموحيوية	**13**

2.10.4-الطرق المناعية	15-14
2.11_ وبائية السالمونيلا	16-15
2.12_مقاومة جراثيم السالمونيلا للمضادات الحيوية	17-16
2.13_مقاومة المضادات الحيوية من نوع البيتا_لاكتام	20-17
2.14 عوامل الخطورة لجراثيم السالمونيلا:	21-20
الفصل الثالث:المواد وطرائق العمل	**35-22**
3.1_المسحات	24-22
3.2_عينات الدم	24
3.3_الأوساط الزرعية	24
3.3.1_الأوساط الصلبة	24
3.3.2_الأوساط السائلة	25
3.3.3_أوساط الاختبارات الكيموحيوية	25
1_اختبار ثلاثي السكر والحديد	26-25
2_ اختبار انتاج خميرة اليوريز	26
3_اختبار استهلاك السترات	26
4_ اختبار انتاج الاندول	26
5_ اختبار المثيل الاحمر	26
6_ اختبار الفوكس بروسكاور	26
7_اختبار كاتالاز	27-26
8_اختبار أوكسيديز	27
9_أختبار الكاربوهيدرات (تخمير اللاكتوز)	27
3.4 الكواشف	27
3.5 الأصباغ	27
3.6 أقراص المضادات الحيوية	28
3.7 العزل الجرثومي	29-28
3.8 اختبار الحساسية للمضادات الحيوية	29
3.9_ اختبارات البيتالاكتام لجرثومة السالمونيلا	29

3.9.1_ التحري عن أنزيمات البيتا– لاكتاميز بالطريقة الحامضية	**30**
3.2.2_ طريقة انتشار القرص	**30**
3.3.3_ الطريقة الموسعة - إنتاج الطيف الممتد بيتا لاكتاميز (ESBL,ESBL/*ampC*)	**30**
3.10_تحضير مصل الدم	**30**
3.11_ألاختبارات المصلية	**31**
3.11.1_أختبار ألاليزا (ELIZA)	**32-31**
3.11.2_أختبار تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)	**32**
أولاً_استخلاص الحامض النووي من بكتريا السالمونيلا *Salmonella spp.*	**33-32**
ثانياً_ تحضير هلام الاكاروز وعملية الترحيل الكهربائي للـ DNA	**33**
ثالثاً_ تفاعلات البلمره المتسلسل (PCR)	**34-33**
3.12_التشخيص الجزيئي لعدد من جينات الضراوة في جراثيم السالمونيلا *Salmonella spp.*	**35-34**
3.13_التحليل الاحصائي :	**35**
الفصل الرابع:النتائج	**56-36**
4.1_العزل الجرثومي	**37-36**
4.2_نسب عزل جراثيم السالمونيلا في الحمام	**37**
4.2.1_ النسب الكلية لعزل جراثيم السالمونيلا في الحمام وبيئته:	**37**
4.2.2_ نسب عزل جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام غير البالغ والحمام البالغ	**38**
4.2.3_ نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الاعضاء الداخلية للحمام البالغ	**38**
4.2.4_ نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الاعضاء الداخلية للحمام غير البالغ	**39-38**
4.2.5_نسب عزل جراثيم السالمونيلا من بيئة تربية الحمام:	**39**
4.3_الاختبارات الكيموحيوية	**41-40**
4.4_أختبارات الحساسية للمضادات الحيوية	**45-41**
4.5_عزلات السالمونيلا المنتجة للبيتا لاكتاميز	**48-46**
4.6_أختبار الادمصاص(الامتزاز) المناعي المرتبط بالانويم (الاليزا)	**50-49**
4.7_ الاختبار البايولوجي الجزيئي	**51**

4.7.1_استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين	**51**
4.7.2_تفاعل البلمره المتسلسل(PCR)	**52-51**
4.8_التحري عن جينات الضراوة في جراثيم السالمونيلا	**56-52**
الفصل الخامس:المناقشة	**62-57**
5.1_نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الحمام في محافظة نينوى	**58-57**
5.2_ نسب عزل جراثيم السالمونيلا من بيئة تربية الحمام	**59-58**
5.3_حساسية جراثيم السالمونيلا للمضادات الحيوية	**60-59**
5.4_نسب عزل جراثيم السالمونيلا المنتجة للبيتالاكتاميز من الحمام في محافظة نينوى	**61**
5.5_ معايير الاضداد لـ *S. Enteritidis* في الحمام غير البالغ والحمام البالغ بإستخدام تقنية الـ iELISA	**61**
5.6_ تحديد عوامل الفوعة لجراثيم السالمونيلا باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR)	**62-61**
الفصل السادس: الأستنتاجات والتوصيات	**64-63**
6.1_الاستنتاجات	**63**
6.2_التوصيات	**64**
المصادر	**83-65**
أولاً_ المصادر العربية	**65**
ثانياً_ المصادر الاجنبية	**83-66**

ثُبت الجداول

الجدول	العنوان	الصفحة
1	التوزيع البيئي لجراثيم السالمونيلا *Salmonella spp.*	15
2	المناطق التي تم جمع العينات منها في محافظة نينوى.	23
3	انواع المضادات الحيوية وتراكيزها	28
4	البادئات المستخدمة للكشف عن جينات الضراوة في بعض جراثيم السالمونيلا.	34
5	البرنامج الخاص في التفاعلات الخاصة بالكشف عن جينات الضراوة لبعض جراثيم السالمونيلا.	35

6	نسب تواجد جراثيم السالمونيلا في الحمام وبيئتهُ	37
7	نسب انتشار السالمونيلا المعزولة من الحمام غير البالغ والحمام البالغ.	38
8	نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الاعضاء الداخلية للحمام البالغ	38
9	نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الاعضاء الداخلية للحمام غير البالغ	39
10	نسب تواجد جراثيم السالمونيلا في بيئة الحمام	39
11	نتائج الأختبارات الكيموحيوية على عزلات جراثيم السالمونيلا من الحمام	41
12	نسب مقاومة جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام البالغ لمختلف المضادات الحيوية.	41
13	نسبة مقاومة جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام غير البالغ لمختلف المضادات الحيوية.	43
14	نسب مقاومة جراثيم السالمونيلا المعزولة من البيئة لمختلف المضادات الحيوية.	44
15	النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لإنزيم الـ– ß lactamase بطريقة القياس الحمضي.	46
16	النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لـ - ß lactamase بطريقة الانتشار القرصي.	47
17	النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لانزيم - ß lactamase الطيف الممتد من نوع *ampC* عن طريق طريقة الانتشار القرصي.	48
18	متوسط معيار الأجسام المضادة لـ *S. Enteritides* للحمام غير البالغ والحمام البالغ.	49
19	تسجيل ثلاث سلالات جينية جديدة للسالمونيلا المعزولة من الحمام وبيئتهُ في بنك الجينات	55

ثُبت الأشكال

الشكل	العنوان	الصفحة
1	مناطق جمع العينات من محافظة نينوى	22
2	جمع عينات الدم من وريد جناح الحمام Wing vein.	24
3	عدة الاليزا *Salmonella enteritidis* Antibody Test Kit لشركة IDEXX الامريكية.	31
4	مستعمرات جراثيم السالمونيلا A: على وسط السالمونيلا_ شايكلا SSA وB:على وسط XLD .	36
5	الفحص المجهري لجراثيم السالمونيلا	36
6	الفحص المجهري لجراثيم السالمونيلا	37
7	نسب جراثيم السالمونيلا المعزولة من الأعضاء الداخلية للحمام	40
8	نسب جراثيم السالمونيلا المعزولة من بيئة تربية الحمام	40
9	اعداد جراثيم السالمونيلا الحساسة ومتوسطة الحساسية والمقاومة والمعزولة من الحمام البالغ وغير البالغ والبيئة لـ 16 مضاداً حيوياً.	45
10	النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لانزيم الـ - ß lactamase بطريقة القياس الحمضي.	46
11	عزلات السالمونيلا المنتجة لانزيم ß–lactamase، العزلات الموجبة (صفراء اللون) الأنابيب (على اليمين) ، والعزلات السالبة (حمراء اللون) (على اليسار) باستخدام طريقة القياس الحمضي.	46
12	النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لانزيم - ß lactamase بطريقة الانتشار القرصي.	47
13	A:عزلة سالمونيلا منتجة لإنزيم الـ ß–lactamase, B:عزلة سالمونيلا غير منتجة لإنزيم الـ ß–lactamase	47
14	النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لإنزيم الـ - ß lactamase الطيف الممتد من نوع *ampC* عن طريق طريقة الانتشار القرصي.	48
15	A:نتيجة موجبة لعُزلة السالمونيلا المنتجة لإنزيم الـ *ampC* من النوع lactamase (القطر أقل من 18 ملم) B:نتيجة سالبة لعُزلة السالمونيلا غير المنتجة لإنزيم الـ - ß lactamase (القطراكثر من 18 ملم).	48
16	معدل معيارالاضداد لـ *S. Enteritides* في الحمام غير البالغ (أقل من 6 أشهر).	50
17	معدل معيارالاضداد لـ *S. Enteritides* في الحمام البالغ (اكثر	50

	من 6 أشهر).	
18	يُمثل صورة الجينوم المستخلص من جرثومة السالمونيلا والمُرحل بهُلام الاكاروز بتركيز 1%	51
19	يُمثل ناتج تفاعل الـ PCR لمنطقة الـ 16Sr RNA للبكتريا وبناتج تفاعل 1300bp والمُرحل في هُلام الاكاروز بتركيز 1.5%	52
20	يُمثل ناتج تفاعل الـ PCR للجين *IroN* في جرثومة السالمونيلا بناتج تفاعل 900 bp والمرحل بهلام الاكاروز بتركيز2%.	52
21	يُمثل ناتج تفاعل الـ PCR للجين *IucC* في البكتريا بناتج تفاعل 1100 bp والمرحل بهلام الاكاروز بتركيز 2%.	53
22	يُمثل ناتج تفاعل الـ PCR للجين *IucD* في البكتريا بناتج تفاعل 750 bp والمرحل بهلام الاكاروز بتركيز 2%.	53
23	علاقة النشوء والتطور في جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام وبيئتهُ والعزلات المسجلة في بنك الجينات.	56

ثبت المختصرات

الرمز	المختصر
SSA	Salmonella-Shigella Agar
XLD	Xylose Lysine Deoxycholate Agar
BGA	Briliant Green Agar
BSA	Bismuth Sulphate Agar
BPW	Buffered Pepton Water
PCR	Polymerase Chain Reaction
MDR	Multi Drug Resistance
ESBL	Extended Spectrum Betalactamase
SFB	Selenite F Broth
GM	Geometric mean
Ags	Antigens
Abs	Antibodies
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue
PMN	Polymorph Nuclear Cell
AMR	Antimicrobial Resistance
VRE	Vancomycin Resistance Enterobacteriacea
ESC	Extended Spectrum Cephalosporin
MICs	Minimum Inhibitory Concentrations
WBC	White Blood Cell
MHA	Mueller Hinton Agar

PAIs	Pathogenecity Island
HGT	Horizantal Gene Transport
MGEs	Migretory Genes
BP	Base pair
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
GB	Good Buffer
GD	Gas Discharge
TBE	Tris burate EDTA
TE	Tris EDTA
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay

الفصل الاول

المقدمـــة

Introduction

تُعد الإصابة بمرض السالمونيلية من الامراض المعدية لكل من الانسان والحيوان، وهي إحدى جراثيم العائلة المعوية *Enterobacteriaceae* (Brooks *et al.*, 2001).

تنقسم جراثيم السالمونيلا إلى صنفين رئيسين هما (*S. Enterica* and *S. Bongori*)، وقد تحمل بعض أنواع الحيوانات مثل الطيور والدواجن واللبائن جراثيم السالمونيلا في جهازها الهضمي وتساهم في تلوث البيئة المحيطة بها(Allerberger *et al*., 2002;Rasooly and Herold,2008).

تتصف جراثيم السالمونيلا بأنها عصوية سالبة لصبغة الكرام ، لاهوائية اختيارية ، غير مكونة للابواغ، وهناك مايقارب من 2700 نمطاً مصلياً تم التعرف علية مسؤولاً عن معظم الاصابات في الانسان والحيوانات وتعود أغلبها الى *Salmonella enterica sub-species enterica* (uzzau *et al.*,2000). يُعد جنس السالمونيلا من اكبر الأجناس الممرضة في عائلة الجراثيم المعوية(Quinn et al., 2004) (Hirsh and Zee, 1999) (حداد، 1991).

عُرفت السالمونيلا منذ عام 1885م كمسبب للحمى التايفوئيدية typhoid fever وسميت بهذا الاسم عام 1934م تخليداً لذكرى عالم الجراثيم الامريكي D. E. Salmon الذي يُعد اول من وصف جراثيم الـ *Salmonella Choleraesuis* (Merchant and packer, 1967).

ينتشر الحمام البري في دول العالم المختلفة بشكل طبيعي ومن ضمنها العراق تستخدم في أحيان عديدة كمصدراً للغذاء (اللحم والبيض)، وتربى كذلك كهواية وتستخدم للأغراض التجريبية (khordadmehr *et al*., 2018; Albrecht and Kampfer,2001) ولأغراض الصيد والسباقات كما هو الحال في الحمام الزاجل وطيور الزينة (Tanaka et al., 2005; Ahmed et al.,2015).

يُعد الاصابة بالسالمونيلا أحد أكثر أمراض الحمام شيوعاً والذي يحدث غالباً نتيجة الاصابة بجراثيم السالمونيلا نوع *Salmonella enterica subsp. Enterica* بنوعيه *Salmonella Typhimurium* و *Salmonella Entertidis* من حيث نسبة ومعدل الهلاكات،(vereeken *et al*., 2000; Tanaka *et al*., 2005; De sousa *et al*., 2010).

ينتقل مرض السالمونيلا من الامهات المصابة عامودياً من خلال البيض إلى الأفراخ وأفقياً من الطيور المصابة الى الطيور السليمة وكما وقد يكون الحمام حاملا لجراثيم السالمونيلا وتنتقل الاصابة من خلال تلوث مياة الشرب(المناهل) أو بالبراز و الفرشة(Tanaka et al., 2005). كما تؤدي أيدي المربين والقوارض والحشرات دور في المساعدة بنقل المرض، ومن أبرز علامات اصابة الحمام بجرثومة السالمونيلا هو التهاب الأمعاء والاسهال والتهاب المفاصل(Farghaly and mahmmod, 2011).

ويلعب الحمام دور مهم في نقل جراثيم السالمونيلا الى الانسان وإلى اللبائن الاخرى، كما يعمل على نقل المرض الى الطيور الاخرى وخصوصاً الدواجن، وقد يؤدي أستهلاك لحوم الحمام الملوث بجراثيم السالمونيلا الى حدوث حالات التسمم الغذائي جراء أستهلاك هذه اللحوم. (Tanaka *et al*., 2005; piasecki, 2006; Greig and Ravel, 2009; volkova *et al*., 2011)

وعليه فأنَ الهدف من الدراسة هو:

1_الوقوف على نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الحمام في محافظة نينوى.

2_تشخيص جراثيم السالمونيلا بالطريقة الجزيئية.

3_تحديد نسب العُترات المنتجة لأنزيم البيتالاكتاميز.

4_ تقدير حساسيتها لمختلف المضادات الحيوية.

5_تحديد بعض جينات عوامل الفوعة .

6_قياس مستوى أضداد السالمونيلا في أمصال الحمام.

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Literatures Review

2.1. نبذة تاريخية

استطاع العالم الانكليزي Budd عام 1825م من التعرف على أحد المسببات المرضية المتواجدة في براز المرضى في مدينة كامبرج، ليكتشف أنها جرثومة السالمونيلا عام 1856م جراء أنتشار حالات الحمى التايفوئيدية، وقد أعزى سبب المرض إلى تلوث مياه الشرب بفضلات المصابين بهذه الجرثومة، وبهذا تعد جرثومة *S. Typhi* أول نمط مصلي من انماط السالمونيلا (Butler, 1988).

واعقب ذلك عام 1888م استطاع الباحث Gartner من عزل جرثومة *S. Enteritidis* الممرضة للقوارض من أبقار مصابة بالالتهاب المعوي (Edward and Bouchier, 2000). تبعهُ الباحث Loffler بعزل جرثومة *S. Typhimurium* من القوارض المصابة بمرض شبيه التايفوئيد عام 1889م وسُجل عزل هذه الجرثومة في الانسان والماشية والقطط والقوارض والزواحف والطيور والخنازير (Prescott *et al*., 2002).

أول ذكر تاريخي للحمام المستأنس كغذاء كان في مصر عام 3000 قبل الميلاد (Blechman,2006)، ومنذ التدجين الأولي للحمام ، كان يُنظر إليه على أنه مصدر للحوم من قبل الرومان كذلك كمصدر غذائي ، أذ يُعد الحمام غير البالغ جزءاً من مطبخ العديد من البلدان ، بما في ذلك فرنسا والولايات المتحدة الأمريكية وإيطاليا وشمال إفريقيا والعديد من الدول الآسيوية (Blechman, 2006; Morgan, 2006; Natala et al., 2009).

. 2.2. السالمونيلا (التعريف والخصائص)

التعريف:

تعد جرثومة السالمونيلا إحدى جراثيم العائلة المعوية Enterobacteriaceae المهمة، وهي جراثيم عصوية سالبة لصبغة الكرام، لاهوائية اختيارية، غير مكونة للأبواغ، ولها ما يقرب من 2700 نمطاً مصلياً. وأشار الباحثون (Uzzau *et al*.,2000) (حداد، 1991) إلى أن هناك حوالي 50 نمطاً مصلياً مسؤولاً عن معظم الاصابات في الانسان والحيوانات وجميعها تعود الى *Salmonella enterica sub-species enterica* .

الخصائص:

من الخصائص المهمة لجراثيم السالمونيلا مايأتي:

1- أنها مخمرة لسكر الكلوكوز مع تكوين حامض و غاز في بعض الاحيان ناتج من تخمر سكر الكلوكوز وسكر المانوز إلا أنها غير مخمرة لسكر اللاكتوز والسكروز، ماعدا *S. Tennessee* التي تخمر سكر اللاكتوز (Brooks *et al*.,2001).

2- معظمها منتجة لكبريتيد الهيدروجين H_2S ماعدا *S. Typhi, S. Paratyphi, S. Enteritidis.* فهي غير منتجة للغاز(Brooks *et al*.,2001) .

3- تختزل النترات إلى نتريت وغير منتجة للخميرة المؤكسدة Oxidase، وتستهلك السترات.

4- سالبة لاختبار اليوريا (Urease test)، ولاختبار سيانيد البوتاسيومKCN. ولاختبار الفوكس بروسكاورVoges proskauer test ، و لاتخثر الحليب، اللتموس

5- تُعد السالمونيلا موجبة لأختبار الاندول indole test، ماعدا *S. Enteritidis S. Panamal, S. Eastbourne* فهي سالبة لاختبار الاندول، كما أنهُ لاتميع الجيلاتين ماعدا *S. daressalaan*. (Cruickshank *et al*.,1975).

6- تحتاج جرثومة السالمونيلا متطلبات نمو بسيطة ويمتلك أغلبها متعدد السكريد الدهني lipopolysaccharide(LPS) في جدارها الخلوي والذي يكون الذيفان الداخلي Endotoxin .

7- معظم أفرادها متحركة بأسواط محيطية peritrochus flagella ماعدا *S. pullorum and S. gallinorum* التي تصيب الدواجن فهي غير متحركة الا أن هناك سلالات عديده من جراثيم السالمونيلا تمتلك شعيرات وتعرف بالخمل التي بواسطتها تلتصق بالخلايا الظهارية المعوية للمضيف (Prescott *et al*., 1996).

8- تتراوح ابعاد جرثومة السالمونيلا بين (0.6×2-4µm)، وهي غير مقاومة للحوامض ولاتحتوي على محفظة (Ekperigin & Nagaraja, 1998).

9- جرثومة السالمونيلا مقاومة لعدد من المواد الكيميائية والاصباغ مثل صبغة الاخضر اللماع Brilliant green، والصوديوم رباعي الثايونيت sodium tetrathionate وكذلك sodium deoxy cholate، وهذه الأصباغ تثبط الأنواع الأخرى من الجراثيم المعوية مما يسهل من عملية عزل السالمونيلا وتصنيفها (Brooks *et al*.,2001).

2.3. تصنيف السالمونيلا:

يمكن تصنيف السالمونيلا على اساس انتخابها للمضيف الى ثلاثة مضائف: (Bassullu and Tolunay,2010)

1_ متخصصة لنوع واحد

2_ مخصصة للحيوانات

3_ مشتركة

وفقاً لأحدث التصنيفات والتسميات، فإن جنس السالمونيلا يتكون من نوعين رئيسيين وهما *S. Enterica* و *S. Bongori* .

2.4. طرق أصابة الحمام بجراثيم السالمونيلا:

تسبب جراثيم السالمونيلا مرض السالمونيلية، وهو أحد أكثر أمراض الحمام شيوعاً ، وينتج عن الإصابة بجراثيم السالمونيلا نوع *Salmonella enterica subsp. enterica*، عن طريق الاتصال المباشر مع حيوانات المزرعة إذ تدخل جراثيم السالمونيلا لجسم الطائر بطرق عدة جراء الأختلاط بطيور مصابة ظاهرياً أو بعدوى كامنة، كما وتلعب الطيور البرية دوراً مهماً في نقل الاصابة جراء تلوث الغذاء والمحيط ببراز الطيور المصابة (Khaitsa & Doetkott, 2012).

وتشير البحوث الى انتقال داء السالمونيلا من الحمام إلى الإنسان (Haag-Wackernagel & Moch, 2004)، نتيجة قربها الوثيق من الانسان عند اقتنائها وتربيتها أو من خلال السلسلة الغذائية عند استهلاك لحومها الملوثة بهذه الجراثيم مما يجعلها عاملاً خطراً على الصحة العامة للمستهلكين (Hoelzer *et al*.,2010; Sousa *et al*., 2011; Khordadmehr *et al*., 2018).

وأكد الباحث (Tauxe,1991) إلى أن الطيور تُعد من المصادر الرئيسية في نقل السالمونيلا الى الانسان، وتمكنَ العديد من الباحثين من عزل أنواع من السالمونيلا من براز الطيور ومن فتحة المجمع والعديد من الاعضاء الداخلية (Gonzalez-Acuna *et al*.,2007; Sousa *et al*., 2011; Farghaly and Mahmmod, 2011).

فضلاً عن ذلك فإن الحمام يُعد من مستودعات العديد من الأمراض المعدية التي تصيب الطيور الاخرى ومنها جراثيم *S. Enteritidis* المسؤولة عن الأعداد الكبيرة للأصابات و الهلاكات في الطيور

(Tanaka *et al*., 2005; Piasecki, 2006; Greig and Ravel, 2009; Volkova *et al*., 2011)

2.5. نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الحمام:

إن حرية حركة الحمام تساعد في نقل العدوى عن طريق الاحتكاك المباشر أو غير المباشر مع الطيور والحيوانات الأخرى المصابة أو الحاملة للإصابة بجراثيم السالمونيلا ، وما تلوثه الطيور البرية للبيئة المحيطة ,وهو مايؤكده عزل أنماط مصلية متشابهة في منطقة محددة من مختلف أنواع الحيوانات كالحمام والخنازير مثلا لتعطي دليلا في نشر التلوث ونقل العدوى في منطقة ما (Vico and Mainar-Jaime, 2011).

أختلف الباحثون في تحديد مستويات عزل جراثيم السالمونيلا فقد أظهرت دراسة أُجريت في مصر من قبل الباحثان (Ibrahim, 2008)، على أن نسبة العزل لجراثيم السالمونيلا (2%) للنمط المصلي *S. Typhimurium* بينما سُجلَ نفس النمط من قبل الباحث (Kinjo *et al*., 1983) وجماعتهُ في الحمام البالغ نسبة (12%) وكان للكبد نسبة العزل الأكبر (8%) فيما لم يسُجل النمط نفسه في الحمام غير البالغ(Squabs pigeons).

وتختلف النسب المسجلة في مزارع الحمام غير البالغ حيثُ سجلَ الباحث (Casanovas *et al*., 1995) وجماعتهُ أنَ نسبة الاصابة بجراثيم السالمونيلا في مزارع لتربية الحمام غير البالغ بلغت (1.4%) من 18 مزرعة تحتوي على 1110طائراً و (3.4%) من مزرعة تحوي على 250 طائر و (1.4%) من 23 مزرعة تحوي 2900 طائراً، وعزل الباحث (Vučemilo *et al*., 2003) وجماعتهُ عند فحصهم 150 عينة من الحمام البالغ في مزارع مختلفة من كرواتيا النمط المصلي *S. Typhimurium* بنسبة 50% وبنسبة 4.7% (7/150) من محيط تربيته وبأنماط مصلية هي:

S. Typhimurium, S. Agona S.Virginia وللنسب(71.4%, 14.3%, 14.3%) على التوالي، بينما أشار الباحث (Dovac *et al*., 2004) وجماعتهُ الى امكانيه عزل 28 نمطاً مصلياً من جراثيم السالمونيلا من الاعلاف وبنسبة تلوث بلغت 10%

ولعزل جراثيم السالمونيلا من مصادر مختلفة لحظائر تربية الحمام من مزرعتين لتربية الطيور قام بها الباحث (*De Sousa et al*., 2010) وجماعتهُ ، تم الكشف عن 59 عزلة من السالمونيلا وإن نسبة الأنماط المصلية *S. Enteritidis* و S. *Montevideo* بلغ على التوالي (24%) و(5%) .

وأوضح (Lillehaug *et al.*, 2005) أن براز الطيور المصابة بالسالمونيلا يشكل مصدراً لأصابة المربين بها وبهذا قد يحمل مخاطر صحية على العاملين أثناء عملية التنظيف ، وهو ما أشار اليه الباحث (González-Acuna *et al.*, 2007) وجماعتهُ من أن نسبة عزل جراثيم السالمونيلا في اربعة مزارع لتربية الطيور في اليابان بلغت (80%) وفي بيئة هذه المزارع بلغت نسبة عزل *S. Enteritidis* (90.9%).

2.6. مصادر التلوث بالسالمونيلا:

1) العلف Feed :

يُمكن أن نعد العلف من المصادر الرئيسية في دخول المسببات المرضية والتي من ضمنها الاصابة بجرثومة السالمونيلا (Veldman *et al.*,1995) إذ بينت العديد من الدراسات ان العلف مصدر كبير ومهم للمسببات المرضية.

2) الماء water:

يلعب الماء دورا مهما في التلوث بجراثيم السالمونيلا وكذلك في نقل الخمج من طائر الى آخر، إذ اظهرت العديد من الدراسات ان نسبة تلوث مياة المناهل بالسالمونيلا 10%، في حين بلغت نسبة التلوث في دراسة اخرى 2.8% وكانت أغلب الأنماط المعزولة هي *S. Enteritidis* (AL-Nakhli *et al.*, 1999).

3) الفرشة litter:

يُعد تلوث الفرشة مقياساً لتلوث القطعان بالسالمونيلا (Bhatia *et al.*,1980)، إذ يُمكن أن تبقى هذه الجراثيم في الفرشة بدرجة حرارة 25م لمدة 18 شهراً وتبقى بدرجة 38م لمدة 13 يوماً. وتؤدي فعالية الماء ونسبة الرطوبة دوراً كبيراً في وجود السالمونيلا في الفرشة ، فقد أشار الباحثون (Eriksson *et al.*,2001) إلى ان فعالية الماء (A_w) 0.90 وبنسبة رطوبة 35% عوامل تساعد في وجود السالمونيلا في الفرشة، كما أن هناك مصادر تلوث اضافية ومنها الغبار.

2.7. العلامات السريرية للأصابة بالسالمونيلا في الحمام:

Clinical signs of salmonella infection in pigeons

بسبب اختلاف موقع الاصابة تختلف الأشكال التي قد تظهر بها الاصابة بجراثيم السالمونيلا في الحمام كما يأتي :

أ- الإصابة المعوية: يكون جسم الطائر ضعيفاً وهزيلاً و البراز لزجاً ذا رائحة كريهة.

ب- الاصابة المفصلية: تستقر بكتريا السالمونيلا في المفاصل،أذ يؤدي اصابة المفصل بالسالمونيلا الى التهاب مع الم شديد للطائر المصاب، مؤديا الى تورم المفصل مما يضطر الطائرإلى رفع أحد رجليه أو جناحيه لتخفيف الالم.

ج- الأصابة العضوية: قد تتكاثر السالمونيلا في الكبد، الكلى، البنكرياس، الطحال مما يسبب خمولاً واضحاً في الجسم.

د- الإصابة العصبية: بعد اختراق السالمونيلا للدماغ ونخاع العظم تتعرض الخلايا العصبية لضغط قد يؤدي الى اختلال التوازن للطائر المصاب ومن ثم الرعاش او حتى الشلل (Bäumler *et al*.,2000).

2.8. الامراضية Pathogenesis :

إن لجراثيم السالمونيلا العديد من الصفات المختلفة التي تمكنها من احداث الاصابة والتي تعرف بعوامل الضراوة (Virulence Factors) ، وتتضمن القابلية العالية على غزو أنسجة المضيف والتكاثر داخل الخلية (Intracellular Replication) ، وانتاجها للذيفانات المعوية فضلاً عن امتلاكها لمستضد الفوعة Virulance Antigen (Martin *et al*.,1995).

تحدث الاصابة بجراثيم السالمونيلا عند تناول الاعلاف و المياة الملوثين بجراثيم السالمونيلا، إذ اشارت البحوث الى ان شدة الاصابة تعتمد على عدة عوامل منها عدد الخلايا الجرثومية التي تدخل جسم المضيف وعمرهُ وحالته الصحية فضلاً عن الموسم السنوي، كذلك عوامل الاجهاد في أوقات التكاثر وحالات نقص التغذية(Radostits *et al*., 2000; Hous and Smith, 2004)ونقص الاوكسجين Hypoxia.

بعد دخول جرثومة السالمونيلا إلى القناة الهضمية، فأنها سوف تدخل من خلال طبقة الميوسين (Mucin) التي تغطي الخلايا الطلائية المعوية (Enterocyte)، وتلتصق على الظهارة المعوية العمودية (Intestinal columinar epithelium)، بعد ذلك تقوم بغزو الخلايا الظهارية للمضيف ، وتشكل لطخات باير (Payers patches) المنفذ الرئيسي لدخول أنواع السالمونيلا وتكاثرها ومن الممكن أن يحدث المرض بشكلية الموضعي والجهازي.

إن الظهارة المبطنة للجريبات اللمفية في لطخات باير تتميز عن غيرها من الظهارة المبطنة لزغابات اللفائفي Ileum villi، إذ إن الظهارة الزغابية تحتوي على خلايا كأسية goblet cells، وأن هذا النوع من الخلايا تكون غير موجودة في الظهارة المرتبطة بالجريبات (Giannasca *et al*.,1994).

عندما تصبح جراثيم السالمونيلا على تماس مباشر مع الخلايا الظهارية عن طريق تراكيب شعرية دقيقة تمتلكها تدعى بالخمل (Famberia)، فأنها تحاول ان تثبت نفسها على سطح الخلايا المعوية أو الخلايا المخاطية للمضيف، كما تقوم تلك الخلايا بابتلاع جراثيم السالمونيلا بعملية البلعمة الخلوية (Endocytosis) ، وبعد التمركز داخل السايتوبلازم الخلوي، تتموضع جراثيم السالمونيلا الفجوات (Endocytotic vacuoles)، ومن ثم تتحرك هذه الفجوات من اعلى قمة الخلية الى قاعدة الخلايا، لتنتقل جراثيم السالمونيلا الى الجزء تحت الظهاري Sub epithelium (Tsolis *et al*.,1999)

لكي تتسبب السالمونيلا في إحداث الإصابة الجهازية المعوية، فعليها مقاومة الدفاعات الجسمية والتحطيم بوساطة خلايا الدم البيض (WBC)، وذكر الباحثون (Bäumler *et al*.,2000) بأن الاستراتيجية الاساسية للفوعة في جراثيم السالمونيلا، هي قدرتها لغزو ظهارة الامعاء والتكاثر في الأنسجة اللمفية الملحقة بالقناة الهضمية (GALT) Gut Associated Lymphoid Tissue.

تتواجد الخلايا البلعمية الكبيرة Macrophagesبكثرة في الغدد اللمفية ومن ضمنها الغدد اللمفاوية المرتبطة بالجهاز الهضمي، والتي هي حواجز فعالة تمنع جراثيم السالمونيلا من الانتشار (Hirsh and Zee,1999).

2.9. المناعة ضد جراثيم السالمونيلا Immunity against Salmonella:

تُعد الاستجابة المناعية غير المتخصصة (Non –specific immunity) الخط الدفاعي الاول ضد السالمونيلا، وهي تتألف عادة من عدة حواجز فسلجية مثل(الجلد،والاغشية المخاطية، كما تتضمن عناصر أخرى مثل المتمم وعوامله، الانترفيرون، وخلايا أخرى دفاعية غير متخصصة مثل Polymorph Nuclear Cell(PMN) وفي الدواجن(Heterophile)، والخلايا البلعمية،والخلايا القاتلة الطبيعية (Natural Killer cells)، والتي بدورها تشكل الخط الدفاعي الاول ضد الغزو الجرثومي، والقضاء على السالمونيلا، والتي تحول دون الإصابة بها (Brooks *et al*., 2001).

في حالة فشل الاستجابة المناعية غير المتخصصة في حماية الجسم من الاصابات المختلفة ولا سيما عند زياده ضراوة العامل الممرض، سوف يقوم الجسم بالدفاع بالاستعانة بالاستجابة المناعية المتخصصة وهذه الاستجابة تُقسم على قسمين:

2.9.1.المناعة الخلطية Humeral Immunity :

تقوم هذه المناعة بأنتاج الاجسام المضادة المتخصصة للعامل الممرض وتنتج الاجسام المضادة(Antibodies) من قبل نوع متخصص من الخلايا اللمفية تدعى الخلايا اللمفية (B-Lymphocyte)، والتي بدورها توفر الوظيفة الفعالة والمؤثرة للمناعة الخلطية.

تقوم الاجسام المضادة بدورها في حماية المضيف من الاصابات، وذلك بالارتباط على سطح العامل المسبب، لكي تمنع الاتصال والغزو لخلايا المضيف، وفي حالات الاصابة بالسالمونيلا فأن الاجسام المضادة تكون متخصصة للتراكيب الموجودة على الجدار الخلوي للسالمونيلا، والتي تمنع التصاق السالمونيلا على خلايا المضيف. كما تعزز من عملية ابتلاعها وقتل المسبب المرضي بوساطة الخلايا البلعمية، أو قد تؤدي إلى تحلله، وتتم هذه العملية بوجود المتمم، إذ تؤدي المناعة الخلطية دوراً كبيراً في الحماية بوساطة الاجسام المضادة المتخصصة عندما تكون الاصابة خارج الخلية (Extracellular phase) (Holt,2000).

إن المستضدات (Antigenes) تحفز على انتاج أستجابة مناعية متخصصة بوساطة الكلوبيولينات المناعية Immunoglobulin إما بشكل مبكر، أو استجابة مناعية متأخرة وهذا يعتمد على كيفية اختراق العامل المرضي لانسجة الجسم. هناك عوامل عدة تؤثر في الاستجابة المناعية الخلطية ومنها: جرعة المستضد ، فوعته، طريقة دخوله، الخلفية الوراثية للمضيف وعمر المضيف. ومن الجدير بالذكر ان هذه الكلوبيولينات المناعية يمكن أن تنتقل عمودياً في الثديات عن طريق اللبأ، وعن طريق البيض في الطيور والدواجن

.(Chart *et al*., 1992; Gray *et al*., 1996;Withanage *et al*.,1999)

2.9.2. المناعة الخلوية Cellular Immunity:

تعمل المناعة الخلوية بوساطة نوعاً خاصاً من الخلايا اللمفية والتي تدعى (T-Lymphocyte، وهذه الخلايا تؤدي دوراً هاماً في الدفاع عن الجسم ضد العامل الممرض اذ تقوم بوظيفتها الدفاعية إما بتأثير مباشر، والتي تدعى(Cytolytic T-lymphocyte)، أو من خلال عمل تنظيمي للأستجابة المناعية كخلايا T المساعدة (T h)T-helper أو خلايا T المثبطة T-supressor (T s). وهناك تصنيف اخر للخلايا اللمفية نوع(T-Lymphocyte) حسب طبيعة عملها الى كل منTh,Ts,Tctl ((T cytotoxic lymphocyte . وكل نوع من هذه الخلايا تمتلك محددات ومؤشرات سطحية تختلف عن النوع الآخر، والتي تسهل عملية التعرف عليها وتحديدها من قبل المضيف، لذلك يمكننا القول بأن للمناعة غير المتخصصة علاقة مع أنواع الاستجابة المناعية المتخصصة والتي تتولد ضد العامل المسبب المرضي لمرض معين مثل الإصابة بالسالمونيلا (Hirsh and Zee,2004).

تختلف نتائج الإصابة بـجراثيم *S. enterica* وفقًا للنوع المصلي وعليه فان الاصابة بجراثيم *S. Typhimurium* و *S. Enteritidis* تؤدي الى عدوى طويلة الأمد في القناة الهضمية (مع عدوى جهازية ضعيفة) للأفراخ بأعمار اكثر من 3 يوم. اما مع صغار الحمام اي بعمر 1 –2 يوم فتُسبب *Typhimurium* و*Enteritidis S* بهلاكات عالية مع تكاثر أعداد كبيرة من البكتيريا في الأعضاء الداخلية (Henderson *et al*.,1999).

في صغار الحمام التي يزيد عُمرها عن بضعة أيام تستعمر *S. Typhimurium* و *Enteritidis* في الجهاز الهضمي (في الغالب اللفائفي والأعورين) لعدة أسابيع ، مع اعداد قليلة من البكتيريا التي تغزو الظهارة والدخول إلى مواقع جهازية مثل الطحال والكبد (Barrow and Methner, 1987).

الافراخ المصابة بسالمونيلا بالأنواع المصلية المعوية تكون الأستجابة المناعية كبيرة تتجلى في ارتفاع مستويات الأجسام المضادة (IgM و IgY وIgA) مع استجابة قوية للخلايا التائية (Beal *et al*., 2005).

وعليه فان التخلص من جراثيم السالمونيلا بالأعمار من 6 أسابيع فما فوق يرتبط بـذروة استجابة الاضداد والخلايا التائية على الرغم من ان دور الخلايا التائية والأجسام المضادة في الحماية ضد التهابات السالمونيلا المعوية أقل وضوحاً(Desmidt *et al* . , 1998).

اثبتت العديد من الدراسات ان المناعة الخلوية وليست الخلطية هي المسؤولة عن منع الإصابة وذلك لعدم وجود ارتباط وثيق بين مستوى اضداد السالمونيلا والوقاية منها (Eiscnstein and Sultzer,1983).

تشمل الاستجابات الخلوية الناتجة عن العدوى فرط الحساسية المتأخرة من نوع مستضد محدد(Antigen-specific delayed-type hypersensitivity)كما وتحصل تغييرات في توزيع خلايا T والخلايا التائية، وتكاثر للخلايا التائية الخاصة بالمستضد (Antigen-specific T cell proliferation)وتبديل الخلايا المعتمدة على T (T- dependent class) الى الخلايا التائية (Beal *et al*., 2004).

2.10. طرق تشخيص السالمونيلا في الطيور (الحمام):

أن من أهم الطرق المتبعة في تشخيص السالمونيلا هي:

2.10.1. التشخيص الزرعي:

أن عملية الزرع الجرثومي للسالمونيلا تتضمن الخطوات الآتية:

أ- أوساط ماقبل الاغناء Pre Enrichment Media

وهي أوساط مغذية خالية من اي تأثير تثبيطي لنمو الجراثيم مثل مرق اللاكتوز Lactose Broth، وماء البيبتون المنظم Buffer Pepton Water، وتعمل هذة الاوساط على تنشيط وانعاش السالمونيلا قبل التعرض للوسط الانتقائي وهي كذلك تستخدم كأوساط ناقلة.

ب- أوساط الاغناء الانتقائية السائلة Selective Enrichment Broth

تعمل هذه الاوساط بفضل التركيب الكيميائي لها على تثبيط او قتل جراثيم النبيت الطبيعي للقناة المعوية Normal Intestinal Microflora التي تسمح للسالمونيلا بالنمو والتكاثر وتعزز من فرص عزلها كوسطي Tetrathionate Broth ,Selenit F-broth (Talaska, 2004).

1- مرق رباعي الثايونيت:Tetrathionate broth

يُعد هذا الوسط انتقائياً وانتخابياً لنمو السالمونيلا، إذ يتم اغناء جراثيم السالمونيلا ويستخدم في بعض الأحيان لعزل جراثيم Shigella، ويذكر بأن هذا الوسط حضُر في عام 1923م من قبل العالم Mueller وهو يحتوي على Sodium thiosulfate، بعدها بفترة طور هذا الباحث الوسط، وذلك باضافة املاح الصفراء(Ox bile) وكذلك الأخضر اللماع Brilliant Green التي تضاف بنسبة(0.01%) ليعمل على تثبيط نمو جراثيم البروتياس Proteus. ومن مكوناته الأخرى المهمة، مستخلص الخميرة Yeast extract، وسكر الدكستروز dextrose والمانتول لغرض تشجيع نمو الجرثومة. وفي بعض المختبرات التشخيصية يستخدم محلول اليود وذلك باضافته إلى مرق رباعي الثايونيت قبل الزرع الجرثومي، علماً ان درجة الحرارة المناسبة لعزل السالمونيلا بأستخدام مرق رباعي الثايونيت هي (42م^{o})، وهي تزيد من فرص عزلها وخصوصاً *S. Dublin* (Talaska, 2004).

2- مرق السيلينايت Selenite F broth:

العديد من جراثيم السالمونيلا تنمو على هذا الوسط، كذلك يعمل على تثبيط نمو جراثيم أخرى مثل Shigella، تشير معظم الدراسات الى ان درجة الحرارة المناسبة تتراوح مابين(35-37م^{o})، وذلك للحد من نمو الكائنات المجهرية المنافسة (Talaska,2004).

3- استخدام الاوساط الانتقائية الصلبة Solid Selective Media :

من الممكن التعرف على مستعمرات جراثيم السالمونيلا من خلال المظهر وشكل المستعمرة.

يمتاز الوسط الانتقائي الجيد بالعديد من الخصائص منها ان يكون:

1. مناسب لنمو مدى واسع من السلالات التي تحمل خصائص معينة.

2. يمنع نمو أنواع أخرى من الجراثيم (Fricker, 1987).

عند استخدام الوسط Xylose Lysine Deoxycholate Agar(XLD) فأن مستعمرات السالمونيلا تظهر بلون بني ذات مركز اسود، أما على وسط Bismuth Sulphate Agar فأنها تبدو سوداء محاطة بهالة من اللمعان، كما يلاحظ البريق المعدني Metalic sheen وسببه انتشار الـ Sulphide، في حين أن المستعمرات المزروعة على وسط الاخضر اللماع Brilliant Green Agar (B. G. A) فأنها تكون ذات لون شفاف مع وجود هالة شفافة وسبب ذلك عدم قدرة الجرثومة على تخمير الاكتوز والسكروز (Frazier and Westhoff, 1978).

يُعد وسط Salmonella Shigella Agar(SSA) من أهم الاوساط في عزل السالمونيلا من العينات ومن المحيط حيثُ إن هذا الوسط يثبط نمو *E. Coli* (الاشريكيا القولونية) والجراثيم الموجبة لصبغة الكرام، وذلك عن طريق وجود املاح الصفراء مع الاخضر اللماع في الوسط.

إن وجود مادة سترات الصوديوم (Sodium citrate) في الوسط يثبط نمو الجراثيم الموجبة لصبغة الكرام، كما تنتج جراثيم السالمونيلا مستعمرات سوداء بسبب انتاجها لكبريتيد الهايدروجين H_2S (Youxian,2005).

2.10.2. الفحص المجهري:

إن اولى الخطوات اللازمة لتشخيص جراثيم السالمونيلا هي الطريقة المجهرية، وذلك من خلال ماتمتاز به هذه الجراثيم من صفات كونها عصوية غير مكونة للابواغ منفردة او ازدواجية، وسالبة لصبغة الكرام، فضلاً عن كونها متحركة بإسواط محيطية بإستثناء نوعي *S. Pullorum, S. Gallinarum* التي تصيب الدواجن (Gene, 2000) . إن استخدام صبغة الكرام تعد من أهم الطرق المجهرية المستخدمة، تأخذ السالمونيلا الشكل الأحمر أو الوردي عند اصطباغها بهذه الصبغة، علماً انها تشترك مع العديد من الجراثيم الهوائية المعوية لذا تعد هذه الطريقة اختباراً اولياً، مكملا للإختبارات التشخيصية الأخرى (Koneman *et al*.,1997).

2.10.3. الطرق الكيموحيوية:

تعتمد هذه الطريقة على حدوث تفاعل كيميائي مثل التخمر، الأكسدة، الاختزال، او أنتاج انزيم معين يتفاعل مع مكونات الوسط الزرعي ويعطي نتيجة التفاعل تغيرات لونية في الوسط (Atlas,1988;Koneman *et al*.,1997)

2.10.4. الطرق المناعية

1_أختبار الادمصاص(الامتزاز)المرتبط بالانزيم (الاليزا) (Enzyme Linked (ELISA) ImmunoSorbent Assay:

يُعد أختبار الادمصاص(الامتزاز) المرتبط بالانزيم (الاليزا)أحد الاختبارات المستخدمة في تشخيص الاصابة بجراثيم السالمونيلا، وهو من الاختبارات المناعية السريعة والحساسة لقياس معيار الاجسام المضادة في أمصال المصابين بهذه الجرثومة.

يشمل اختبار الاليزا عادة التحري عن مستوى الكلوبيولين المناعي(IgG)، إن اختبار IgG-ELISA يعتبر حاليا من اكثر الاختبارات الدقيقة المستعملة للكشف عن الاجسام المضادة لجرثومة السالمونيلا، إذ يلتصق المستضد على السطح الداخلي لحفر طبق البولستيرين والمرتبة بشكل صفائح لقياس المعيارية Microtitre، وعند اضافة المصل المراد اختبارهُ الى الحفر، ترتبط الاضداد الموجودة فيه مع المستضد الملتصق بالحفر ويحدث التفاعل المناعي، حيث يتم الكشف عن الاضداد المرتبطة بالمستضد بإضافة اضداد مضاده للجسم المضاد anti-antibodies والمعلم بالانزيم، ثم يجري القياس الكمي للانزيم بإضافه المادة الاساس ليعطي تفاعله معها اللون الذي يمكن قياس شدته والذي يتناسب مع كمية الاضداد المرتبطة، وفي عام 1980م تم استخدام تقنية الاليزا للتحري عن الكلوبيولين المناعي نوع IgM لتشخيص الاصابات بالسالمونيلا. (willias *et al*.,1988; koneman *et al*., 1997).

تُعد تقنية الاليزا من الفحوصات المصلية المهمة في الكشف عن الإصابة بجراثيم السالمونيلا فهي سريعة وحساسة جداً، كما يمكن اجرائها مع اعداد كبيرة من العينات وعند مقارنتها مع بقية الاختبارات، فأنها تتسم بكونها أكثر حساسية وأكثر تخصصية (Kim *et al*.,1991). كما أن اختبار الأليزا يستطيع التغلب على العديد من المشاكل المرتبطة ذات العلاقة بالاختبارات الجرثومية والمصلية التقليدية، وذلك بسبب المعيار العالي للكلوبيولين المناعي (IgG) الذي يبقى لعدة اشهر بعد الاصابة، وهذا يمكن من خلاله الكشف عن الاصابة بجراثيم السالمونيلا (Nicholas and Cullen, 1991).

2_التفاعل المتسلسل لأنزيم بلمرة الدنا Polymerase Chain Reaction (PCR):

نتيجة للتطور الذي شهدهُ علم الاحياء الجزيئي خلال السنين الاخيرة، فقد تم التوصل الى العديد من التقنيات الحديثة في مجال تشخيص الاحياء المجهرية، حيثُ تهدف هذه التقنيات الى التعرف وتحديد النمط المصلي وتوفير معلومات اضافية عن الأساس الجيني للفوعة، وتطور المقاومة للمضادات الحيوية والتي لم يتم التوصل اليها لحد الان بأستخدام الطرق التشخيص الروتينية، ومن أهم هذه التطبيقات استخدام مجسمات الاحماض النووية Nucliec

Acid Probes في مجال تشخيص الجراثيم النامية على الأوساط الزرعية أو الموجودة ضمن العينات المرضية المختلفة. أُستخدمت هذه التقنية في مجالات تشخيصية عدة منها مرض الحمى التايفوئيدية في الانسان (Batchelor *et al*.,2008; wattiau *et al*., 2008).

اما في الجانب البيطري فهنالك العديد من البحوث حول استخدام هذه التقنية في تشخيص جراثيم السالمونيلا، حيثُ اشار الباحث (Eid,2010) إلى إمكانية الكشف عن الانماط المصلية لجراثيم السالمونيلا من عينات البراز في جميع انواع الحيوانات باستخدام تقنية PCR وهي أكثر سرعة ودقة من طريقة الزرع التقليدية، وان حساسيتها تصل الى 100%.

2.11. وبائية السالمونيلا (Epidemiology of salmonellosis):

تتوزع انماط السالمونيلا جغرافياً في مناطق مختلفة من العالم وبين الحيوانات حيثُ هناكَ انماط مخصصة لبعض المضائف وبعضها مخصص لنوع واحد والبعض الاخر تكون مشتركه لعدة مضائف.

ويلخص الجدول رقم (1) التوزيع البيئي لجراثيم السالمونيلا (Baron, 1996).

الجدول رقم (1) : التوزيع البيئي لجراثيم السالمونيلا *Salmonella spp*.

النوع	النوع المصلي	المضيف
S.Choleraesuis	**نوع واحد**	**الحيوانات (الخنازير)**
S. Typhi	**نوع واحد**	**الانسان**
S. Enteritids	***Paratyphi-A***	**الانسان**
	Schottmuellen	**لانسان**
	Pullorum	**الحيوانات (الطيور)**
	Dublin	**الحيوانات (الابقار)**
	Typhimurium	**الحيوانات (الابقار)**
	Derby	**الحيوانات (الابقار)**
	Enteritidis	**الانسان والعديد من الحيوانات**
	Heidelberg and hundred related serovars.	**الانسان والعديد من الحيوانات**

هناك العديد من العوامل التي تؤثر على وبائية السالمونيلا وانتشارها بين الطيور ومنها الطيور نفسها من خلال شراء طيور جديدة وادخالها إلى أبراج التربية وكذلك وجود طيور برية مع الطيور المرباة في الابراج حيث تُعد من مصادر نقل العدوى. وتُعد الاعلاف المقدمة للطيور والحاوية على البروتين المصدر الرئيسي للتلوث. وكذلك وجود القوارض في مساكن وابراج التربية يساعد في انتشار وأستدامة الاصابة. ويبقى المربي أحد المصادر الاساسية في نقل العدوى.

أن الطيور ذات الاعمار الصغيرة تكون عرضة للاصابة بالسالمونيلا بسبب ضعف مناعتها، فالطيورالصغيرة تطرح أعداداً أكبر من الجراثيم مقارنة مع الطيور البالغة، ويزيد من ذلك درجة حرارة المحيط حيث يؤدي الاجهاد وزياده درجات الحرارة الى زيادة الطرح الجرثومي، كما أن تغذية الطيور تؤثر على الجهاز المناعي للطائر، ان زيادة الازدحام والكثافة العددية في عدد الطيور الموجودة في المساكن المخصصة للتربية تسبب زيادة الاجهاد للجهاز المناعي مترافقة مع زيادة في انتقال العدوى بين الطيور
.(Barrow and Methner,2013)

2.12. مقاومة جراثيم السالمونيلا للمضادات الحيوية:

على الرغم من أنه لا يزال هناك جدلاً فيما يتعلق بالتأثير الدقيق للعلاج بالمضادات الحيوية على الحيوانات ، فقد كان من الواضح أن للمضادات الحيوية لها تأثير مفيد والتي أدت إلى استخدام المضادات الحيوية لتعزيز النمو بدلاً من استخدامها فقط للعلاج .

لم يتم إصدار اللوائح الأوروبية الأولى المتعلقة باستخدام المضادات الحيوية في الحيوانات فيما يتعلق بالمضادات الحيوية المستخدمة في البشر إلا في أوائل السبعينيات. تم تطوير هذه اللوائح بعد توصيات تقرير (Swann,1969)، في هذا التقريرالذي كتبته اللجنة المشتركة حول استخدام المضادات الحيوية في تربية الحيوان والطب البيطري ، ذكر أن الاستخدام العلاجي للمضادات الحيوية في الإنتاج الحيواني الغذائي يمكن أن يؤدي إلى سلالات مقاومة للمضادات الحيوية ومن ثم يشكل خطراً على صحة الإنسان والحيوان، وفقًا لمنظمة الصحة العالمية: "تُعرَّف مقاومة مضادات الميكروبات Antimicrobial Resistance (AMR) على أنها مقاومة كائن حي دقيق للأدوية المضادة للميكروبات التي كانت حساسة لها من قبل، بحيث تصبح العلاجات القياسية غير فعالة وتستمر العدوى وقد تنتشر إلى الآخرين نتيجة استخدام الأدوية المضادة للميكروبات ، ولا سيما إساءة استخدامها ، ويتطور عندما يتحور كائن حي دقيق أو يكتسب جيناً مقاوماً ".

في أواخر السبعينيات نُشرت بالفعل منشورات عن انتقال البكتيريا المقاومة من الحيوانات إلى الانسان عن طريق الاتصال المباشر إذ أدى اكتشاف المكورات المعوية المقاومة للفانكومايسين Vancomycin Resistance Enterobacteriacea(VRE) إلى جعل الجميع يدركون أن استخدام المضادات الحيوية وتطوير المقاومة في السلالات الحيوانية لا يمكن أن يكون بدون عواقب وخيمة على صحة الإنسان " (Bates *et al*., 1993).

تُقسم المضادات الحيوية الى مجموعتين، مضادات ذات تأثير واسع المدى Broad-spectrum antibiotics وذلك عندما يكون المضاد الحيوي ذا تأثير على الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة غرام، والمضادات ذات التأثير المحدود narrow-spectrum antibiotics والتي تكون ذات تأثير على نوع واحد أو مجموعة من الجراثيم (Alexander and Strete,2001).

ان الاستعمال المتزايد للمضادات الحيوية في كلا القطاعين البيطري والبشري لة دور كبير في تطور مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية، إذ لوحظ عزل عدة انماط مصلية لجراثيم السالمونيلا مقاومة للمضادات الحيوية وهذا لهُ تأثير واضح على الصحة العامة(Angulo *et al*.,1999; Duffy et al., 1999).

هناك العديد من العوامل تؤثر على مقاومة الجراثيم للمضادات الحيوية، ومن هذه العوامل، التغير الحاصل في جدار الخلية والتحورات في موقع فعالية المضادات الحيوية اوعن طريق إنتاج الانزيمات التي تعمل على تحطيم المضادات الحيوية وقد تنتقل المقاومة خلال البلازميدات R-factor plasmid، او تستقر من خلال الكروموسوم

(Duffy *et al*., 1999; Alexander and Strete, 2001; Chen *et al*., 2004; Soback, 2005).

في العقود الأخيرة ، ارتفع معدل المقاومة الإجمالية للمضادات الحيوية بين السالمونيلا من 20%_30 في التسعينيات إلى 70% في أوائل القرن الحادي والعشرين Katiyo *et al*., (2019)، اذ ان إساءة استخدام المضادات الحيوية واستخدامها بشكل غير ملائم في انتشار مقاومة الأدوية المتعددة (MDR) بين مجموعات مسببات الأمراض

(Zhang *et al*., 2018; Shen *et al*., 2020).

2.13. مقاومة المضادات الحيوية من نوع البيتا_لاكتام:

تستخدم المضادات الحيوية بيتا لاكتام على نطاق واسع في الطب البشري والحيواني. يتم استخدامها لعلاج التهابات البكتيريا إيجابية الجرام وسالبة الجرام. تمت تسمية المضادات

الحيوية بيتا لاكتام لوجود حلقة بيتا لاكتام في تركيبها والتي تشكل المركز والجزء النشط من دواء . يُمكن تقسيم هذه الفئة الكبيرة من المضادات الحيوية إلى مجموعات مختلفة بناءً على طريقة عملها: البنسلين ، السيفالوسبورين (جيل 1 ، 2 ، 3 ، 4) ، الكاربابينيمات ، البينيم ، المونوباكتام ومثبطات بيتا لاكتاميز مثل حمض الكلافولانيك. هذه المجموعة الأخيرة ليس لها نشاط مضاد للبكتيريا من تلقاء نفسها ولكنها تمنع نشاط إنزيمات بيتا لاكتام (بيتا لاكتاميزات) وغالبًا ما يتم إعطاؤها بالاشتراك مع مضادات حيوية أخرى من بيتا لاكتام. تستخدم السيفالوسبورينات ممتدة الطيف على نطاق واسع في العلاج السريري بسبب آثارها العلاجية الممتازة.

تُعد أعضاء عائلة بكتيريا الـ Enterobacteriaceae ، ولاسيما *Escherichia coli* و Klebsiella و Salmonella ، مقاومة للجيل الثالث والرابع من السيفالوسبورينات ، والتي تُنسب غالباً إلى إنتاج إنزيم بيتا لاكتاميز ممتدة الطيف (ESBLs) (Monogue *et al*., 2017; Peirano *et al*., 2019).

بشكل عام فإن أول المضادات الحيوية التي تم اكتشافها من نوع بيتا لاكتام (البنسلين والجيل الأول من السيفالوسبورينات) تكون أكثر نشاطًا ضد جراثيم ايجابية الجرام منها ضد جراثيم سلبية الجرام ، الأجيال اللاحقة من هذه الأدوية لها نشاط أوسع ضد سلبيات الجرام (الجيل الثاني من السيفالوسبورينات) بينما طور الجيل الثالث ليكون لهُ تأثير ضد البكتيريا سالبة الجرام وإيجابية الجرام (الجيل الثالث من السيفالوسبورينات أو السيفالوسبورينات الممتدة الطيف (ESC)، ومنذُ ذلك الحين تم الإبلاغ عن سلالات منتجة لـ ESBL من السالمونيلا في العديد من المناطق (Chen *et al*.,2009; Sun *et al*., 2019).

الأسوأ من ذلك أن النمط المصلي *S. Enteritidis* المنتج لـ (ESBL-SE)، قد تم اكتشافها من المرضى البشر ، والحيوانات والتي من ضمنها الطيور مما يحد بشكل كبير من الآثار العلاجية للمضادات الحيوية ويزيد من معدلات الاعتلال والوفيات (Usha *et al*., 2008; Brown *et al*., 2018)، لوحظَ تطورسريع في مقاومة السيفالوسبورينات الممتدة الطيف (ESC) لعائلة الـ Enterobacteriaceae في جميع أنحاء العالم في هذه الكائنات الحية وتعتمد مقاومة هذه المجموعة من المضادات الحيوية في الغالب على أمكانية جراثيم هذه العائلة (Enterobacteriaceae) على إنتاج الإنزيمات بوساطة البلازميد التي تعطل هذه المركبات عن طريق التحلل المائي لحلقة البيتالاكتام الخاصة بها.

تم اكتشاف أول Beta – lactamase نوع *ampC* عام 1940 وشملت اكثر انواع هذه الانزيمات تردداً في البكتريا هي Extended - Spectrum beta - lactamases

(ESBL) و *ampC* beta - lactamases- type ويُعد كلاهما من الأسباب المهمة لفشل العلاج عندما يتم إنتاجهما بواسطة مسببات الأمراض، كثيرًا ما توجد البكتيريا المنتجة لـ ESBL وكذلك البكتيريا المنتجة لـ *ampC* في القناة الهضمية المعوية للحيوانات والتي تم عزلها من الخنازير والماشية والديك الرومي والقطط والكلاب والدواجن والحيوانات البرية والخيول.

يُنظر إلى الجهاز الهضمي للحيوانات على أنه خزان مهم للبكتيريا التي تنتج البيتالاكتاميز ومصدراً محتملاً لمسببات الأمراض البشرية لقدرتها العالية على اكتساب جينات المقاومة بين انواع البكتريا المعوية، تقع جينات ESBL و *ampC* على البلازميدات التي تمكنها من الانتشار بسرعة كبيرة ، لذلك فإن توصيف البلازميد هو أداة أساسية لفهم وبائيات هذه الجينات.(Carattoli *et al*., 2005).

وفي دراسة أُجريت في الصين في مدينة شنغهاي بينت ان الاستهلاك المفرط للمضادات الحيوية ممتدة الطيف قد عزز انتشار ESBL-SE (Yang *et al*., 2014) ، وفي الدراسة ذاتها وجد أن سلالات السالمونيلا أظهرت تبايناً كبيراً في معدل مقاومة المضادات الحيوية من 2006 إلى 2014، تتوافق هذه النتيجة مع تقرير سابق في نفس المنطقة (شنغهاي ، الصين) ، إذ أظهرت عزلات *S. Enteritidis* تكراراً متزايداً لمقاومة السيفالوسبورينات من 2006 إلى 2012 (Zhang *et al*., 2015) وهذا واضح بشكل خاص بالنظر إلى أن جميع العزلات التي تم أختبارها تقريباً في هذه الدراسة كانت مقاومة للسيفوتاكسيم وهو من الجيل الثالث من السيفالوسبورين

وفقاً لتقرير لجنة الصحة الوطنية لجمهورية الصين الشعبية ، حيثُ يستخدم الجيل الثالث من السيفالوسبورينات على نطاق واسع في المجال البشري ، مع وجود سيفتازيديم وسيفترياكسون وسيفمينوكسيم في المراكز الثلاثة الأولى في عام 2018 ، حيثُ أنَ من الممكن أن يكون الانتشار المرتفع لمقاومة السيفوتاكسيم ناتجاً عن الإفراط في استخدام السيفالوسبورينات.

وجد أن معدل انتشار عزلات ESBL / *ampC* في لحم الفروج الطازج منخفض (3%) في اللحوم الدنماركية ، ومرتفع نسبياً 44% في ألمانيا ،واكثر (50_35%) في تونس وفي الدراسة ذاتها تبين أن من 292 عزلة *S. Enteritidis* التي تم اختبارها أنتجت 79.8% ESBLs ، في حين أظهر 96.1% من عزلات ESBL-SE مقاومة لأكثر من 3 مضادات حيوية.

ووجدَ معدل اكتشاف ESBL-SE سريريا في شنغهاي أعلى من 60.9% في المرضى والأطعمة في نفس المنطقة (Qiao *et al*., 2017) ، كما أشارت البيانات في هذه الدراسة إلى أنهُ لم يكن هناك فقط زيادة مقلقة في معدل الكشف عن سلالات ESBL-SE بمرور الوقت ، ولكن كانت هناك أيضاً مقاومة كبيرة للمضادات الحيوية المتعددة بين ESBL-SE.

وفي دراسة أخرى حديثة عن السالمونيلا المنتجة للـ ESBL من اللحوم الكمبودية بالتجزئة إلى وجود MDR (Multi Drug Resistance) للأمبيسيلين والسيفوتاكسيم والسيفيبيم والكلورامفينيكول وحمض الناليديكسيك (Wang *et al*., 2020)، وفقًا لذلك يمكن اعتبار السالمونيلا المنتجة للـ ESBL مؤشراً لمراقبة السالمونيلا في العلاج السريري لمرض السالمونيلا.

2.14.عوامل الخطورة لجراثيم السالمونيلا:

1 _السموم:

هناك فئتان من السموم التي تفرزها جراثيم السالمونيلا تلعب دورًا في امراضيتها أحدهما السم الداخلي الذي يرتبط بجزء الدهن ا من عديدات السكريات الدهنية لجدار خلية السالمونيلا (LPS). إذا تم تحلل جراثيم السالمونيلا وإطلاقهُ في مجرى الدم لحيوان مصاب يمكن أن يؤدي الى الحمى. وعليه فان اعطاء *S. Enteritidis* endotoxin عن طريق الوريد فأنهُ يتسبب في حدوث آفات في الكبد والطحال لأفراخ الحمام بعمر أسبوعين (Turnbull and Snoeyenbos, 1974).

كما ويساهم LPS أيضًا في مقاومة جدار خلايا السالمونيلا الهجوم والهضم من قبل بلعميات المضيف. يؤدي فقدان القدرة على تخليق LPS الكامل إلى إضعاف قدرة *S. Typhimurium* على استعمارالاعورين ceca وغزو الطحال في افراخ الحمام (Craven,1994).

تم تحديد العديد من السموم البروتينية في جراثيم السالمونيلا. فالفئه الثانية من سموم السالمونيلا هو السم المعوي Enterotoxin وأن نشاط السم المعوي يستحث الاستجابة الإفرازية للخلايا الظهارية التي ينتج عنها تراكم السوائل في تجويف الأمعاء، يُسبب السم الخلوي ضررًا بنيويًا في الخلايا الظهارية المعوية عن طريق تثبيط تكوين البروتين (Koupal and Deibel, 1975).

2_الالتصاق والغزو Adherence and Invasion:

يعتبر الالتصاق بالخلايا الظهارية المعوية هو خطوة المحور الأول في تسلسل احداث مرض السالمونيلية. فالاستعمار غير الكفؤ للأمعاء الفراخ من قبل بعض سلالات السالمونيلا

يرتبط مع ضعف فوعة هذه السلالات. فالاختلافات بين الانواع المصلية المختلفة لجراثيم السالمونيلا لاستعمارهم اعوري الافراخ والتصاق جراثيم السالمونيلا للأعورين و يعزى إلى التنظيم التفاضلي لحركة الاعورين واحتواء هذه الانواع المصلية لعامل فوعة الالتصاق (Cheng *et al*., 2015). كلا الاسواط والخمل flagella and fimbria يعملان على أنهما وسطاء للالتصاق بالخلايا الضهارية المعوية حيثُ ان جراثيم الـ *S. Enteritidis* الطافرة Mutants التي تفتقر إلى الأسواط تظهرانخفاضًا للالتصاق بالخلايا المعوية للطيور المستنبتة cultured avian intestinal cells والمنافسة للسلالات غير الطافرة في القابلية لاستعمار الأعورين في الافراخ (صغار الحمام) (DibbFuller and Woodward, 2000) ،فسلالات *S. Enteritidis* التي تفتقر إلى fimbria تُعزل بنسب اقل من السلالات المخملة fimbriated strains من الأعورين في صغار الحمام ، تلعب الـ LPS لجراثيم السالمونيلا أيضًا دورًا في الالتصاق على جدران البطانة المعوية للأفراخ ، تتطلب فوعة السالمونيلا أيضًا غزوًا لجدار الامعاء المخاطي بعد الالتصاق به.

أن الالتصاق والغزوAdherence and invasion هي أنشطة منظمة بشكل منفصل في التعبير عن جينات الفوعة المسؤولة عن غزو جراثيم السالمونيلا والواقعة في جزيرة الامراضية الجينية (Desin *et al*., 2009).

3_ آليات اقتناء الحديد Iron Acquisition Mechanisms :

إن قدرة الجراثيم المعوية والمرضية منها على وجه الخصوص للحصول على الحديد قد سُجلت بسبب آليات اكتساب الحديد المختلفة مثل نظام الحديد iron system والتي تتواجد في واحد أو أكثر في البلازميدات الكبيرة(*et al*., 2006; Caza and Dozois., 2011 Johnson).

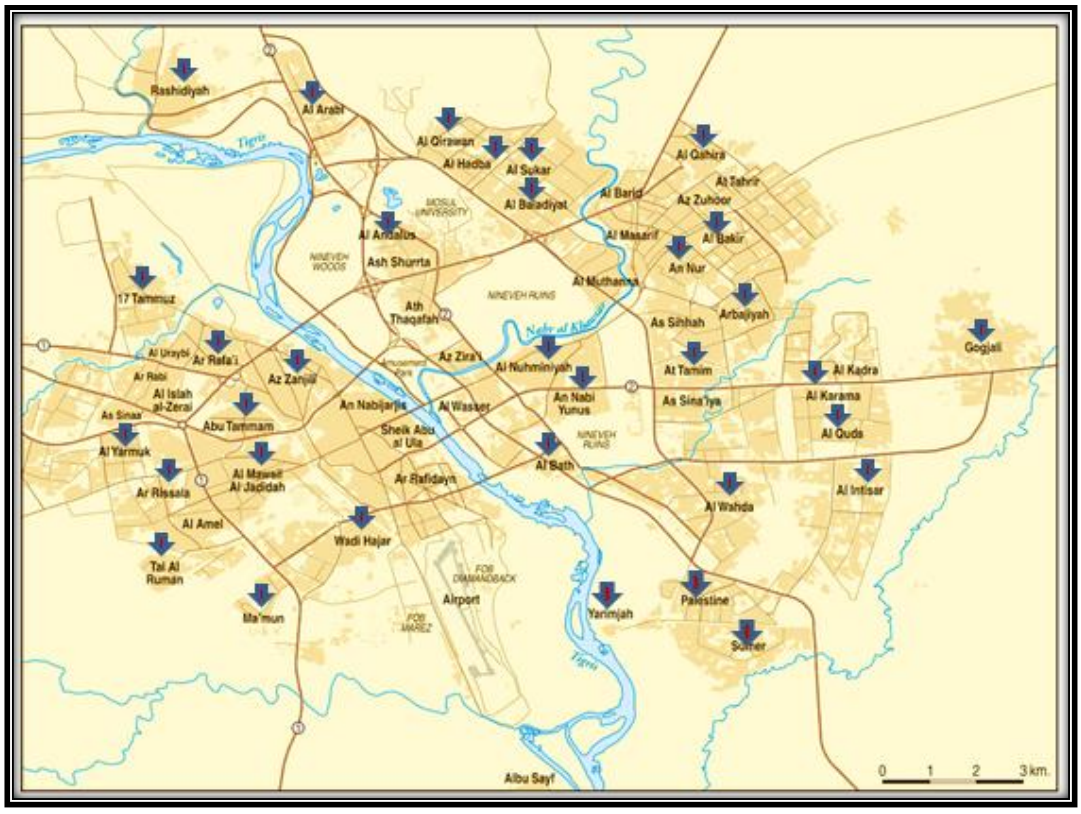
الفصل الثالث

المواد وطرائق العمل

Materials and Methods

3.1. المسحات:

تم جمع العينات من مناطق عديدة ومختلفة من محافظة نينوى خلال الفترة من شهر تشرين الثاني 2021 لغاية اذار 2022، كما موضحة في الشكل رقم(1) والجدول رقم(2)



الشكل رقم (1): مناطق جمع العينات من محافظة نينوى

الجدول رقم (2) المناطق التي تم جمع العينات منها في محافظة نينوى.

محافظة نينوى			
قضاء الموصل		سهل نينوى	قضاء النمرود
الايسر	الايمن	جليوخان	الشمسيات
الشيماء+الانتصار	المأمون	الك	تل عاكوب
سومر+فلسطين	المنصور	علي رش	السلامية
يارمجة	الزنجلي	كوكجلي	العباسية
الكرامة	الصمود	برطلة	الخضر+البسطلية
القدس+الميثاق	باب جديد	الحمدانية	ابراهيم الخليل
حي الوحده	موصل الجديدة	الدوانم	الشنف
الرشيدية	وادي حجر	بازوايا	يرغنتي

أُجريت الاختبارات في مختبر الصحة العامة البيطرية/ كلية الطب البيطري / جامعة الموصل، تم جمع 550 عينة مختلفة من الحمام الذي يعاني من بعض العلامات السريرية التي تدل على اصابتهُ المحتمله بالسالمونيلا كالعرج وتورم المفاصل والاسهال الابيض والهزال وفقدان الشهية ومن كلا الجنسين وباعمار مختلفة، توزعت عينات المجموعة على 400 عينة لكل من الاعضاء الداخلية للحمام البالغ (205عينة) و الحمام غير البالغ (195عينة) وشملت 100عينة كبد(50بالغ/ 50غيربالغ)، 100 عينة أمعاء(50بالغ/ 50 غيربالغ)، 75 عينة لفتحة المجمع (40 بالغ / 35 غيربالغ)، 75 عينة قلب (40 بالغ / 35 غيربالغ)، ، 40 عينة طحال(20 بالغ/ 20 غيربالغ)، 10 عينات بنكرياس (5 بالغ/ 5 غيربالغ)، فضلاً عن جمعَ 150عينة لمحيط تربية الحمام والتي شملت : (50)عينة من المعالف، (50)عينة من فرشة ، (45)عينة من المناهل (مياه الشرب) فضلاً عن(5)عينات من أيادي المربين، تم أُخذ العينات بأستخدام المساحة القطنية المعقمة ووضعت في وسط ماء البيبتون (BPW) كوسط ناقل في مرحلة ماقبل الأغناء وبكمية 10مل لكل مسحة لحين الوصول الى مختبر الصحة العامة، بعدها حُضنت المسحات في درجة حرارة 37مْ هوائياً ولمدة 24 ساعة، ثم تم نقل 1 مل من وسط ماء البيتون الى انابيب حاوية على 10مل من مرق السيلينايت الانتخابي وحُضنت العينات بدرجة

حرارة 37مْ هوائياً ولمدة 24 ساعة. كما تم اخذ 1 مل من غسول عينات ايدي المربين بالمحلول الدارئ الملحي وتم معاملتهُ كيفية العينات اعلاه.

3.2. عينات الدم:

جُمعت 96 عينة دم من وريد الجناح Wing vein بمقدار (1__2) مل ووضعت في انبوب حاو على جل فصل المصل (Gel Tube) ، أدخلت الانابيب في جهاز الطرد المركزي على سرعة 6000 دوره ولمدة 15 دقيقة باستخدام جهاز الطرد المركزي

(EBA 20 Hettich zentrifugem Germany) ، جُمعت الامصال في أنابيب إبندروف Eppendrof tubes حجم نصف مل ثم خُزنت تحت درجة حرارة 20- م^{o} لحين استخدامها للأختبارات المصلية (ELISA) الشكل رقم (2).

الشكل رقم (2) جمع عينات الدم من وريد جناح الحمام Wing vein.

3.3. الأوساط الزرعية: Culture media

استخدمت الاوساط الزرعية والتي تم تحظيرها حسب تعليمات الشركة المصنعة والتي تتضمن:

3.3.1. الأوساط الصلبة Solid Media:

1- وسط السالمونيلا والشايكيلا Salmonella - Shigella Agar(S. S. Agar)(60 غرام/ لتر ماء مقطر) شركة نيوجين الايرلندية (NEOGEN-Ireland).

2- وسط زايلوز لايسين ديوكسي كوليت Xylose Lysine Deoxycholate Agar (XLD)(53.5 غرام / 1 لتر ماء مقطر) شركة نيوجين الايرلندية (NEOGEN-Ireland).

3_وسط مولرهنتون Mueller– Hinton Agar شركة لاب الانكليزيه (Lab-UK).

3.3.2. الأوساط السائلة Liquid Media (Lab Company -UK):

1- مرق ماء البيبتون Buffered Peptone Water: تم تحضير الوسط بإذابة (10 جم) من ببتون الكازين ، (5 جم) من Nacl ، (10جم) من التربتوفان في (1000 مل) ماء مقطر.
2- مرق السيلينايت Selenite F Broth
3- وسط الحماية Mentainance medium

حُضر هذا الوسط للحفاظ على العينة لفترة طويلة في مرق المغذيات المضاف إليه (20%) من الجلسرين ثم عُقمَ بجهازautoclave 121 ْم ، وبعد تبريد لقح الوسط بمستعمرات نقية وحفظت العُزلات بالتجميد(ْc-80).(Hall, 2013)

3.3.3. أوساط الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Media:

أُجريت ألاختبارات الكيموحيوية على الجراثيم المعزولة، إذ أخذت المستعمرات المشتبة بها واستنبتت على الأوساط التالية :

1- اختبار ثلاثي السكر والحديد Triple Suger Iron Agar:(TSI)

تم تحضير هذه الوسط بإذابة (20 جم) من الببتون (5 جم) كلوريد الصوديوم و(10 جم) لاكتوز و(10 جم) سكروز و(1 جم) جلوكوز و(0.2 جم) كبريتات الأمونيوم الحديدية و(0.2 جم) ثيوسلفات الصوديوم و(0.025 جم) أحمر الفينول و(13 جم) أجار في (1000مل) وتثبيت الاس الهيدروجيني على 7.3 (Hall,2013). بعدها يُصب الوسط بزاوية 30 درجة ثم تم تلقيح قاعدة الوسط بالمستعمرات النقية المشكوك كونها جراثيم السالمونيلا وبصورة عمودية، اما الجزء المائل فقد خططَ بعروة التلقيح Inoculation Loop وحُضن الوسط بدرجة حرارة 37ْم ولمدة 24 ساعة. استخدمَ هذا الوسط للكشف عن قابلية الجراثيم لتخمير السكريات الثلاثة وهي الدكستروز، اللاكتوز والسكروز، وكذلك قابليتها في انتاج كبريتيد الهيدروجين H_2S وذلك من خلال تكوين راسب اسود وإنتاج الغاز ، إذ عُدت العزلات التي أعطت تفاعلاً حامضياً في قاعدة الانبوب (اصفر) وقاعديا في السطح المائل (احمر) مع وجود كبريتيد الهايدروجين (اسود) مع وجود الغاز في الأسفل على انها جراثيم السالمونيلا.

2- اختبار انتاج خميرة اليوريز Urease Test:

تم زرع المستعمرات وذلك بتخطيط الجزء المائل لوسط اليوريا باستخدام عروة الزرع المعقمة، وحُضنت بدرجة حرارة 37ْم ولمدة 24 ساعة، ان عدم تغير لون الوسط من الاصفر

الى الاحمر يعد دليل على عدم انتاج المستعمرات لخميرة اليوريز، والتي تحلل اليوريا الى امونيا وترفع الأس الهيدروجيني بينما يعد تغير اللون الاصفر الى اللون الوردي تُعد نتيجة موجبة.

3- اختبار استهلاك السترات Citrate utilization test:

يتم هذا الاختبارمؤائل الوسط بالمستعمرات المشتبه بها وبعد الحضن بدرجة حرارة 37م ولمدة 24 ساعة، ان بتحويل الوسط (Simmons Citrate Agar) من اللون الاخضر الى اللون الازرق دليلاً لأستهلاك جراثيم السالمونيلا السترات كمصدر للكاربون، وأملاح الامونيوم مصدراً للنايتروجين.

4- اختبار انتاج الاندول: Indole production test

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن إنتاج إنزيم التربتوفان بواسطة الجراثيم حيث يقوم الإنزيم بتكسير التربتوفان إلى إندول وأمونيا وحمض البيروفيك. لقح مرق داري ماء البيبتون بمستعمرة مشتبة بها وحُضنت بدرجة حرارة 37ْم ولمدة 24 ساعة، بعدها أُضيف كاشف الكوفاكس Kovacs Reagent الى وسط النمو، وتم الاستدلال على النتيجة الموجبة من خلال ظهور حلقة حمراء على سطح الوسط نتيجة لتحلل الحامض الاميني Tryptophan وتحولة الى الاندول (Brown, 2018)

5- اختبار المثيل الاحمر: Methyl Red Test

اجري الاختبارب عملية تلقيح مرق المثيل الاحمر والفوكس بروسكاور Glucose phosphate pepton water، تم اضافة 5 قطرات من كاشف المثيل الاحمر، وحُضن الوسط بدرجة حرارة 37 ْم ولمدة 24 ساعة ، وعدت النتيجة موجبة عند تغير لون الوسط الى اللون الاحمر، والسالمونيلا تعطي نتيجة موجبة لهذا الاختبار.

6- اختبار الفوكس بروسكاور: Vogus – proskauer test

تم تلقيح مرق الجلوكوز فوسفات البيتونGlucose Phosphate Peptone Water مع مستعمرات بكتيرية نقية ثم احتضانها عند 37 ْم لمدة 18_36 ساعة ، تمت إضافة حجم واحد من(40%) KOH وثلاثة أحجام 5% ألفا نافثول في الكحول المطلق وخُلط لمدة 30 ثانية ، ظهرت القراءة بعد (15_30) دقيقة ، ويشير ظهور اللون الأحمر الزهري إلى إنتاج أسيتيل ميثيل كاربينول كنتيجة موجبة.

7- اختبار كاتالاز: Catalase Test

من المعروف أن إنزيم الكاتالاز يُحفز تكسير بيروكسيد الهيدروجين إلى أوكسجين وماء. يستخدم هذا الاختبار لاكتشاف نشاط هذا الإنزيم الناتج من عدد الجراثيم، تم نقل كمية صغيرة من

المستعمرات البكتيرية إلى شريحة نظيفة ومعقمة مع اضافة (3%) من H_2O_2 ، وعلى الفوروعندتكون الفقاعات الصغيرة إلى وجود إنزيم الكاتالاز الذي يعني أن أختبار الكاتالاز إيجابي .

8- اختبار أوكسيديز: Oxidase Test

تم نقل مستعمرة مفردة معزولة إلى ورق الترشيح بواسطة عصا خشبية مُعقمة ، بعد إضافة (2 -3) قطرات من كاشف أوكسيديز إلى ورق الترشيح ، يتغير اللون إلى اللون الأرجواني الغامق خلال 20-30 ثانية يشير إلى اختبار أوكسيديز إيجابي (Brown, 2018)

9- اختبار الكاربوهيدرات (تخمير اللاكتوز):

حُضر مرق Brian Heart Infusion بأضافة (22.5 جم) من الوسط في (900 مل) من الماء المقطر ، اللاكتوز (10 جم) في 100 مل من الماء المقطر ، المؤشر ، 1 مل (1.6ملجم) من البروموكريسول الأرجواني في يخلط المكون مع التعقيم بالبخار المضغوط Autoclaved لمدة 10 دقائق عند 121 ْم تم تسجيل رد فعل إيجابي عندما يتغير المؤشر من اللون الأرجواني إلى الأصفر (Hall,2013) ، فعند تلقيح أنبوب يحتوي على الوسط بمستعمرات معزولة نقية ليتم تحضينها عند35 -37 درجة مئوية ولمدة 24 ساعة، بعدها تم تسجيل التفاعل الإيجابي عندما يتغيرلون المؤشر من اللون الأرجواني إلى الأصفر .

3.4. الكواشف:

1- كاشف كوفاكس Kovacs Reagent. + Paradimethylaminobenzaldehyde HCL+ Isoamyl Acohol
2- محلول المثيل الاحمر Methyle Red Indicator solution .

3.5. الاصباغ:

صبغة الكرام Gram stain وهي مكونة من:

1- صبغة الكرستال فيوليت Crystal violet
2- صبغة الايودين Iodine solution
3- كحول اثيلي 95% (Decolorized)
4- صبغة السافرانين

.Sufranin stain -5

3.6. أقراص المضادات الحيوية:

تم استخدام الاقراص المنفردة Unidisc من المضادات الحيوية المستعملة في اختبار الحساسية والموضحة في الجدول رقم(3) وبالتراكيز المشار اليها:

الجدول رقم (3) انواع المضادات الحيوية وتراكيزها

المضاد الحيوي	الرمز	التركيز /µg
Ciprofloxacin	CIP	10
Gentamycin	CN	30
Florfenicol	FFC	30
Amoxicillin	AX	25
Cephalexin	CL	30
Tetracycline	TE	30
Trimethoprim and sulphamethaxazole	SXT	25
Neomycin	N	30
Spiramycin	SP	30
Enrofloxacin	ENR	10
Levofloxacin	LEV	5
Colistin	CT	10
Doxycycline	DO	10
Fosphomycin	FF	10
lincomycin	L	10
Norfloxacin	NOR	10

جميع هذه الانواع كانت مصنعة من قبل شركة Bioanalyse التركية (Ankara/turkey).

3.7. العزل الجرثومي:

أُعيد استنبات مقدار عروة واحدة من مرق السلينات على وسط السالمونيلا والشايكلا Salmonella – Shigella Agar ثم نقلت الى وسط XLD وذلك بطريقة التخطيط الرباعي للطبق، وحُضنت الاطباق بدرجة حرارة 37م^{o} هوائياً ولمدة 24 ساعة ، بعد انتهاء مدة

التحضين تم أخذ أكثر من مستعمره من المستعمرات النامية على الاوساط التي تُعطي صفات مميزة لجراثيم السالمونيلا على وسط السالمونيلا والشايكلا أما على وسط الاخضر اللماع Brilliant Green Agar فتكون المستعمرات دائرية ملساء الحافة محدبة وشفافة (عمار وجماعته، 2019)

(Holt *et al*., 2000)، بعد ذلك تم زرع هذه المستعمرات على وسط (X.L.D) Xylose Lysine Deoxycholate Agar والذي يُعد وسطاً تفريقياً للسالمونيلا عن بقية افراد عائلة Enterobacteriaceae إذ حضُنت الأطباق بدرجة حرارة 37مْ هوائياً ولمدة 24 ساعة وظهرت مستعمرات السالمونيلا بلون احمر ذو مركز اسود، وأخذت المستعمرات المشتبة بها بأنها تعود لجراثيم السالمونيلا لأجراء الفحوصات الكيموحيوية للتأكد من عائديتها لجنس السالمونيلا.

3.8. اختبار الحساسية للمضادات الحيوية: Antibiotic Sensitivity Test

حُضر وسط المولر هنتون Muller Hinton الخاص باختبارات الحساسية حسب تعليمات الشركة المصنعة وتم صبهُ بالأطباق وبعمق 5-6 ملم، وبعدها تركت الاطباق لمدة 30 دقيقة لتجف، أخذ مستعمرة من السائل (Broth) الذي يحتوي على مستعمرات السالمونيلا المأخوذه من الوسط XLD الذي زُرعت فية الجرثومة والمحضنة بدرجة حرارة 37 ْم هوائياً ولمدة 24 ساعة، ثم نشرت على وسط المولر هنتون وفي جميع الاتجاهات لتكوين طبقة رقيقة من الزرع الجرثومي على سطح الوسط ، ثم تُرك الطبق لمدة 3-5 دقائق ليجف، بأستخدام الملقط المعقم بالكحول واللهب ثُبتت أقراص المضادات الحيوية على الوسط المزروع ووزعت بمعدل 6 الى 8 اقراص في اماكن منتظمة تسمح بقياس قطر التثبيط للنمو الجرثومي حول القرص بعدها حُضنت الاطباق بدرجة حرارة 37 ْم ولمدة 24 ساعة ، سُجلت النتائج وذلك بقياس قطر التثبيط للنمو الجرثومي وبضمنها قطر قرص المضاد الحيوي بوحدة الملميتر وبأستخدام جهاز Calipper measurment ، قُورنت النتائج مع قياسات الشركة المجهزة لهذه الاقراص (Brooks *et al*.2001 و (الشيخلي وجماعته، 1989).

3.9. اختبارات البيتالاكتام لجرثومة السالمونيلا:

استخدم 16 عزلة من جراثيم السالمونيلا بواقع خمسة عزلات من الحمام البالغ وخمسة عزلات من الحمام غير البالغ وخمسة عزلات من محيط تربية الحمام وواحدة من غسول أيدي المربين.

3.9.1. التحري عن أنزيمات البيتا- لاكتاميز بالطريقة الحامضية:

حُضر الكاشف الخاص بهذه الطريقة بأخذ 2 مل (0.5%) من محلول الفينول الأحمر وأضيف له 1.2غم من البنسلين ، ثم ضبطت الدالة الحامضية عند (pH 8.5) ، أُجري الاختبار بتوزيع الكاشف على أنابيب اختبار نظيفة بواقع 0.1 مل لكل انبوب ، لقُحت بعد ذلك العُزلات الجرثومية كي تُعطي معلقات جرثومية كثيفة ، تُركت الانابيب لتستقر بدرجة حرارة الغرفة ،واعُتبرَ تغير اللون من البنفسجي إلى الأصفر دليلاً على النتيجة الموجبة للأختبار(Koneman *et al.*,1997).

3.9.2. طريقة انتشار القرص:

تم إجراء الاختبار على وسط المولر هنتون Mueller-Hinton Agar ، وفقًا للتوصية التي قدمها Humphries وجماعتهُ اعتماداً على طريقة نشر القرص Kirby-Bauer ، تم قياس أقطار المنطقة بعد 24 ساعة من الحضانة عند 37 درجة مئوية وتم تفسيرها وفقًا للتوصيات .

3.9.3. الطريقة الموسعة - إنتاج الطيف الممتد بيتا لاكتاميز(ESBL,ESBL/*ampC*):

تم إجراء الاختبار عن طريق طريقة نشر القرص الموصى بها من قبل (Humphries *et al.*,1991). استخدمت خمسة من المضادات الحيوية بيتا لاكتام وهي سيفالوثين (KF30µg) ، سيفترياكسون (CRO10µg)، ازيترونام (ATM30µg)، سفتازيديم(CAZ30µg) وسيفوكسيتين(CF30 µg) ، تم تركها لمدة 15 دقيقة في وسط المولر هنتون Mueller -Hinton agar ثم احتضانها لمدة 24 ساعة عند 37 درجة مئوية.

أختبار حساسية الـ Cefoxitin تم باستخدام طريقة نشر القرص Kirby-Bauer: للمضاد Cefoxitin(CF30 µg) كاختبار فحص لإنتاج *ampC* -β_lactamase وفقاً لمعايير (CLSI,2017) ، تم اختيار العُزلات المقاومة او الحساسة لـ cefoxitin (الحساسة (جرثومة السالمونيلا لاتحتوي على انزيم البيتا لاكتاميز من النوع *ampC* الذي يُحطم حلقة البيتالاكتام الموجودة في المضاد الحيوي سيفوكسيتين) قطر المنطقة اكثر من 18 ملم والمقاومة اقل من 18 ملم (جرثومة السالمونيلا تحتوي على انزيم البيتالاكتاميز من نوع الـ *ampC*) .

3.10. تحضير مصل الدم (Serum):

سحب الدم من وريد الجناح (wing vein) من الحمام المشكوك بأصابتها بأستخدام أبرة نابذة قياس (23G)، نقلت عينات الدم الى انابيب حاوية على الجل (Gel Tube)، وتركت في درجة حرارة 4 ْم لمدة 24 ساعة للحصول على اكبر كمية من المصل، إذ جمع المصل في

أنابيب بلاستيكية معقمة (Eppendrof tube)، وحُفضت العينات بدرجة حرارة (20-مْ)، لحين أجراء الفحوصات المصلية (OIE, 2010).

3.11. الاختبارات المصلية Serological Test:

3.11.1. أختبار ألاليزا Enzyme Linked Immunosurbant Assay (ELISA):

أستخدم 92 عينة مصل من مصل الحمام (69 عينة مصل من الحمام البالغ و23 مصلاً من الحمام غير البالغ) لقياس الاضداد باستخدام طريقة الادمصاص المناعي الغير مباشر (iELISA) للعدة *Salmonella Enteritidis* Antibody Test Kit لشركة IDEXX الامريكية، الشكل رقم(3).

الشكل رقم (3) عدة الاليزا *Salmonella Enteritidis* Antibody Test Kit لشركة IDEXX الامريكية.

تم مقايسة الاضداد لجراثيم السالمونيلا بموجب المراحل الآتية حسب تعليمات الشركة المجهزة.

أولاً_ مرحلة التخفيف Dilution: أُخذ 1مايكروليتر من المصل الذي تم الحصول علية من دم الحمام واضيف الى 500 مايكروليتر من المخفف

ثانياً_ مرحله التفاعل بين الاضداد والمستضدات(Ab-Ag reaction): أُخذ 100 مايكروليتر من المحلول المخفف وأضيفت لكل حفرة ، ثم تُركت نصف ساعة للتفاعل وبعدها أجريت عملية الغسيل بأستخدام جهاز الغسيل ELx800 Washer (biotek)

ثالثاً_ مرحلة الأقتران Conjugate: أُخذ 100 مايكروليتر من المحلول وأضيفت الى الحفر وبالترتيب، ثم تُركت نصف ساعة للتفاعل وبعدها أجريت عملية الغسيل بأستخدام جهاز الغسيل المذكور اعلاه.

رابعاً_ مرحلة أضافة المادة الاساس Substrat: أُخذ 100 مايكروليتر من المحلول وأضُيفت الى الحفر، ثم تُركت 15 دقيقة للتفاعل وبدون إجراء عملية الغسيل.

خامساً_ مرحلة إيقاف التفاعل بإضافة Stop Solution: أُخذ 100مايكوليتر من المحلول وأُضيف الى الحفر وبعدها مباشراً قُرأت النتائج على جهاز القراءه ELx800 reader (biotek).

3.11.2. أختبار البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR):

أولاً_استخلاص الحامض النووي من بكتريا الـ *Salmonella spp.*

تم الاعتماد على عدة التحليل المجهزة من قبل شركة (Geneaid) في استخلاص الحامض النووي من عينات البكتريا بالخطوات الآتية:

1- أخذ راسب البكتريا المنماة في الوسط السائل وبما يعادل 1×10^9 خلية إلى أنبوبة ابندورف 1.5 مل.
2- أضيف 200 مايكروليتر إلى أنبوبة الابندورف مع انزيم Lysozyme بتركيز 0.8 ملغم\200 مل مع اجراء المزج باستخدام Vortex.
3- حُضن الانبوب تحت 37 درجة مئوية لمدة 30 دقيقة وقلب الانبوب كل 3 دقائق خلال مدة التحضين.
4- أضيف 20 مايكروليتر من Proteinase K ومزج باستخدام Vortex.
5- حُضنَ المزيج بدرجة حرارة 60 درجة مئوية لمدة 10 دقائق.
6- أُضيف 200 مايكروليتر من المحلول المنظم GB ومزجَ باستخدام Vortexوحُضنَ بدرجة 70 درجة مئوية.
7- أضيف 200 مايكروليتر من الايثانول المطلق ومزج يدويا ثم نقل المزيج الى انبوب GD المثبت في انبوب الجمع واجري طرد مركزي بقوة 16000g لمدة 30ثانية وتم التخلص من الراشح ثم أضيف 600 مايكروليتر من محلول الغسل وبطرد مركزي

بنفس السرعة والوقت السابق، تم التخلص من الراسب ثم أُعيد الطرد المركزي لمدة 3 دقائق للتخلص من جميع بقايا محلول الغسل.

8- نُقل عامود GD الى انبوب 1.5 مل جديد وأضيف 100 مايكروليتر من محلول الاذابة ثم تُرك لمدة 3 دقائق بعدها اجري الطرد المركزي بسرعة 16000g لمدة 30 ثانية ثم حفظَ الـDNA لحين الأستخدام.

ثانياً_ تحضير هلام الاكاروز وعملية الترحيل الكهربائي للـ DNA:

لترحيل الدنا والكشف عنه تم تحضير هلام الاكاروز بتركيز 1% وعن طريقة اذابة 0.5 غم من مسحوق الاكاروز في (50) مل من X1 TBE واضافة 3 مايكروليتر من صبغة Red safe، تم ذلك باستخدام حرك حراري مع التحريك المستمر لحين الغليان ويتم ترك ليبرد الى درجة حرارة (50-60) ْم، ثم صبَ محلول الهلام في الحوض الخاص Tray بجهاز الترحيل بعد ان تم تثبيت المشط الخاص لتكوين الحفر Wells عند اطراف الهلام مع مراعاة ان يكون الصب بهدوء لتجنب تكوين الفقاعات، ثم ترك الهلام حتى تصلب، يتم نقل الـ Tray في حوض الترحيل الكهربائي الحاوي على كمية مناسبة من محلول X1 TBE بعدها تم رفع المشط بهدوء ، تم تحضير عينات الترحيل بمزج (5) مايكروليتر من عينة الـ DNA مع (3) مايكروليتر من محلول التحميل. بعد ذلك تم تشغيل جهاز الترحيل بإمرار التيار الكهربائي بفرق جهد (5) فولت \ سم واستغرقت العملية (1.5-2) ساعة. بعد ذلك تم تصوير الهلام تحت الاشعة فوق البنفسجية باستخدام جهاز تصوير الهلام UV Trans illumination للتمكُن من رؤية حزم الـ DNA وايضا ناتج تفاعل الـ PCR .

ثالثاً_ تفاعلات البلمره المتسلسل (PCR):

تم ضبط تركيز الدنا في كافة عينات الدراسة بالتخفيف بواسطة محلول TE الدارئ للحصول على التركيز المطلوب لأجراء تفاعلات الـ PCR وكان (25) نانوغرام \ مايكروليتر لكل عينة. اذ تم تحضير خليط التفاعل الرئيسي Master Reaction لكل تفاعل PCR وذلك بمزج عينة الدنا والبادئ الخاص لكل جين مع مكونات الـ Master-mix داخل انبوبة الابندروف سعة 0.2 مل والمجهزمن قبل شركة Biolaps الانكليزية تم تثبيت حجم التفاعل ليصل الى 20 مايكروليتر بالماء المقطر، وتم نبذ المزيج في جهاز Microfuge لمدة بين (3-5) ثوان للتاكد من مزج مكونات التفاعل، ثم أدخلت أنابيب التفاعل في جهاز المبلمر الحراري Thermocycler لغرض إجراء التفاعل التضاعفي باستخدام البرنامج الخاص لكل

تفاعل، بعدها تم تحميل العينة في حفر هلام الاكاروز المحضر مسبقاً بتركيز 2% مع اضافة الدليل الحجمي Ladder DNA المجهز من قبل شركة Biolaps في احدى الحفر، بعد ذلك تم ترحيل العينات بتشغيل جهاز الترحيل الكهربائي Electrophoresis لمدة تتراوح بين (60-70) دقيقة بعد ذلك تم تصوير الهلام باستخدام جهاز الـ UV Trans illumination.

3.12. التشخيص الجزيئي لعدد من جينات الضراوة في جراثيم السالمونيلا *salmonella spp.*:

تم التشخيص الجزيئي لعدد من جينات الضراوة في بعض جراثيم السالمونيلا المعزولة وهي (*IroN,IucC,IucD*) أذ تم الكشف عنها عن طريق تضخيم البوادئ المخصصة لكل جين في الجينوم المستخلص للبكتريا باضافة 4 مايكروليتربتركيز (100 nanogram) من الدنا القالب و 1 مايكروليتر من كل بادئ خاص بالجين الى محتويات الـ Master mix كما هو موضح في الجدول رقم(4).

الجدول رقم (4): البادئات المستخدمة للكشف عن جينات الضراوة في بعض جراثيم السالمونيلا.

Primer	Sequence "5_3"	Annealing Temp. C°	Band Size	reference
IroN-F	-AAGTCAAAGCAGGGGTTGCCCG-	65	900 bp	(Alejandro *et al*., 2013)
IroN-R	-GATCGCCGACATTAAGACGCAG-			
*Iuc*C-F	-CGCCGTGGCTGGGGTAAG-	64	1100 bp	
*Iuc*C-R	-CAGCCGGTTCACCAAGTATCACTG-			
*Iuc*D-F	-ACAAAAAGTTCTATCGCTCC-	63	750 bp	
*Iuc*D-R	-CCTGATCCAGATGATGCTC-			

بعدها تم ادخال انابيب التفاعل في جهاز المبلمر الحراري Thermocycler لإجراء التفاعل التضاعفي وباستخدام البرنامج الخاص للتفاعل وكما موضح في الجدول رقم(5).

الجدول رقم (5): البرنامج الخاص في التفاعلات الخاصة بالكشف عن جينات الضراوة لبعض جراثيم السالمونيلا.

No.	Stage	Temperature C°	Time	No. Of cycle
1.	Initial denaturation	95	6 min.	1
2.	denaturation	95	45 sec.	35
3.	Annealing	65, 64, 63	1 min.	
4.	Extension	72	1 min.	
5.	Final extension	72	5 min.	1

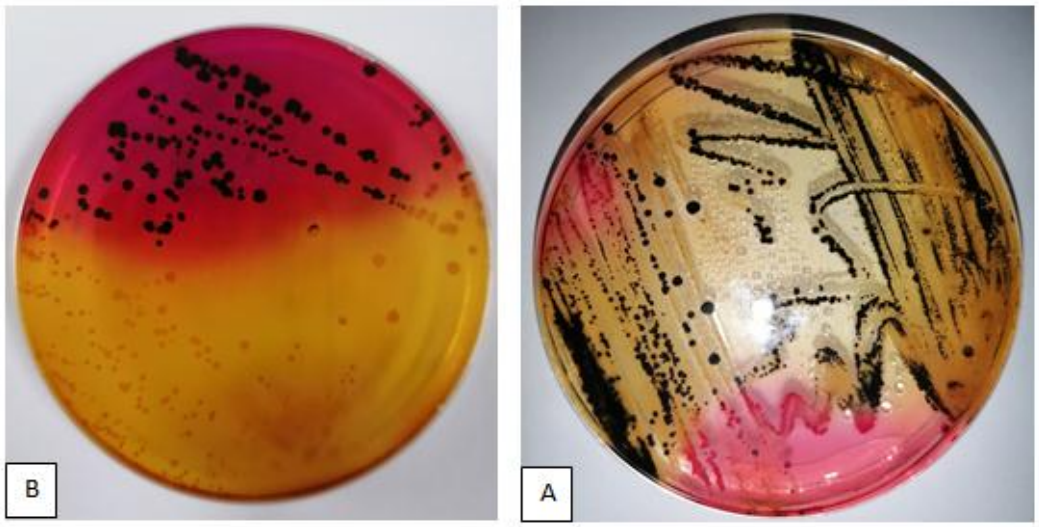
3.13. التحليل الاحصائي:

في هذه الدراسة، تم أستخدام مربع كاي(Chi Sequare Test) لأيجاد الفرق المعنوي في نسب السالمونيلا المعزولة من الأعضاء الداخلية للحمام البالغ والأفراخ وكذلك البيئة (الفرشة، المعالف، المناهل، ايدي المربين) ، إذ اعتبار الاختلاف معنويا عندمستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) (Campbell , 2007) (Schoonjans *et al*., 1995).

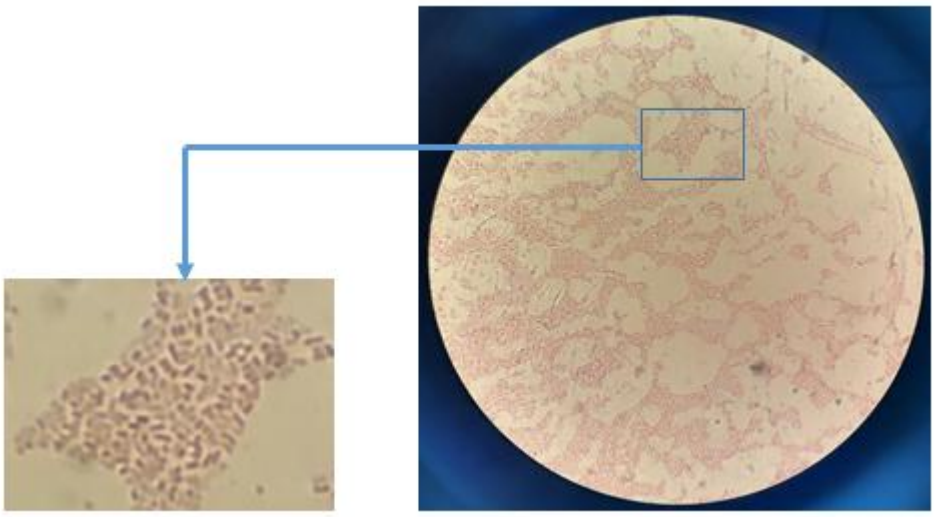
النتائج
Results

4.1. العزل الجرثومي:

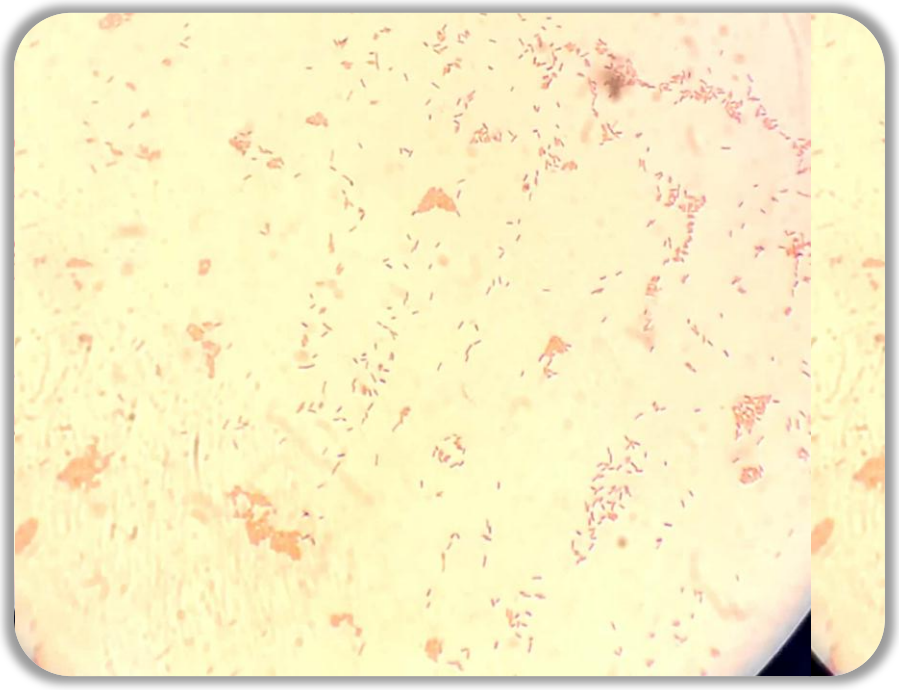
أظهر العزل الجرثومي ان العزلات تعود مبدئياً الى جراثيم السالمونيلا بالاعتماد على الشكل المستعمري على الاوساط الزرعية المتخصصة SSA و XLD حيثُ ظهرت المستعمرات على وسط الـ XLD بلون احمر ذو مركز اسود ، بينما على وسط الـ SSA ظهرت جراثيم السالمونيلا بشكل مستعمرات سوداء بسبب انتاجها لكبريتيد الهايدروجين H_2S وأظهر استخدام الفحص المجهري لجراثيم السالمونيلا بصبغة الكرام وجود جراثيم تترتب بشكل عصوي منفرد او مزدوج وسالبة لصبغة الكرام ، الشكل رقم (4 ، 5، 6) .



الشكل رقم(4) مستعمرات جراثيم السالمونيلا A:على وسط السالمونيلا_ شايكلا SSA وB:على وسط XLD .



الشكل رقم (5) الفحص المجهري لجراثيم السالمونيلا



الشكل رقم (6) الفحص المجهري لجراثيم السالمونيلا

4.2. نسب عزل جراثيم السالمونيلا في الحمام:

4.2.1. النسب الكلية لعزل جراثيم السالمونيلا في الحمام وبيئته:

أظهرت الدراسة الحالية عزل جراثيم السالمونيلا في الحمام وبيئتهُ بواقع (83) عينة موجبة من مجموع (550) عينة موزعة بين (35) عينة موجبة من الحمام البالغ وبنسبة (42.17%) و (18) عينة موجبة في الحمام غير البالغ وبنسبة (21.69%) في حين كانت (30) عينة موجبة لعزل السالمونيلا من بيئة الحمام وبنسبة (36.14%) كما في الجدول (6).

الجدول رقم (6) نسب تواجد جراثيم السالمونيلا في الحمام وبيئتهُ

نوع العينات	عدد العينات	عدد العينات الموجبة	النسب المئوية(%)
الحمام البالغ	205	35	42.17
الحمام غير البالغ	195	18	21.69
البيئة	150	30	36.14
الكلي	550	83	%100

4.2.2 نسب عزل جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام غير البالغ والحمام البالغ:

حيثُ ان عدد العينات للحمام البالغ كانت 205 عينة وكان عدد العينات الموجبة 35 عينة (17%) ، بينما كان عدد العينات للحمام غير البالغ 195 عينة حيثُ كان عدد العينات الموجبة 18 عينة (9.23%)، وكما في الجداول (7).

الجدول رقم (7) نسب انتشار السالمونيلا المعزولة من الحمام غير البالغ والحمام البالغ.

الطيور (الحمام)					
حمام بالغ (اكبر من 6 أشهر)			حمام غير بالغ (أصغر من 6 أشهر)		
عدد العينات	عدد العينات الموجبة	النسب المئوية(%)	عدد العينات	عدد العينات الموجبة	النسب المئوية(%)
205	35	17.0*	195	18	9.23

*وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .

4.2.3. نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الاعضاء الداخلية للحمام البالغ:

تُظهر نتائج العزل الجرثومي للعينات التي تم اخذها من الاعضاء الداخلية للحمام البالغ (الأمعاء، فتحة المجمع، الكبد، القلب، الطحال، البنكرياس)، بأن عدد العينات الموجبة التي تم عزلها عن طريق الزرع الجرثومي وعلى الاوساط المذكورة أعلاه بلغ (35)عينة من مجموع (205)عينة وبنسبة (17%)، وكما هو موضح في الجدول رقم(8).

الجدول رقم (8) نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الاعضاء الداخلية للحمام البالغ

	الاعضاء الداخلية						المجموع
نوع العينة	الامعاء	الكبد	فتحة المجمع	القلب	الطحال	البنكرياس	
عدد العينات الكلي	50	50	40	40	20	5	205
عدد العينات الموجبة	18	7	6	2	2	0	35
النسب المئوية (%)	36*	14	15	5	10	0	17

*وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .

4.2.4. نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الاعضاء الداخلية للحمام غير البالغ:

أظهرت نتائج العزل الجرثومي للعينات التي تم اخذها من الأعضاء الداخلية للحمام غير البالغ (الأمعاء، فتحة المجمع، الكبد، القلب، الطحال، البنكرياس)، فقد بلغَ عدد العينات الموجبة (18)عينة من مجموع (195)عينة وبنسبة (9.23%)، وكما هو موضح في الجدول رقم(9).

الجدول رقم (9) نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الاعضاء الداخلية للحمام غير البالغ

نوع العينة	الاعضاء الداخلية						المجموع
	الامعاء	الكبد	فتحة المجمع	القلب	الطحال	البنكرياس	
عدد العينات الكلي	50	50	35	35	20	5	195
عدد العينات الموجبة	12	3	2	1	0	0	18
النسب المئوية (%)	24*	6	5.7	2.8	0	0	9.23

*وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .

4.2.5. نسب عزل جراثيم السالمونيلا من بيئة تربية الحمام:

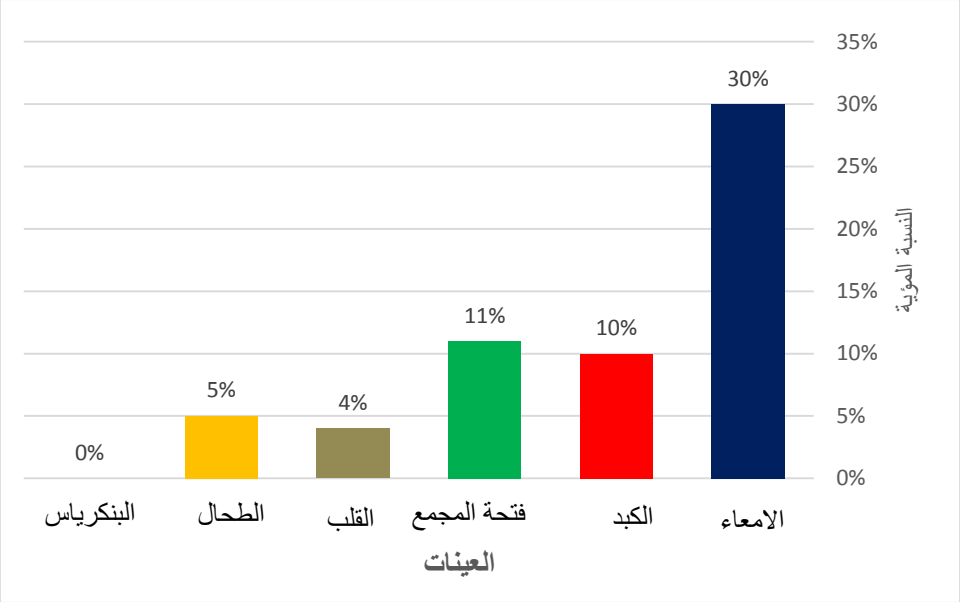
أظهرت نتائج العزل الجرثومي للسالمونيلا من العينات التي تم اخذها من بيئة الحمام (الفرشة، المعالف، المناهل وغسول ايدي المربين) بأن عدد العينات الموجبة لعزل جراثيم السالمونيلا كانت (30)عينة من مجموع (150)عينة وبنسبة (20%)، وكما هو موضح في الجدول رقم(10).

الجدول رقم (10) نسب تواجد جراثيم السالمونيلا في بيئة الحمام

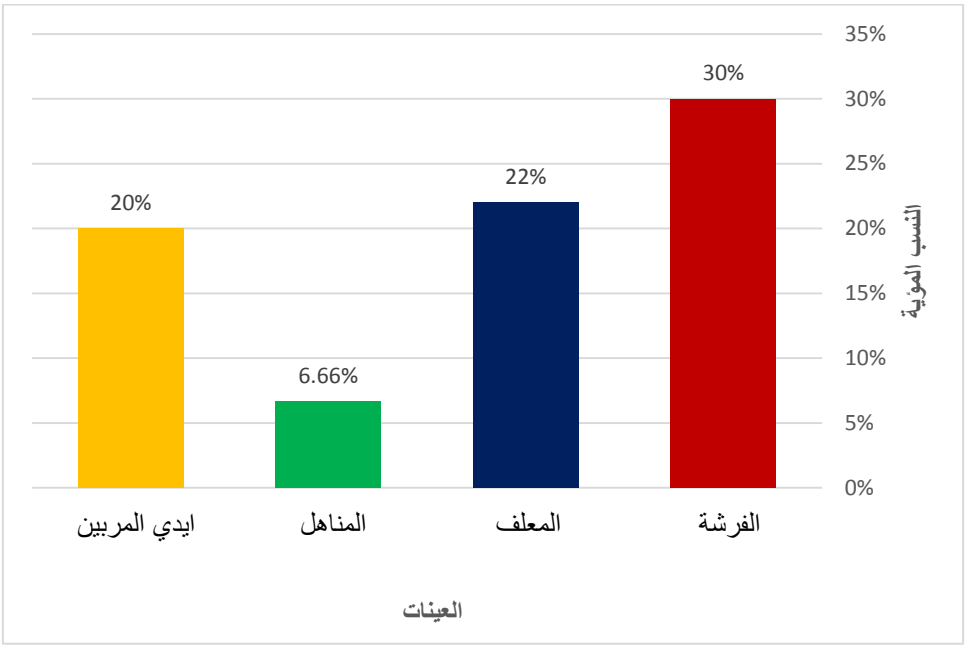
البيئة	عدد العينات	عدد العينات الموجبة	النسب المئوية (%)
الفرشة	50	15	30*
المعالف	50	11	22
المناهل	45	3	6.66
أيدي المربين	5	1	20
عدد العينات الكلي	150	30	20

*وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .

وكملخص لنسب عزل جراثيم السالمونيلا في الحمام وبيئتهُ فأن النسبة الكلية للعزل بلغت 15% من مجموع 550 عينة حيثُ يبين الشكلين التاليين رقم (7) ورقم (8) أن اعلى النسب سُجلت في فرشة الطيور وأمعائها تلاها المعالف وأيدي المربين، فتحة المجمع، الكبد، المناهل، الطحال، القلب، ولم تُعزل جراثيم السالمونيلا من البنكرياس.



الشكل رقم (7) نسب جراثيم السالمونيلا المعزولة من الأعضاء الداخلية للحمام



الشكل رقم (8) نسب جراثيم السالمونيلا المعزولة من بيئة تربية الحمام

4.3. الاختبارات الكيموحيوية Biochemical Tests:

أظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية أن جراثيم السالمونيلا اعطت نتيجة سالبة لأختبار الاندول والفوكس بروسكاور وكذلك اختبار اليوريز بينما اعطت نتيجة موجبة لأختبار المثيل الاحمر، السترات وكبريتيد الهيدروجين، وكما موضح في الجدول رقم(11).

الجدول رقم(11) نتائج الأختبارات الكيموحيوية على عزلات جراثيم السالمونيلا من الحمام

انتاج الاندول	المثيل الاحمر	الفوكس بروسكاور	استهلاك السترات	كبريتيد الهيدروجين	انتاج خميرة اليوريز
-	+	-	+	±	-

4.4. أختبارات الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic sensitivity test:

أظهرت نتائج أختبار الحساسية لـ 30 عزلة(10 عزلات من الحمام البالغ،10 عزلات من الحمام غير البالغ،10 عزلات من البيئة) أن جراثيم السالمونيلا كانت حساسة للعديد من المضادات الحيوية ومتوسطة الحساسية للبعض ومقاومة للبعض جدول رقم(11) حيثُ اظهرت جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام البالغ (العدد = 10) كانت شديدة المقاومة للاموكسيلين (50%) السلفاميثوكسازول-تريميثوبريم والفلورفينيكول(80%) ،الكوليستين والسيبروفلوكساسين(60%)، ومتوسطة الحساسية (21-50%) للأنروفلوكساسين ، دوكسيسايكلين ، تتراسايكلين ، لينكومايسين و سبايرومايسين (40%)، ليفوفلوكساسين (30%) وحساسة (0-20%) للسيفاليكسين ، والنورفلوكساسين ، والجنتاميسين والفوسفوميسين (20%) والنيومايسين (10%) ، الجدول رقم(12).

الجدول رقم(12) نسب مقاومة جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام البالغ لمختلف المضادات الحيوية.

المضاد	مختصره	قوته	حساس عدد (%)	متوسط الحساسية عدد (%)	مقاوم عدد (%)
اموكسيسيلين	AX	25 µg	2/10(20%)	3/10(30%)	5/10(50%)
سيفاليكسين	CL	30 µg	7/10(70%)	1/10 (10%)	2/10(20%)
كوليستين	CT	10 µg	1/10(10%)	3/10(30%)	6/10(60%)
نورفلوكساسين **سايبروفلوكساسين**	NOR CIP	10 µg 10 µg	8/10(80%) 3/10(30%)	0/10 (0%) 0/10(0%)	2/10(20%) 7/10(70%)

ليفوفلوكساسين	LEV	5 µg	4/10(40%)	3/10(30%)	3/10(30%)
انروفلوكساسين	ENR	10 µg	6/10(60%)	0/10(0%)	4/10(40%)
دوكسيسايكلين	DO	10 µg	2/10(20%)	4/10(40%)	4/10(40%)
تتراسايكلين	TE	30 µg	3/10(30%)	3/10(30%)	4/10(40%)
جنتامايسين	CN	30 µg	7/10(70%)	1/10(10%)	2/10(20%)
نبومايسين	N	30 µg	7/10(70%)	2/10(20%)	1/10(10%)
فلورفينيكول	FFC	30 µg	0/10(0%)	2/10(20%)	8/10(80%)
فوسفومايسين	FF	10 µg	6/10(60%)	2/10(20%)	2/10(20%)
لنكومايسين	L	10 µg	4/10(40%)	2/10(20%)	4/10(40%)
سبايرامايسين	SP	30 µg	4/10(40%)	2/10(20%)	4/10(40%)
سلفاميثوكسازول ترايميثوبريم	SXT	25 µg	1/10(10%)	1/10(10%)	8/10(80%)

أما جراثيم السالمونيلا المعزوله من الحمام غير البالغ (العدد = 10) كانت شديدة المقاومة للسيبروفلوكساسين والسلفاميثوكسازول-تريميثوبريم (70%) ، الكوليستين (60%) ، بينما أظهرت حساسية متوسطة للأموكسيسيلين ولليفوفلوكساسين، الدوكسيسيكلين ،الفلورفينيكول والنكومايسين (50%) وأنروفلوكساسين وفوسفوميسين (30%) وحساسة (0-20%) للنورفلوكساسين والتتراسيكلين والسبيراميسين والنيومايسين والجنتاميسين (20%) ؛ والسيفاليكسين (10%) الجدول رقم(13).

الجدول رقم (13) نسب مقاومة جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام غير البالغ لمختلف المضادات الحيوية.

المضاد	مختصره	قوته	حساس عدد (%)	متوسط الحساسية عدد (%)	مقاوم عدد (%)
اموكسيسيلين	AX	25 µg	3/10(30%)	3/10(30%)	4/10(40%)
سيفاليكسين	CL	30 µg	7/10(70%)	2/10(20%)	1/10(10%)
كوليستين	CT	10 µg	2/10(20%)	2/10(20%)	6/10(60%)
نورفلوكساسين سايبروفلوكساسين ليفوفلوكساسين انروفلوكساسين	NOR CIP LEV ENR	10 µg 10 µg 5 µg 10 µg	7/10(70%) 3/10(30%) 5/10(50%) 7/10(70%)	1/10(10%) 0/10(0%) 1/10(10%) 0/10(0%)	2/10(20%) 7/10(70%) 4/10(40%) 3/10(30%)
دوكسيسايكلين تتراسايكلين	DO TE	10 µg 30 µg	3/10(30%) 4/10(40%)	3/10(30%) 4/10(40%)	4/10(40%) 2/10(20%)
جنتامايسين نبومايسين	CN N	30 µg 30 µg	7/10(70%) 8/10(80%)	1/10(10%) 0/10(0%)	2/10(20%) 2/10(20%)
فلورفينيكول	FFC	30 µg	2/10(20%)	3/10(30%)	5/10(50%)
فوسفومايسين	FF	10 µg	5/10(50%)	2/10(20%)	3/10(30%)
لنكومايسين	L	10 µg	4/10(40%)	2/10(20%)	4/10(40%)
سبايرامايسين	SP	30 µg	3/10(30%)	5/10(50%)	2/10(20%)
سلفاميثوكسازول ترايميثوبريم	SXT	25 µg	1/10(10%)	2/10(20%)	7/10(70%)

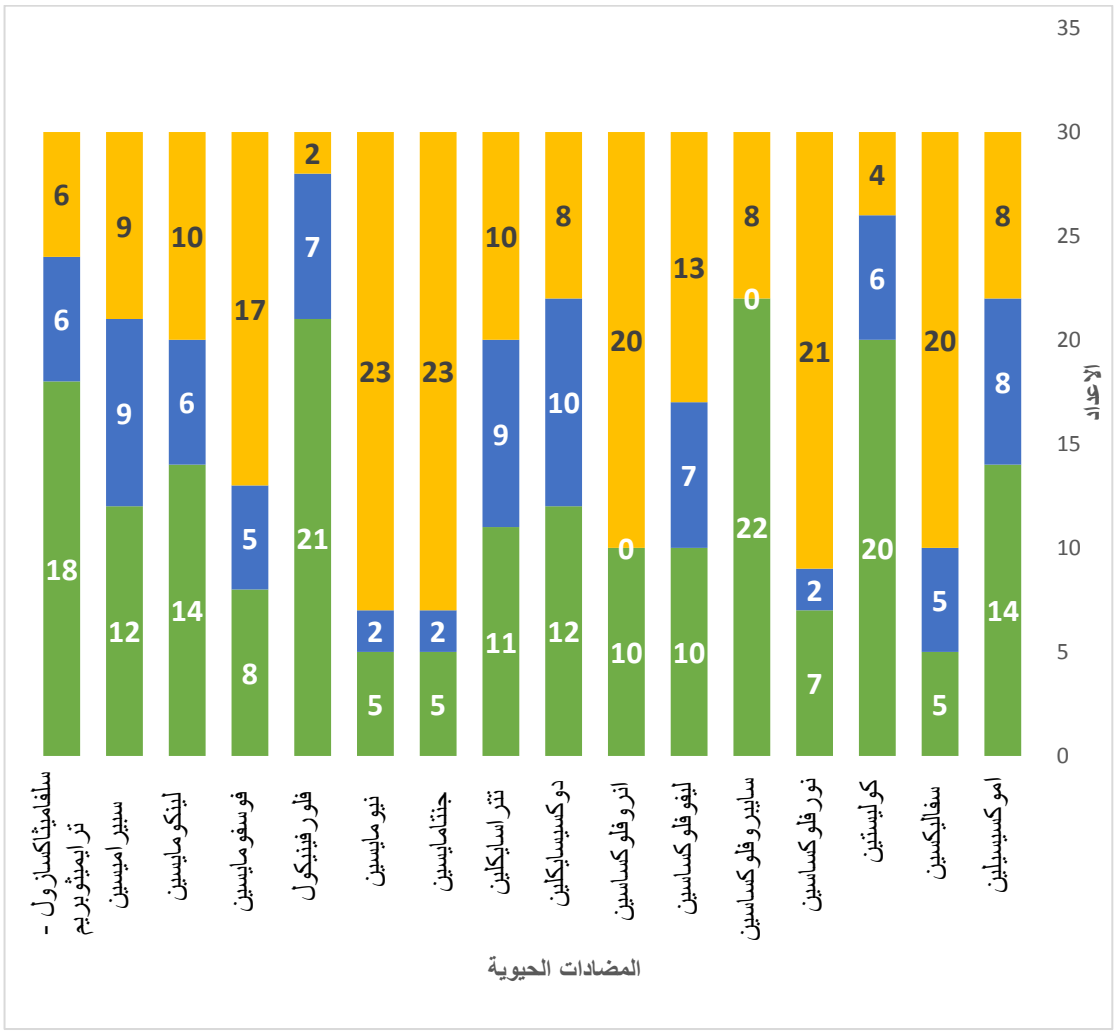
وفيما يخُص جراثيم السالمونيلا المعزوله من البيئة (العدد = 10) ، سُجلت المقاومة العالية للكوليستين ، وللسيبروفلوكساسين والفلورفينيكول(80%) ، والنكومايسين والسبيرامايسين (60%) ؛ ومتوسطة الحساسية (21-50%) للأموكسيسيلين والتتراسيكلين (50%) ؛ والدوكسيسايكلين (40%) ، والنورفلوكساسين ، ولليفوفلوكساسين ، وللإنروفلوكساسين ، وللسلفاميثوكسازول - تريميثوبريم والفوسفوميسين (30%) ؛ وحساسة (0-20%) ، للسيفاليكسين ، النيومايسين (20%) والجنتاميسين(10%)، الجدول رقم(14).

الجدول رقم (14) نسب مقاومة جراثيم السالمونيلا المعزولة من البيئة لمختلف المضادات الحيوية.

المضاد	مختصره	قوته	حساس عدد (%)	متوسط الحساسية عدد (%)	مقاوم عدد (%)
اموكسيسيلين	AX	25 µg	3/10(30%)	2/10(20%)	5/10(50%)
سيفاليكسين	CL	30 µg	6/10(60%)	2/10(20%)	2/10(20%)
كوليستين	CT	10 µg	1/10(10%)	1/10(10%)	8/10(80%)
نورفلوكساسين **سايبروفلوكساسين** **ليفوفلوكساسين** **انروفلوكساسين**	NOR CIP LEV ENR	10 µg 10 µg 5 µg 10 µg	6/10(60%) 2/10(20%) 4/10(40%) 7/10(70%)	1/10(10%) 0/10(0%) 3/10(30%) 0/10(0%)	3/10(30%) 8/10(80%) 3/10(30%) 3/10(30%)
دوكسيسايكلين **تتراسايكلين**	DO TE	10 µg 30 µg	3/10(30%) 3/10(30%)	3/10(30%) 2/10(20%)	4/10(40%) 5/10(50%)
جنتامايسين **نبومايسين**	CN N	30 µg 30 µg	9/10(90%) 8/10(80%)	0/10(0%) 0/10(0%)	1/10(10%) 2/10(20%)
فلورفينيكول	FFC	30 µg	0/1 0(0%)	2/10(20%)	8/10(80%)
فوسفومايسين	FF	10 µg	6/10(60%)	1/10(10%)	3/10(30%)
لنكومايسين	L	10 µg	2/10(20%)	2/10(20%)	6/10(60%)
سبايرامايسين	SP	30 µg	2/10(20%)	2/10(20%)	6/10(60%)

سلفاميثوكسازول ترايميثوبريم	SXT	25 µg	4/10(40%)	3/10(30%)	3/10(30%)

وأجمالاً فإن نسب مقاومة 30 عزلة من جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام وبيئته لـ 16 مضاداً حيوياً ، تُظهر وجود مقاومة عالية للسيبروفلوكساسين (73.33%) يليها الفلورفينيكول (70%)، كوليستين (66.6%) ، سلفاميثوكسازول-تريميثوبريم (60%) ، لنكومايسين وأموكسيسيلين (46.6%)، سبيرامايسين ودوكسيسايكلين (40%) ، تتراسيكلين (36.66%) ، ليفوفلوكساسين وإنروفلوكساسين (33.33%)، فوسفوميسين (26.6%) ، نورفلوكساسين (23.3%) ، السيفاليكسين ، النيومايسين والجنتاميسين (16.6%) .



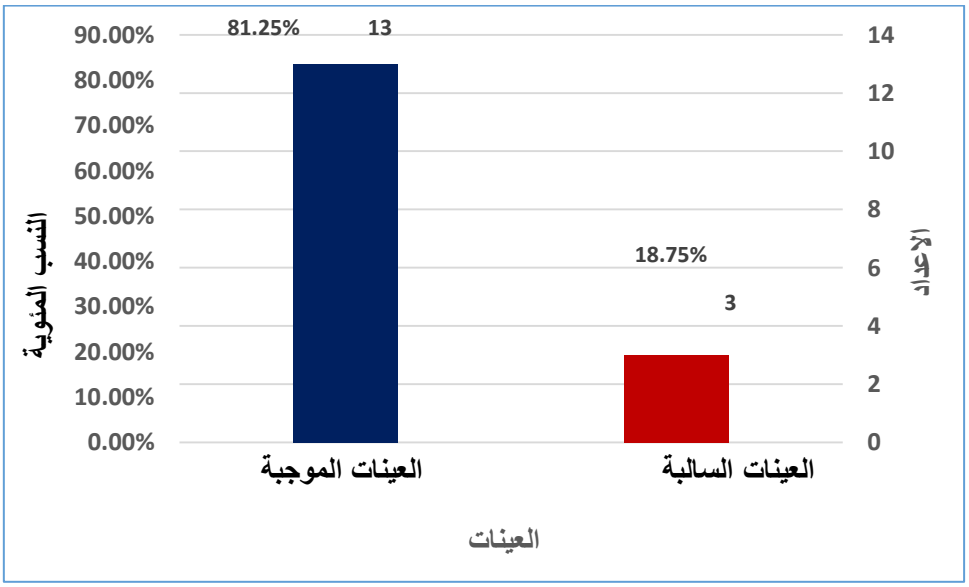
الشكل رقم (9) اعداد جراثيم السالمونيلا الحساسة ومتوسطة الحساسية والمقاومة والمعزولة من الحمام البالغ وغير البالغ والبيئة لـ 16 مضاداً حيوياً.

4.5. عزلات السالمونيلا المنتجة للبيتا لاكتاميز:

بلغت عزلات السالمونيلا ألمنتجة لإنزيم الـ ß -lactamase باستخدام طريقة القياس الحمضي 13 من 16 (81.25٪) كما هو موضح في الجدول رقم(15) والشكل رقم (10 ، 11)

الجدول رقم (15) النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لإنزيم الـ ß –lactamase بطريقة القياس الحمضي.

اعداد ونسب جراثيم السالمونيلا المنتجة لإنزيم البيتالاكتاميز	اعداد ونسب جراثيم السالمونيلا غير المنتجة لإنزيم البيتالاكتاميز	اعداد العزلات
13(81.25%)	3(18.75%)	16



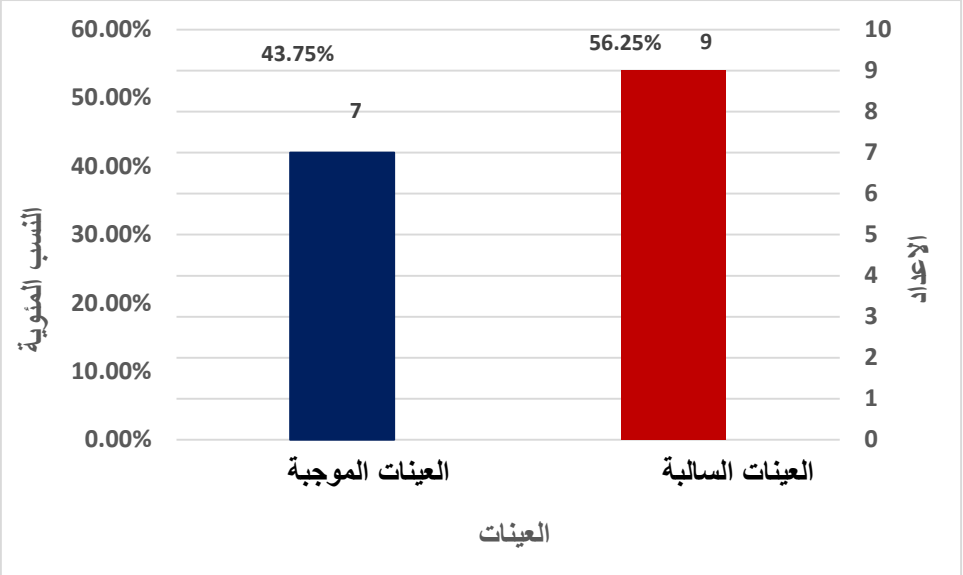
الشكل رقم (10) النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لانزيم الـ ß -lactamase بطريقة القياس الحمضي.

الشكل رقم (11) عزلات السالمونيلا المنتجة لانزيم ß–lactamases، العزلات الموجبة (صفراء اللون) الأنابيب (على اليمين) ، والعزلات السالبة (حمراء اللون) (على اليسار) باستخدام طريقة القياس الحمضي.

أظهرت نتيجة عزلات السالمونيلا الموجبة الممتدة المنتجة لانزيم ß -lactamase باستخدام طريقة انتشار القرص أن 7/16 من العينات كانت إيجابية (43.75%) كما هو موضح في الجدول رقم (16) والشكل رقم (12، 13)

الجدول رقم (16) النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لـ ß -lactamase بطريقة الانتشار القرصي.

اعداد العزلات	اعداد ونسب جراثيم السالمونيلا غير المنتجة لإنزيم البيتالاكتاميز	اعداد ونسب جراثيم السالمونيلا المنتجة لإنزيم البيتالاكتاميز
16	9(56.25%)	7(43.75%)



الشكل رقم (12) النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لانزيم ß -lactamase بطريقة الانتشار القرصي.

الشكل رقم (13) A: عزلة سالمونيلا منتجة لإنزيم الـ ß –lactamase

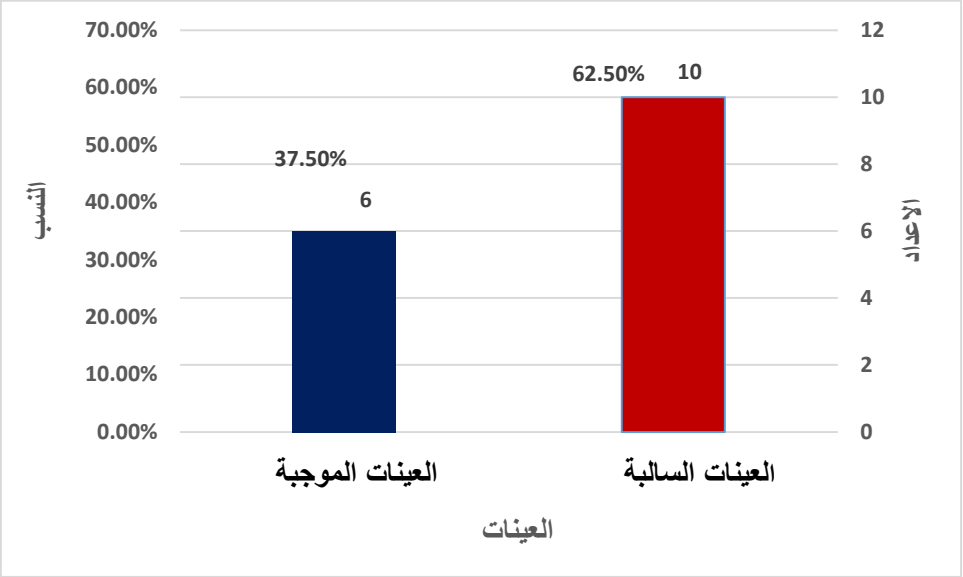
B: عزلة سالمونيلا غير منتجة لإنزيم الـ ß –lactamase

أما عُزلات جراثيم السالمونيلا المنتجة لانزيم ß –lactamase الطيف الممتد نوع *ampC* (ESBL / *ampC*) وكما هو معبرعنهُ في الجدول رقم (17) ، والشكلان (14،15)،

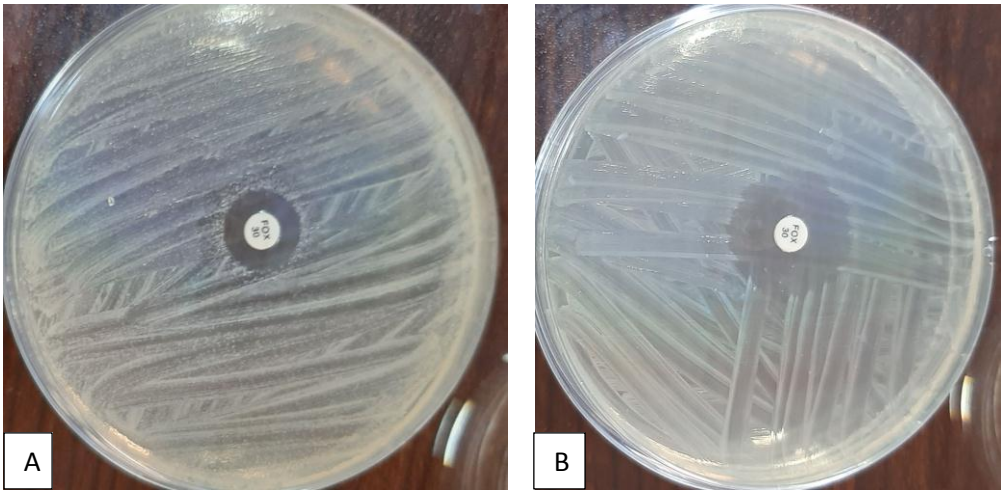
اتضح أن 6/16 (37.50%) كانت عزلات السالمونيلا المنتجة لإنزيم ß -lactamase الطيف الممتد نوع *ampC* (ESBL / *ampC*) .

الجدول رقم (17) النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لانزيم الـ ß –lactamase الطيف الممتد من نوع *ampC* عن طريق طريقة الانتشار القرصي.

اعداد ونسب جراثيم السالمونيلا غير المنتجة لإنزيم البيتالاكتاميز	اعداد ونسب جراثيم السالمونيلا المنتجة لإنزيم البيتالاكتاميز	اعداد العزلات
10(62.5%)	6(37.5%)	16



الشكل رقم (14) النسب المئوية لعزلات السالمونيلا المنتجة لإنزيم الـ ß -lactamase الطيف الممتد من نوع *ampC* عن طريق طريقة الانتشار القرصي.



الشكل رقم (15) A: نتيجة موجبة لعُزلة السالمونيلا المنتجة لإنزيم الـ ß -lactamase من النوع *ampC*

(القطر أقل من 18 ملم)

B: نتيجة سالبة لعُزلة السالمونيلا غير المنتجة لإنزيم الـ ß -lactamase (القطراكثر من 18 ملم).

4.6. اختبار الادمصاص(الامتزاز) المناعي المرتبط بالانزيم (الاليزا) :Enzyme- Linked Immuno sorbent Assay

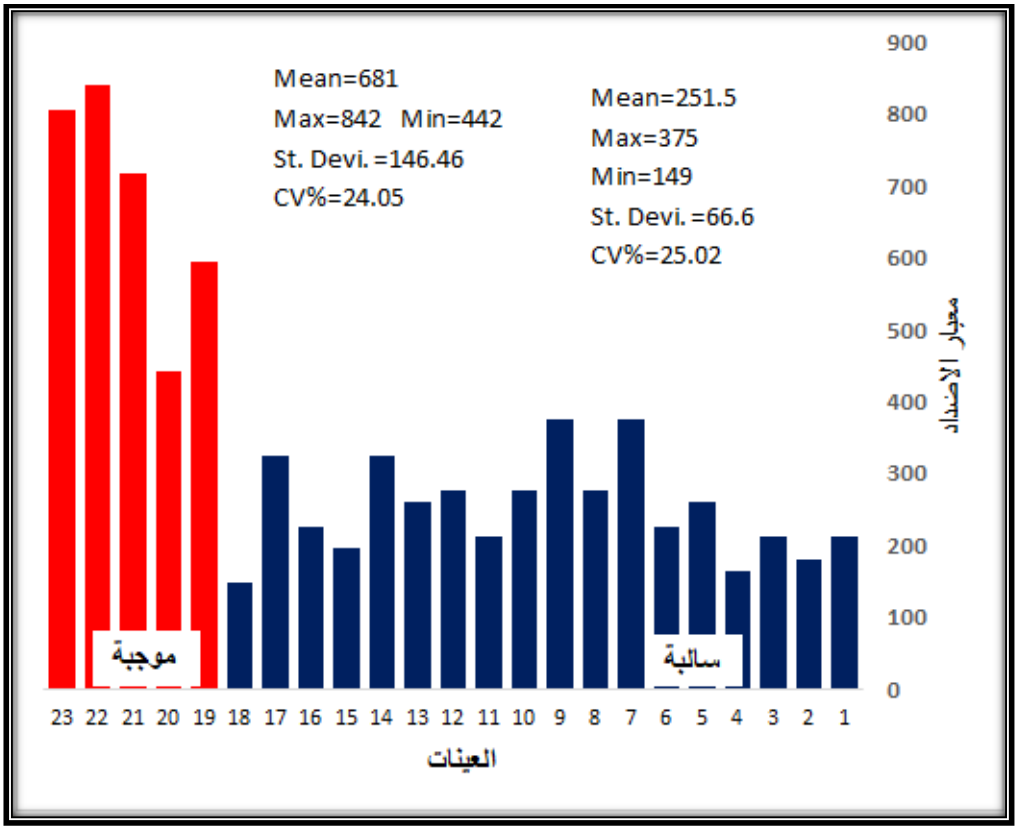
أجُريَ أختبار الاليزا لـ 92 عينة مصل والتي تم جمعها من الحالات المرضية للحمام غير البالغ والحمام البالغ بإستخدام عدة الاليزا *Salmonella Enteritidis* Antibody Test Kit لشركة IDEXX الامريكية.

إذ وجدَ أن 5 عينات من مجموع 23 (21.73%) للحمام غير البالغ كانت حاملة لاضداد *S. Enteritides* باستخدام تقنية IDEXX iELISA. وبمتوسط حسابي 681 وهو أعلى من المتوسط الحسابي للعينات السالبة (251.5) الجدول (18) والشكل (16،17). في الحمام البالغ ظهر أن 8 عينات من مجموع 69 عينة (11.59%) كانت تحوي أضداد لـ *S. Enteritides* مقابل العينات السالبة 69/61 (88.40%). وكان معدل المعيار الحسابي لأضداد عينات الحمام البالغ (793.62) وهو أعلى من معدل العينات السالبة (202.65)، كما موضح في الجدول رقم(18).

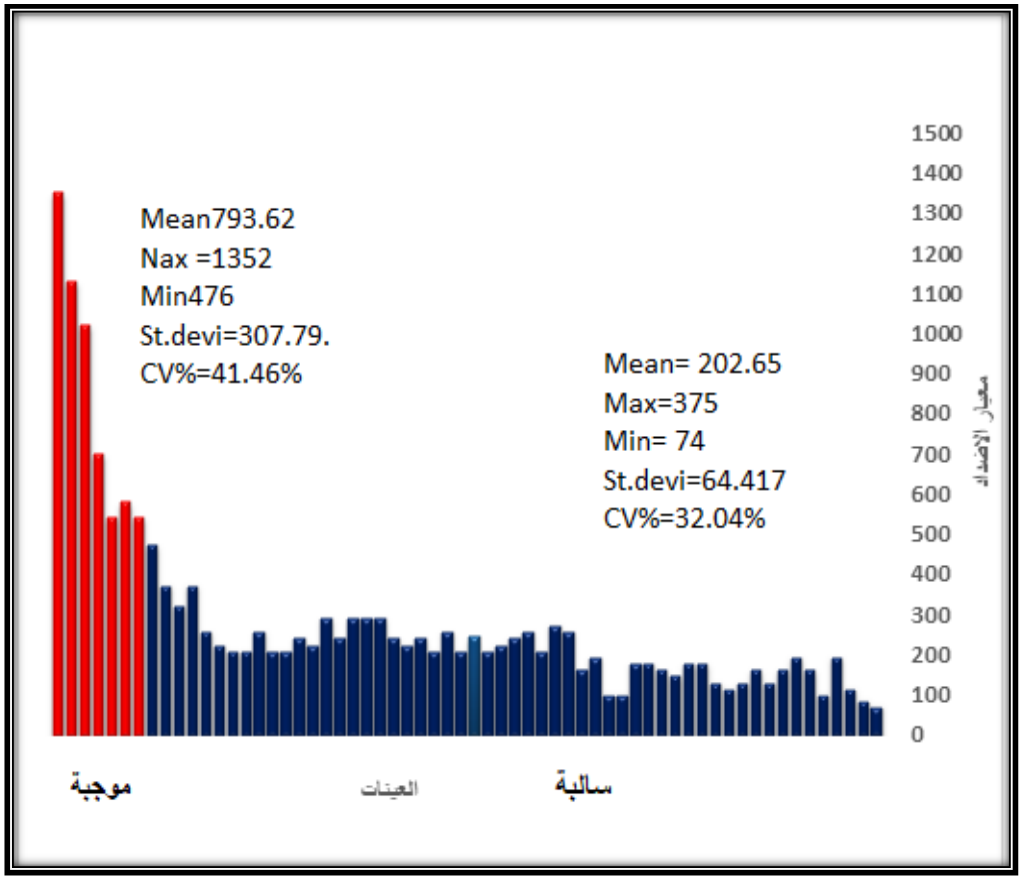
الجدول رقم(18) متوسط معيار الأجسام المضادة لـ *S. Enteritides* للحمام غير البالغ والحمام البالغ.

العدد الكلي للعينات	الموجبة		مستوى الاضداد	السالبة		مستوى الاضداد
	العدد	%		العدد	%	
الحمام غير البالغ (اقل من 6 اشهر)						
mean± SD						
23	5	21.73	681± 146.46*	18	78.26	251.5
الحمام البالغ (اكثر من 6 اشهر)						
mean± SD						
69	8	11.59	793.62± 307.79*	61	88.40	202.65

*وجود فرق معنوي عند مستوى احتمالية ($P \leq 0.05$) .



الشكل رقم (16) معدل معيارالاضداد لـ *S. Enteritides* في الحمام غير البالغ (أقل من 6 أشهر).

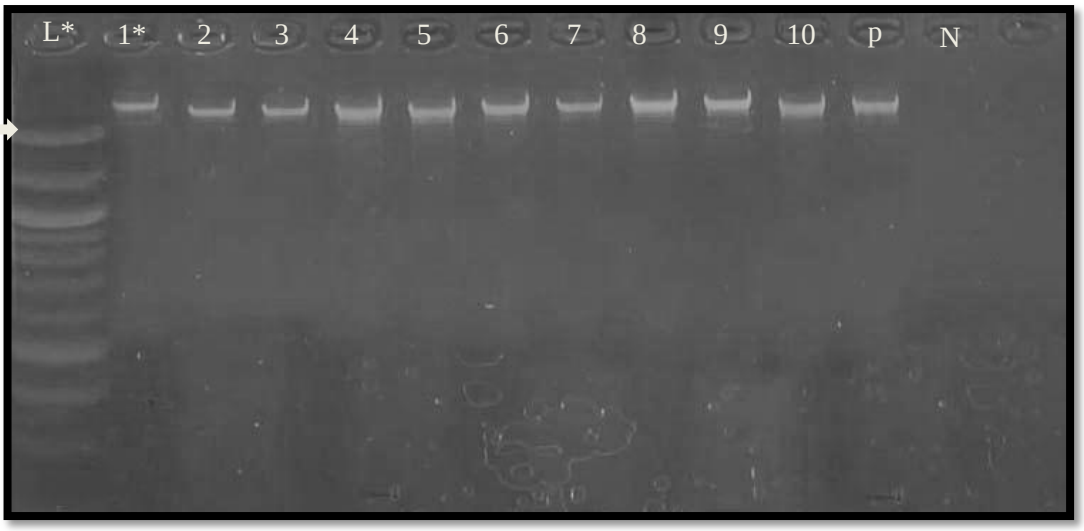


الشكل رقم(17) معدل معيارالاضداد لـ *S. Enteritides* في الحمام البالغ (اكثر من 6 أشهر).

4.7. الاختبار البايولوجي الجزيئي:

4.7.1. استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين:

اعتمد التشخيص الجزيئي لجرثومة السالمونيلا على منطقة 16SrRNA حيثُ أظهرت نتائج استخلاص الحامض النووي منقوص الاوكسجين الحصول على حزم نقية وبتركيز عالٍ كما موضح في الشكل رقم(18).



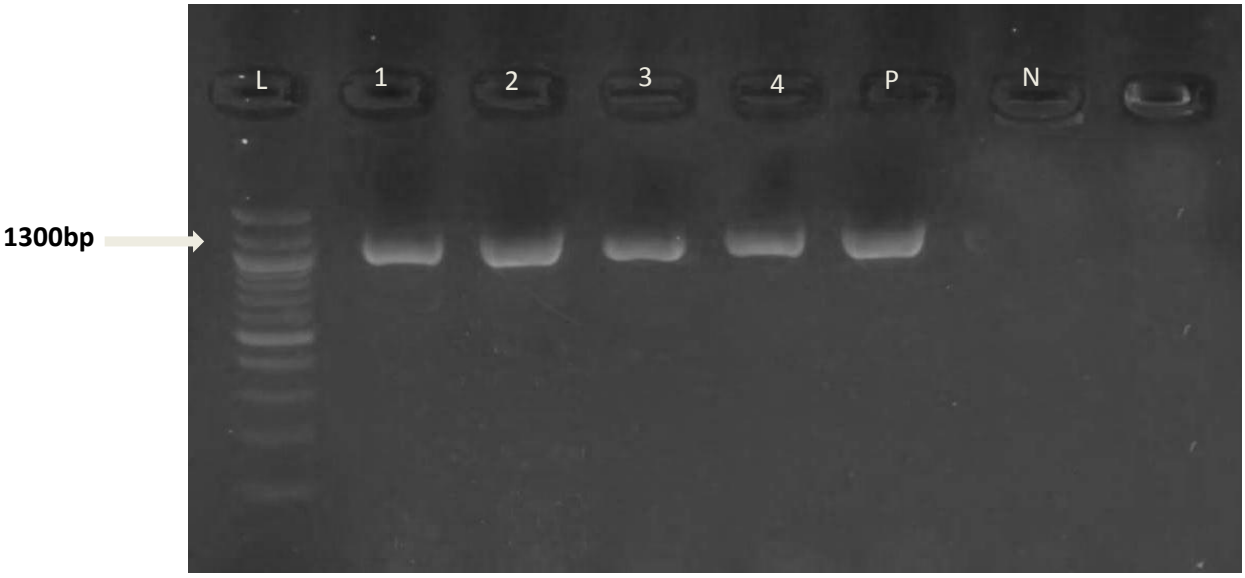
الشكل رقم(18) يُمثل صورة الجينوم المستخلص من جرثومة السالمونيلا بناتج تفاعل 100bp والمُرحل بهُلام الاكاروز بتركيز 1%

*** 1 – 10 =العينات، *L= السلم ، P = السيطرة الموجبة ، N = السيطرة السالبة**

4.7.2. تفاعل البلمره المتسلسل (PCR):

التشخيص الجزيئي لجراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام بالاعتماد على منطقة الـ 16SrRNA:

تم ارسال تفاعل الـ PCR للتسلسلات الجينية الى بنك الجينات GenBank لعزلات السالمونيلا الماخوذة من غسول ايدي المربين (عينة رقم 1) ، عينة من الفرشة (عينة رقم 2)، عينة من الحمام غير البالغ (عينة رقم 3) ، عينة من الحمام البالغ (عينة رقم 4)، وكانت النتائج كما هي موضحة في الشكل رقم(19).

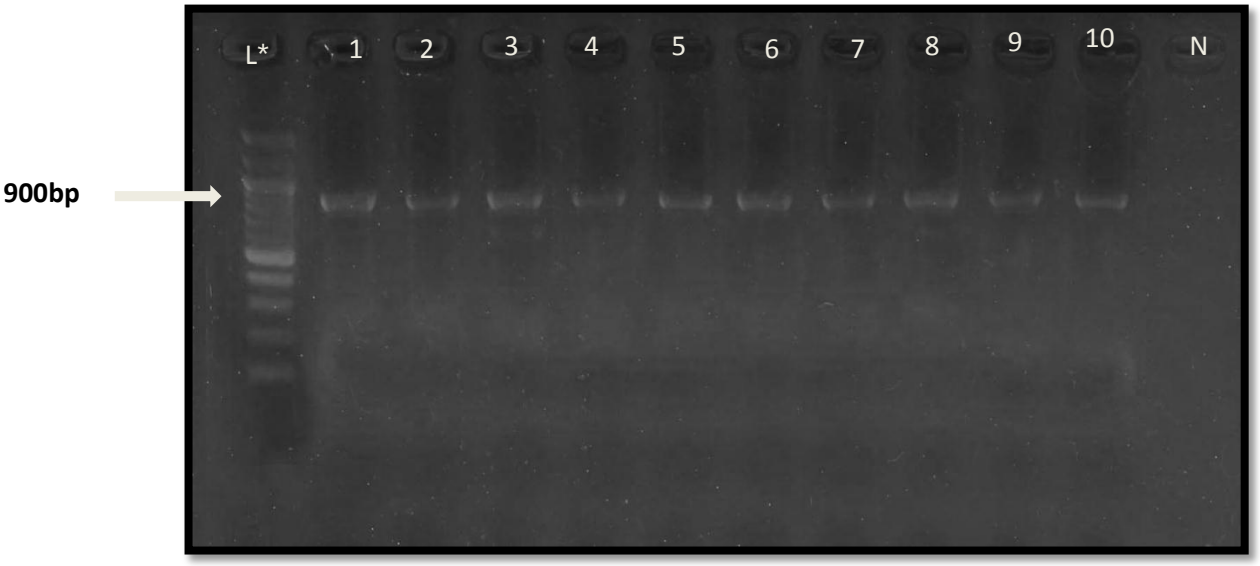


الشكل رقم (19) يُمثل ناتج تفاعل الـ PCR لمنطقة الـ 16Sr RNA للبكتريا وبناتج تفاعل 1300bp والمُرحل في هُلام الاكاروز بتركيز 1.5%

4-1 = العينات ، L = السلم، ، P = السيطرة الموجبة ، N = السيطرة السالبة

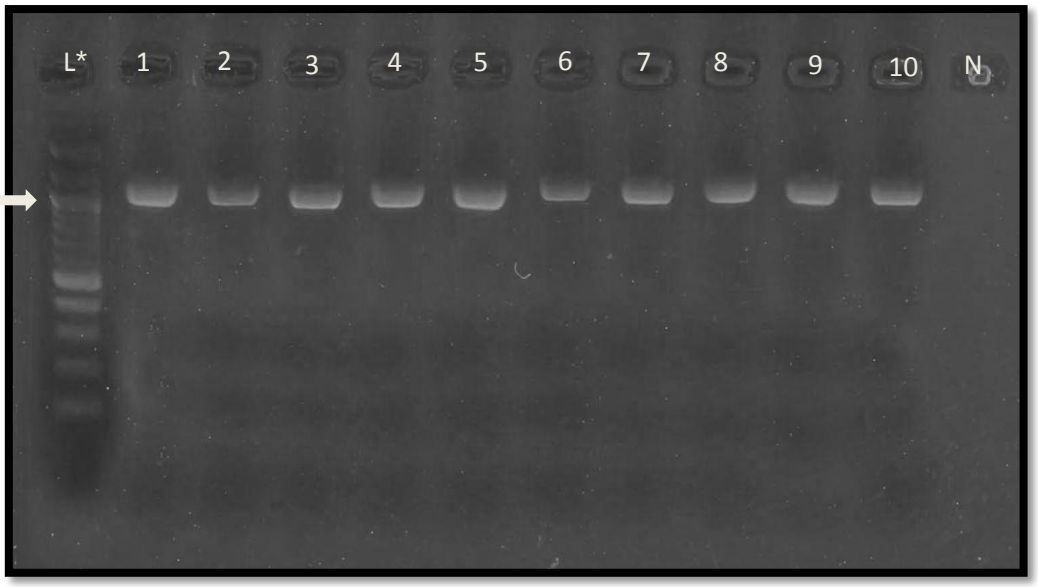
4.8. التحري عن جينات الضراوة في جراثيم السالمونيلا:

أوضحت نتائج تفاعل تضاعف سلسلة متعدد البلمرة PCR لعشرة من عزلات السالمونيلا ووجود ثلاثة انواع من عوامل الضراوة لعينات السالمونيلا المعزولة من الحمام وبيئتهُ (10 عزلات) وكما هو موضح في الأشكال (20،21،22) والجدول رقم (19).



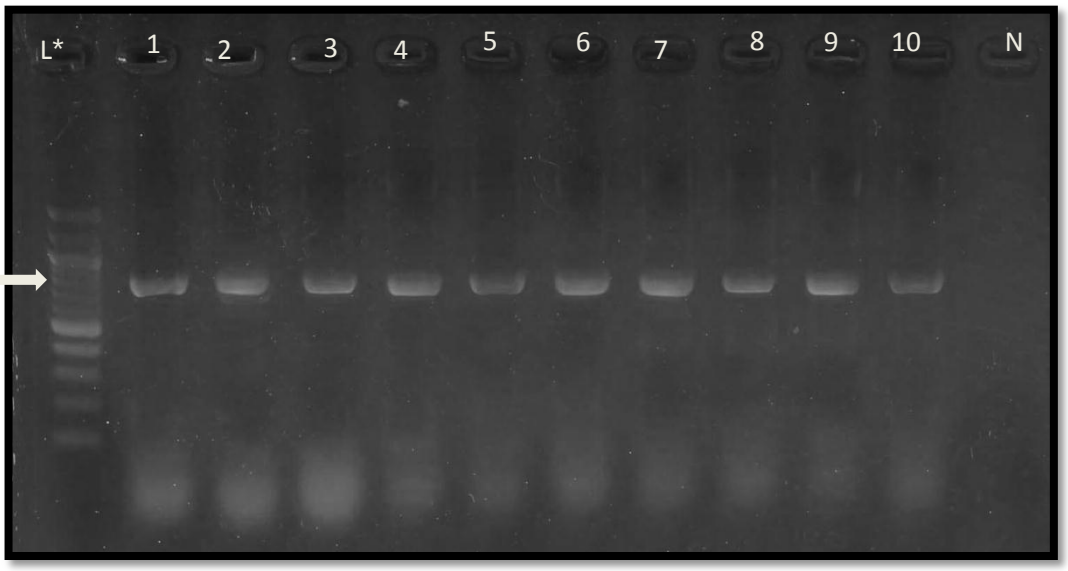
الشكل رقم(20) يُمثل ناتج تفاعل الـ PCR للجين *IroN* في جرثومة السالمونيلا بناتج تفاعل 900 bp والمُرحل بهُلام الاكاروز بتركيز2%.

***L= السلم، 1 – 10 =العينات ، N = السيطرة السالبة**



الشكل رقم (21) يُمثل ناتج تفاعل الـ PCR للجين *IucC* في البكتريا بناتج تفاعل 1100 bp والمُرحل بهُلام الاكاروز بتركيز 2%.

***L= السلم، 1 – 10 =العينات ، N = السيطرة السالبة**



الشكل رقم (22) يُمثل ناتج تفاعل الـ PCR للجين *IucD* في البكتريا بناتج تفاعل 750 bp والمُرحل بهُلام الاكاروز بتركيز 2%.

***L= السلم، 1 – 10 =العينات ، N = السيطرة السالبة**

يتضح من الاشكال اعلاه أنَ جميع عُزلات السالمونيلا التي تم فحصها حاوية على عوامل الضراوة *IucC* و *IucD* و*IroN* وبنسبة (100%). أظهرت النتائج ان العينة رقم 1 المأخوذه من غسول ايدي المربين تعود إلى

Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium
Var.5-str.CFSANOO4345 chromosome, complete genome
Sequence ID: CP6743302-1 Length: 4750952 Number of Matches: 1

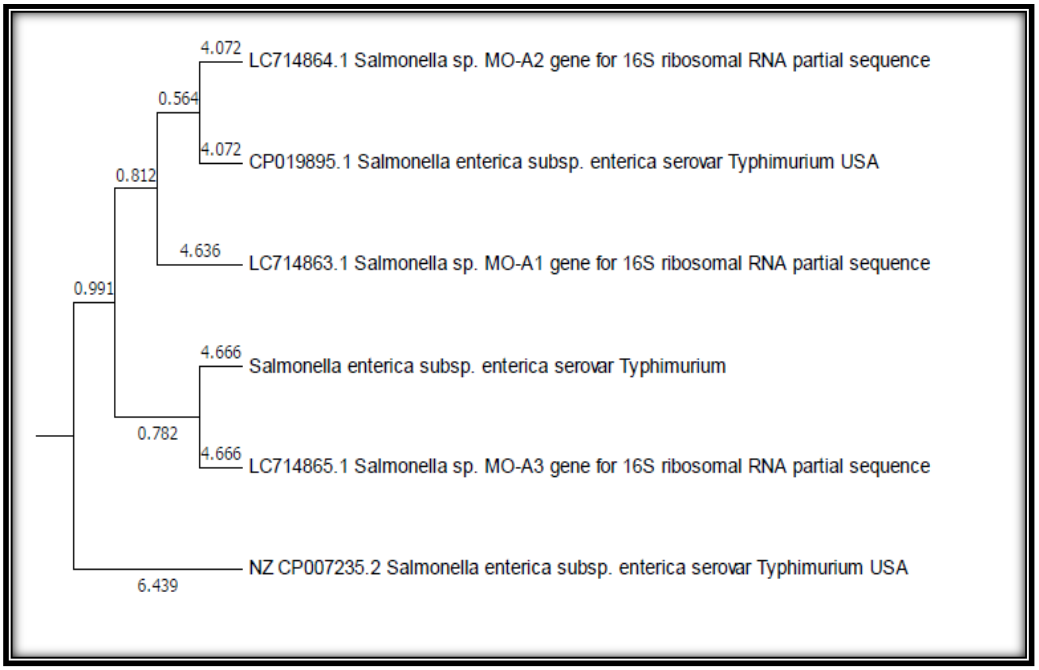
كما وأظهرت النتائج ولأول مرة في العراق وفي مدينة الموصل تسجيل ثلاث سلالات جينية جديدة للسالمونيلا وهي MO-A1 عزلة سالمونيلا من الفرشة (عينة رقم 2)،

وMO-A2 عزلة سالمونيلا من الحمام غير البالغ (عينة رقم 3) ، وMO-A3 عزلة سالمونيلا من الحمام البالغ (عينة رقم 4) وكما هي موضحة في الجدول رقم(19).

الجدول رقم(19) تسجيل ثلاث سلالات جينية جديدة للسالمونيلا المعزولة من الحمام وبيئتهُ في بنك الجينات.

نوع العينات	نتائج التسلسل
غسول ايدي المربين	*Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium* var.5-str.CFSANOO4345 chromosome, complete genome Sequence ID: CP6743302-1 Length: 4750952 Number of Matches:1
الفرشة	LOCUS LC714863 889 bp DNA linear BCT 11-JUN-2022DEFINITION *Salmonella spp. MO-A1* gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence.
الحمام غير البالغ	LOCUS LC714864 1249 bp DNA linear BCT 11-JUN-2022DEFINITION *Salmonella spp. MO-A2* gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence
الحمام البالغ	LOCUS LC714865 1504 bp DNA linear BCT 11-JUN-2022DEFINITION *Salmonella spp. MO-A3* gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence

توضح شجرة النشوء والتطور من خلال مقارنة التسلسلات التي تم الحصول عليها مع المراجع والتسلسلات في بنك الجينات GenBank الخاص بجراثيم السالمونيلا *Salmonella spp* .وكما هو موضح في الشكل رقم (23).



الشكل رقم (23) علاقة النشوء والتطور في جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحمام وبيئتهُ والعزلات المسجلة في بنك الجينات.

أظهرت شجرة النشوء والتطور أن جراثيم السالمونيلا مع رقم الانضمام LC14864.1 ((MO-A2 يتطابق مع سلالة Salmonella enterica subsp enterica serovar thyphimurium USA لذلك قد تكون هي نفس النوع، حيثُ لم تختلفا في علاقة النشوء والتطور. تختلف السالمونيلا برقم الانضمام LC714863.1 ((MO-A1 عن Salmonella enterica subsp enterica serovar thyphimurium USA بدرجة 0.564. تتطابق أنواع السالمونيلا الثالثة ((MO-A3التي تحمل رقم الانضمام LC714865.1 مع السالمونيلا المعوية Salmonella enterica subsp enterica serovar thyphimurium ولكنها تختلف عن الأنواع الأخرى بدرجة 0.782. هذا يعني أن لدينا ثلاثة أنواع مختلفة قريبة من السالمونيلا المعوية

Salmonellaenterica subsp. enterica serovar thyphimurium

الفصل الخامس

المناقشة

Discussion

تُعد الاصابة بجراثيم السالمونيلا واحدة من أهم المشاكل الصحية والاقتصادية التي تُصيب كلاً من الانسان والحيوان حول العالم، وتسبب خسائر اقتصادية مباشرة في الانتاج الحيواني كضعف النمو والهلاكات فضلاً عن طرح هذه الجراثيم من قبل الطيور المصابة مؤدية الى تلوث المحيط واصابة الكائنات الحية المحيطة بها فضلا عن الخسائر الاقتصادية غير مباشرة الناتجة عن تلوث السلسلة الغذائية التي تسبب اصابات في المستهلك مما يؤدي الى اتلاف تلك المواد الغذائية وخصوصاً اللحوم Food borne infection (Mridha *et al*., 2020).

أنه وعلى الرغم من أهمية الطيور، إلا أن هناك حاجة لتوفير المعلومات والبيانات للقطاع الزراعي والصحي وتحديد تأثير المرض على الانسان والحيوان وسلوك المرض وحركة المرض والوقوف على انتشار هذه الجراثيم الذي سيمهد الطريق لبرامج فعالة في مكافحتها.

5.1. نسب عزل جراثيم السالمونيلا من الحمام في محافظة نينوى:

في هذه الدراسة تم عزل جراثيم السالمونيلا من الحمام وتشخيصها بعدة مراحل بدأ باستنبات العينات على وسائط انتقائية ، وعمل صبغة غرام ، واجراءالاختبارات الكيمو حيوية ، وقياس مستوى الاضداد باستخدام تقنية الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم ELISA واجراء اختبارتفاعل البلمرة المتسلسل PCR (Catarame *et al*.,2006).

ففي هذه الدراسة بلغت النسبة الكلية لعزل جراثيم السالمونيلا (15%) من مجموع (550عينة) تم جمعها من الحمام البالغ والحمام غير البالغ والبيئة المحيطة بها (الفرشة، المعالف، المناهل وأيدي المربين) ومن مناطق مختلفة في محافظة نينوى خلال الفترة من شهر تشرين الثاني 2021 لغاية اذار 2022. وتُعد هذه النسبة مرتفعة عند مقارنتها بالنسب التي ذُكرت في الدراسات الاخرى في العديد من البلدان العربية مثل مصر والسعودية والاوربية مثل بلجيكا وغيرها. إذ أشار الباحث (Al-Aalim,2017) أن نسبة عزل جراثيم السالمونيلا بلغت (8%) أخذت من 75 طائراً، توزعت على ثلاثة انماط مصلية كانت فيها جراثيم الـ *Salmonella typhimurium* الأكثر تكراراً وبنسبة (4%) تلتها *Salmonella newport* بنسبة (2.67%) واخيراً *S. emek* بنسبة (1.33%)، وكذلك كانت نتائجها أعلى مما سجل في

المملكة العربية السعودية (2%) (Abulreesh, 2011) ، وفي بلجيكا إذ بلغت النسبة المئوية للنمط المصلي *Salmonella typhimurium* (3.3%) (Pasmans *et al*.,2004)، وفي اليابان (3.9%) (Tanaka *et al*., 2005) ، وفي البرازيل (7.9%) للأنماط المصلية S. *Typhimurium* و *Salmonella enterica subsp. enterica*

(De Sousa *et al*., 2010) كما وأظهرت دراسة أجريت في اليونان أن نسبة الحمام المصاب بلغت (8.6%) (Georgiades and Iordanidis, 2002)

وفيما يخص عزل جراثيم السالمونيلا من مزارع تربية الحمام فقد كانت نتائجنا أعلى من تلك المسجلة من قبل (Casanovas *et al*. ,1995) وهي (1.4٪) من 18 مزرعة تحتوي على 1110 من الحمام غير البالغ ؛ و (3.4٪) من مزرعة تحتوي على 250 من الحمام غير البالغ و (1.4٪) من 23 مزرعة تحوي 2900 للحمام غير البالغ. ألا انهُ وفي الجانب الآخر فإن نتائجنا تُعد أقل من تلك التي سجلها (González-Acuna *et al*.,2007) والتي أشاروا فيها إلى نسبة عزل بلغت (80%) في أربع من مجموع خمس مزارع لتربية الحمام حيثُ بلغت نسبة عزل جراثيم الـ *Salmonella Enteritides* (90.0%)

وفيما يتعلق بالحمام المجزور فقد سجلَ الباحثان (Ibrahim, 2008) نسبة عزل لجراثيم السالمونيلا بلغت (2%) للنمط المصلي *S. Typhimurium* و(12%) لنفس النمط من قبل (Kinjo *et al*., 1983) في الحمام البالغ وكان للكبد النسبة الاكبرللعزل إذ بلغَ (8%).

5.2. نسب عزل جراثيم السالمونيلا من بيئة تربية الحمام:

يُشكل وجود السالمونيلا في العينات المدروسة تهديدًا كبيرًا على الصحة العامة إذ بلغت النسبة الكلية لعينات المحيط (20%) جُمعت من 150 عينة وشملت (الفرشة ، المعالف والمناهل) و 5 عينات من غسول الأيدي وقارنت نتائج الدراسة من النتائج التي حصل عليها الباحثون (Almamun *et al*., 2017) ، عند تسجيلهم نسبة 28.56٪، للدراسة التي تم فيها عزل جراثيم السالمونيلا من 192 عينة شملت البراز والأواني ومياه الشرب قام بها الباحث(*et* Pasmans *al*., 2004) وجماعتهُ حيثُ بلغَ اجمالي السلالات المعزولة 112 موزعتاً على خمسة انماط مصلية 87 منها (77.6%) تعود لـ *S. Enteritidis* والسلالات المتبقية توزعت بالتساوي بين *S. Typhimurium* و *S. Virchow* و *S. Blockley* .

وفي دراسة لحظائر وأعلاف ومياه ومصائد حشرات مزرعتين لتربية الطيور تم الحصول على 59 عزلة من السالمونيلا وبنسبة أنماط مصلية *S. Enteritidis* و *S. Montevideo* بلغ على التوالي (24%) و(5%) (De Sousa *et al*., 2010) . وفي محاولة

لعزل جراثيم السالمونيلا من عينات براز الحمام والمربى في الابراج الخاصة به من قبل الباحثون (Toro *et al.*, 1999)عند فحصهم لـ 360 من عينات البراز والاعلاف أن هناك (110) عينة موجبة للبراز وبنسبة (30.5%) و(36)عينه موجبة لعزل السالمونيلا من الاعلاف وبنسبة (10%) سجلوا خلالها 28 نمطًاً مصلياً .

وأوضح (Lillehaug *et al.*, 2005) أن بُراز الحمام للطيور المصابة بالسالمونيلا يُشكل مصدر لأصابة المربين بها ومما قد يحمل مخاطر صحية على العاملين اثناء عملية التنظيف.

وتُعزى نسبة عزل جراثيم السالمونيلا من الحمام ومن محيط تربيتها في الدراسة الحالية الى كثافة الحمام في اقفاص التربية التي تحوي أعلافها ومياه الشرب(المناهل) مما يزيد من احتمال تلوثها ببراز الطيور وهذا كلهُ يساعد في نقله لجراثيم السالمونيلا إلى الطيور الأخرى ومربيها فضلاً عن وجود التقارب المستمر من خلال بيعها أو شرائها في أسواق الطيورالحية .

كما تلعب الممارسات السيئة لتدابير الأمن البيولوجي مثل انخفاض مستوى عمليات التنظيف والصرف الصحي و التداخل الحاصل بين البيئة والموقع الجغرافي، إذ يُعتقد ان حرية حركة الحمام تساعد في نقل العدوى عن طريق الاحتكاك المباشر او غير المباشر مع الطيور والحيوانات المصابة او الحاملة لجراثيم السالمونيلا، خصوصاً الطيور البرية ، وأن عزل أنماط مصلية متشابهة في نفس المنطقة من الحمام والخنازير مثلاً هو ماذهبَ اليه الباحث (Vico *et* and Mainar-Jaime, 2011) وجماعتهُ من خلال عزل انماط مصلية متطابقة من الحمام والخنازير دليل على انتقال العدوى بين الطيور وأنواع مختلفة من الحيوانات.

وهنا تظهرأهمية الصحة العامة إذ يتحتم تطبيق اسس واساليب الأمن البيولوجي ، والتخلص الآمن من نفايات الطيور إلى جانب الحفاظ على النظافة الشخصية اللازمة لتقليل احتمالية الإصابة بالسالمونيلا وانتقالها للإنسان وكذلك خلق الوعي بشأن الممارسات الصحية الجيدة لتربية الحمام ليسهم ذلك في تطبيق مفهوم الصحة الواحدة "One Health".

أن الاصابة العالية بجراثيم السالمونيلا والمسجلة في دراستنا والفرق بين نسبة الاصابة بين الحمام البالغ والحمام غير البالغ يعتمد في النهاية على التوازن بين ضراوة وإمراضية السالمونيلا اضافة إلى حالة المضيف الصحية والمناعية وعمر الطائر ونوع العليقة.

5.3. حساسية جراثيم السالمونيلا للمضادات الحيوية:

لتحديد حساسية جراثيم السالمونيلا المعزولة في هذة الدراسة من الحمام وبيئتهُ والمربين أستُخدمَ 16 نوعا من المضادات الحيوية بطريقة الانتشار القرصي. وكانت النتائج وجود نسب

حساسية ومقاومة متفاوتة لتلك الجراثيم المعزولة من الحمام البالغ ومن صغارالحمام والمحيط والمربين ايضاً، فقد أظهرت جراثيم السالمونيلا حساسية عالية لكل من المضادات الحيوية Gentamycinو Neomycin و Norfloxacin و Cephalaxin ،ومقاومة عالية للمضادات الحيوية-Colistin, Florphenicol, Ciprofloxacin, sulphamethaxazole trimethoprim .

وهو عكس ما أظهرتهُ دراسة (Al-Aalim,2017) بأن العزلات التى تم فحصها من قبلهم كانت حساسة بنسبة عالية لـ Ciprofloxacin, Sulphamethaxazole- trimethoprim ، على الرغم من أن الممارسة الطبية البيطرية بالاستخدام المكثف والعشوائي للمضادات الحيوية البيطرية في معالجة حالات الاصابة بالسالمونيلا قد ساعدت الى حد كبير في هذه الاختلافات ، وزادت في الوقت ذاتهُ من مقاومة المضادات الحيوية ، وكما يُمكن إرجاع مقاومة المضادات الحيوية المختلفة إلى المقاومة التبادلية (Pouwels *et al*., 2019)، والذي ساعد في ذلك إلى حد كبير الاستخدام العشوائي والمفرط في العلاجات السريرية للمضادات الحيوية في ظهور مشكلة مقاومة مضادات الميكروبات كمسألة صحية عامة متجدده وخطيرة (Zwe *et al*. 2018،). فالمقاومة المشتركة لثلاث فئات مختلفة أو أكثر من المضادات الحيوية (MDR) كانت قد أشير اليها من قبل العديد من الباحثين (Hosain *et al*., 2012).

ويمكن القول أن دائرة انتقال السالمونيلا بين بيئة الإنسان والحمام قد تُسهم في انتشار السالمونيلا والمقاومة للمضادات الحيوية وهو ما يؤدي الى زيادة تكلفة الرعاية الصحية (Barreto *et al*., 2016) التي تعطينا مفهوم ان السالمونيلا تُعد بذلك من "مسببات الأمراض ذات الأولوية" ليكون بعدها الهدف هو في توجيه وتعزيز البحث والتطوير في إيجاد المضادات الحيوية بأجيال جديده ليتسنى الوصول الى علاج ناجح (Zinnah *et al*., 2008).

فضلاً عن ذلك ، فمقاومة السالمونيلا للمضادات الحيوية يمكن ان يحدث عن طريق أكتساب طفرات جينات مقاومة خارجية تحملها عناصر وراثية متحركة التي تنتشر أفقياً بين البكتيريا (Ferri *et al*.,2017) أو من خلال الآليات المقاومة التي تشمل تثبيط الدواء ، أو باستخدام مضخات التدفق بعد دخول الدواء الى الخلايا البكتيرية كما في الستربتومايسين ، والسبيكتينوميسين ، والسلفونااميدات ، والكلورامفينيكول ، والفلورفينيكول ، والتتراسيكلين، بالإضافة الى مضادات الحيوية للبيتا لاكتام (Munita and Arias,2016 ; Doudard *et al*., 2010; Silva *et al*., 2012)

5.4. نسب عزل جراثيم السالمونيلا المنتجة للبيتالاكتاميز من الحمام في محافظة نينوى:

أظهرت طريقة المقياس الحمضي ان عدد العزلات المنتجة للبيتالاكتاميز 13 عزلة من اصل 16 عزلة وبنسبة (81.25%) والنسبة المئوية لعزلات السالمونيلا التي تنتج الطيف الموسع للبيتالاكتاميز B-lactamases بطريقة انتشار القرص الأولي (7) عزلات وبنسبة (43.75%)، وان جراثيم السالمونيلا التي تنتج الطيف الموسع منB-lactamases نوع *ampC* عن طريق طريقة انتشار القرص 6 عزلات (37.5%) (Wayne,2011) .

أشارت العديد من البحوث حول العالم الى ان العديد من عزلات جراثيم السالمونيلا تنتج انزيم البيتا لاكتاميز، وسجل (Im *et al.*,2015) عزلات سالمونيلا منتجة للبيتا لاكتاميز في طيور الحمام المهاجرة. إن الآلية الأكثر شيوعاً لمقاومة بيتا لاكتام في الجراثيم سالبة الصبغة هي إنتاج الـ β-lactamase.

أن إنزيمات البيتا لاكتاميزات (β-lactamases) المنتجة من قبل البكتريا توفر مقاومة متعددة لمضادات بيتا لاكتام الحيوية مثل البنسلين والسيفالوسبورينات والتي تحتوي على حلقة من أربع ذرات تُعرف باسم حلقة بيتا لاكتام. تعمل انزيمات الـ β-lactamase على كسر حلقة β-lactam المتواجدة في المضادات الحيوية واسعة الطيف اوكسيمينو بوساطة التحلل المائي مما يؤدي الى فقدان هذه المضادات الى فعاليتها السمية للجراثيم (Jacoby *et al.*, 2002).

5.5. معايير الاضداد لـ *S. Enteritidis* في الحمام غير البالغ والحمام البالغ بإستخدام تقنية الـ iELISA:

بسبب ندرة وجود تقارير حول تقدير معيار الاضداد لجراثيم السالمونيلا . *Salmonella spp* في الحمام ، لذلك حاولنا مقارنة النتائج التي توصلنا إليها لمعيار الاضداد *S. Enteritidis* في الحمام غير البالغ والحمام البالغ المعرض طبيعياً للأصابة بجراثيم السالمونيلا حيثُ كان متوسط معيار الاضداد 681.26 و 793على التوالي (Ibrahim, 2008).

5.6. تحديد عوامل الفوعة لجراثيم السالمونيلا باستخدام تفاعل البلمرة المتسلسل(PCR):

تعتمد قُدرة مسببات الأمراض البكتيرية على الاستعمار والإصابة وتسبب المرض لقدرتها على مقاومة المضادات الحيوية والمركبات المضادة للميكروبات التي ينتجها المضيف وكذلك اليات مناعة الجسم.

وقد تحمل العديد من البكتيريا المسببة للأمراض جينات الخاصة بالفوعة على البلازميدات أو العناصر الوراثية المتنقلة الأخرى التي تساعدها في غزو الخلية والبقاء داخلها ومنها السموم التي تقتل الخلايا الحيوانية ، والبعض الآخر يساعدها على الالتصاق بالخلايا الحيوانية وغزوها ، بينما تحمي عوامل أخرى البكتيريا من دفاعات الجهاز المناعي (Groisman and Ochman,1996).ان لجراثيم السالمونيلا القدرة على الدخول للمضيف وغزوه وإلحاق الضرر به وبالتالي احداثها للأصابة. وتمتلك جراثيم السالمونيلا عدة عوامل تمكنها من تعزيز ضراوتها (درجة الإمراضية) في أحداث المرض ومنها السمية ، ودرجة الضرر الذي تسببه المادة السامة والتوغل والقدرة على اختراق المضيف والانتشار (Madigan *et al*., 2009).

تميل جينات الفوعة إلى التجمع في مناطق تُعرف بأسم جزر الإمراضية (PAIs) هي مجموعات جينية مدمجة في الجينوم ، كروموسوميًا أو خارج الصبغيات ، للكائنات المسببة للأمراض قد تكون موجودة على كروموسوم بكتيري أو يمكن نقلها داخل بلازميد أو يمكن العثور عليها في جينومات العاثيات (Beceiro *et al*., 2013).

تتشابه عوامل الفوعة والمقاومة في أن معظم المحددات قد انتقلت بين الأنواع أو الأجناس عن طريق النقل الجيني الأفقي (HGT) ؛ من المحتمل أن يكون نقل شظايا الحمض النووي (العناصر الجينية المتنقلة [MGEs]) هو الآلية الجينية الرئيسية لنشر وانتقاء جينات الفوعة والمقاومة ، على الرغم من أن الآليات الأخرى مثل الطفرات التعويضية أو التكيفية قد تشارك أيضًا (Burrus and Waldor 2004; Handel *et al*., 2006).

غالبًا ما ترتبط مقاومة المضادات الحيوية بالعدوى ، ومن ثمَ فهي مرتبطة أيضاً بالفوعة ، كما هو الحال في الكائنات الحية الدقيقة المنتجة للغشاء الحيوي أو العدوى داخل الخلايا (Patel, 2005; Seral *et al*.,2003).

واحتواء جراثيم السالمونيلا المعزولة في دراستنا على Siderophres مثل *IucC* ، *Iuc* ، *D* ، *iroN* كمخالب لسحب عنصر الحديد من انسجة المضيف واستخدامه من قبل الجراثيم في نموها وتكاثرها وفوعتها (Stefanie *et al*., 2019) .

الفصل السادس

الأستنتاجات والتوصيات

Conclusion and Recommendation

6.1. الاستنتاجات:

1- تم عزل جراثيم السالمونيلا من الحمام البالغ بنسبة (17%) اعلى من الحمام غير البالغ(9.23%).

2- تم عزل جراثيم السالمونيلا من بيئة تربية الحمام وبنسبة(30%) وهيا اعلى من نسب الحمام.

3- تم الكشف عن وجود اضداد للـ *S.Enteritidis* في مصل الحمام غير البالغ بمعيار اقل من معياره في الحمام البالغ باستخدام تقنية الاليزا على الرغم من عدم تلقيحهُما بلقاح ضد مرض السالمونيلا.

4- لوحظ تقارب بين حساسية جراثيم السالمونيلا لمختلف المضادات الحيوية في كل من الحمام البالغ وغير البالغ والبيئة المحيطة بها بحساسية عالية للـ Gentamycin, Neomycin, Norfloxacin ومقاومة عالية ضد ciprofloxacin وColistin و Florphenicol.

5- أظهرت بعض عزلات السالمونيلا القابلية على إنتاج إنزيم البيتا لاكتاميز للطيف الموسع *ESBL* وكذلك من نوع *ESBL-ampC*.

6- سُجلَ ولأول مرة ثلاث جينات جديدة لعزلات جراثيم السالمونيلا المأخوذة من الحمام البالغ وغير البالغ والبيئه المحيطة بها وهي MO-A1 و MO-A2 و MO-A3.

7- تم تأكيد وجود عوامل الضراوة وهي *Iro N, IucC, IucD* لعُزلات السالمونيلا المأخوذة من الحمام البالغ وغير البالغ والبيئه المحيطة بها وبنسبة 100% في كافة العزلات المفحوصة بأستخدام تقنية الـ PCR.

6.2. التوصيات:

1- أدخال طريقة التلازن او التجلط السريعة (Rapid Agglutination Test) في المستشفيات والعيادات البيطرية في الكشف المبكر عن الاصابة بجراثيم السالمونيلا.
2- أجراء التنميط البيولوجي المصلي لتحديد انواع السالمونيلا المعزولة من الحمام.
3- أجراء دراسة وبائية في عموم محافظات العراق لمعرفة مدى انتشار عُزلات جراثيم السالمونيلا المتشابهه جينيا لتحديد طرائق السيطرة علىها واتباع برامج خاصة لمنع انتشار المرض في محافظة نينوى بشكل خاص وفي قطرنا بشكل عام.
4- تجنُب الأستخدام العشوائي للمضادات الحيوية ولاسيما تلك ذات الاستخدام المزدوج إلا بعدَ أجراء اختبار الحساسية لما لهُ من الأثر الكبير في تطور مقاومة هذه الجراثيم ضد مختلف انواع المضادات المستخدمة في الانسان.
5- استخدام الطرق المناعية المناسبة لتحديد معيار الاجسام المضادة مثل (ELISA) لمعرفة مدى التعرض الطبيعي لجراثيم السالمونيلا والشروع في اعطاء اللقاحات.
6- أستخدام تقنية تفاعل البلمره المتسلسل(PCR) للكشف عن أنماط مصلية غير مسجلة محلياً.

المصادر

References

أولاً: المصادر العربية

الشيخلي، فؤاد ابراهيم والجلبي، زهير حمد ومهدي، نضال رؤوف.(1989). حساسية جراثيم السالمونيلا المعزولة من دجاج اللحم للمضادات الحيوية المستعملة في تربية الدواجن. فرع امراض الدواجن، فرع الاحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد. المجلة البيطرية. العدد 7.

حداد، جاسب جاسم . (1991). علم الأحياء المجهرية البيطرية ، اساسيات علم الجراثيم . الجزء الاول ، دار الحرية للطباعة والنشر ، جامعة الموصل . 108.

عمار محمود العالم، سمية ياسين الدباغ، هيفاء حسين الخزعلي & ,مزاحم ياسين العطار. (2019). تنمية جراثيم السالمونيلا المعوية النمط المصلي تايفيميوريم في اجنة بيض الدواج ن.(2)33 ، المجلة العراقية للعلوم البيطرية.

ثانياً: المصادر الاجنبية

Abulreesh, H. H. (2011). Free Living Rock Pigeon (Columba livia) as an Environmental Reservoir of Enteric Bacterial Pathogens Resistant to Antimicrobial Drugs in Saudi Arabia. Current Research in Bacteriology, 4(1), 28-33.

Ahmed, S. Y. A. (2015). Seroprevalence of salmonellosis among pigeon and its surrounding environment and isolation of Salmonella species. International Journal of Science and Research.

Al-Aalim, A. M. (2017). Isolation and identification of Salmonella microorganisms from pigeons and their pathogenicity in broiler chicks. Bas J Vet Res, 16(1), 333-47.

Albrecht, A., & Kampfer, P. (2001). Microbial endangering of workers by faeces of pigeons-Part 1: Literature review. Gefahrstoffe Reinhaltung Der Luft, 61(3), 91-99.

Alejandro Beceiro, María Tomás, and Germán Bou. (2013). Antimicrobial Resistance and Virulence: a Successful or Deleterious Association in the Bacterial World? Clin Microbiol Rev. Apr; 26(2): 185–230.

Alexander, S. K. and Strete, D. (2001). Microbiology a photographic Atlas for the laboratory. 1st ed. Animprint of Addison Wesley Longman, Inc. , U. S. A. Pp. 105 – 107.

Allerberger, F., Liesegang, A., Grif, K., Prager, R., Danzl, J., Höck, F & Fisher, I. S. T. (2002). Salmonella enterica serotipo Dublin en Austria. Eurosurveillance, 7(4), 65-70.

Allen-Vercoe, E. and M.J. Woodward. (1999). Colonisation of the chicken caecum by afimbriate and aflagellate derivatives of Salmonella enterica serotype Enteritidis. Vet Microbiol. 69:265–275.

Almamun, A, M., M, I., Mostary, L., SK, S. I., AHM, T. A., & M. H., (2017). Molecular identification and characterization of Salmonella species isolated from poultry value chains of Gazipur and Tangail districts of Bangladesh. African Journal of Microbiology Research, 11(11), 474-481.

AL-Nakhli, H.M. ; AL-Ogaily , Z.H. and Nasser , T. J. (1999).Representative salmonella serovars isolated from poultry and poultry environment in Saudia Arabia . Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 18:700 – 709.

Angulo, F. J.; Tauxe, R. V. And Cohen, M. L. (1999). Significance and sources of antimicrobial –resistant nontyphoid Salmonella infection in human in United States. The need for prudent use of antimicrobial agent. Including restricted use of fluroquinalones, in food animals. Ministry of agriculture and food.

Atlas, RM. (1988). Microbiology. Fundamentals an Application, 2nd ed. Macmillan publishing company. New York .pp 55-63.

Baron S, editor. Medical Microbiology. 4th ed. Galveston (TX): University of Texas Medical Branch at Galveston; (1996). PMID: 21413252.

Barreto, M., Castillo-Ruiz, M., & Retamal, P. (2016). Salmonella enterica: a review or the trilogy agent, host and environment and its importance in Chile. Revista chilena de infectologia: organo oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia, 33(5), 547-557.

Barrow, P.A. and Methner, U. (2013). salmonella in domestic livestock. CAB international, Wallingford, UK, pp. 677-736.

Barrow, PA. (1992). further observations on the serological response to expermintal Salmonella typhimurium in chicken mesured by ELISA. Epidemiol. and infect. 108(2), 231-241.

Barrow, P. A., Huggins, M. B., Lovell, M. A. and Simpson, J. M.(1987). Observations on the pathogenesis of experimental Salmonella typhimurium infection in chickens. Res. Vet. Sci. 42,194_199.

Bassullu, C., and A.Tolunary, (2010).Analysis on traditional homegarden involving animal's practices and its importance classification of usage purposes in rural areas of isparta region of turkey .Asian J. Anim, Vet.Adv. 5:450 .464.

Batchelor, M., Hopkins, KL. Liebana, E., Slickers, p., Ehricht, R., Mafura, M., Arestrup F., Mevius, D., Clifton –Hadley, FA. Woodward, MJ., Davies, RH., Threlfall, EJ., & Anjum, MF. (2008). Development of a miniaturized microarray-based assay for rapid identification of antimicrobial resistance genes in Grame-negative bacteria. Int. J. Antimicrob. Agents, 31 (5), 440-451.

Bates J , Jordenz , Selkon JB . (1993). Evidence for an animal origin of vancomycin - resistant enterococci. Lancet; 342: 490-1.

Bäumler, A. J., Hargis, B. M., & Tsolis, R. M. (2000). Tracing the origins of Salmonella outbreaks. Science, 287(5450), 50-52.

Beal, R. K., Powers, C., Wigley, P., Barrow, P. A., Kaiser, P. and Smith, A. L. (2005). A strong antigen-specific T-cellresponse is associated with age and genetically dependent resistance to avian enteric salmonellosis. Infect. Immun. 73,7509_7516.

Beal, R. K., Wigley, P., Powers, C., Hulme, S. D., Barrow, P. A. and Smith, A. L. (2004). Age at primary infection with Salmonella enterica serovar Typhimurium in the chicken influences persistence of infection and subsequent immunity to rechallenge.Vet. Immunol. Immunopathol. 100, 151_164.

Beceiro, A., Tomás, M., & Bou, G. (2013). Antimicrobial resistance and virulence: a successful or deleterious association in the bacterial world?. Clinical microbiology reviews, 26(2), 185-230.

Bhatia, T. R.; Mcnnabb, G. D.; Wyman, H. and Nayar, G. P. S. (1980). Salmonella isolation from liter as an indicator of fluck infection and carcass contamination. Avian Dis. 24: 838 – 842.

Blechman A.D. (2006). – Pigeons: the fascinating saga of the world's most revered and reviled bird. Open City Books, Grove Press, New York, 256 pp.

Brooks, G.F.; Butel, J.S. and Morse, S.A. (2001). Jawetz, Melnick & Adelbergs, Medical Microbiology. 22nd ed. Lange Medical Books Mc Graw-Hill. Medical Publishing Division chap 8, pp 225- 228.

Brooks, G.F.; Butel, J.S. and Morse, S.A. (2001). Medical Microbiology. 22nd ed. Lange Medical Books/Mc Graw-Hill. Medical Publishing Division.pp.225-228-217.

Brown, A.C.; Chen, J.C.; Watkins, L.K.F.; Campbell, D.; Folster, J.P.; Tate, H.; Wasilenko, J.; Van Tubbergen, C.; Friedman, C.R. (2018). CTX-M-65 Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing Salmonella enterica Serotype Infantis, United States. Emerg. Infect. Dis. 24, 2284–2291.

Burrus, V., & Waldor, M. K. (2004). Shaping bacterial genomes with integrative and conjugative elements. Research in microbiology, 155(5), 376-386.

Butler, T. (1988). Enteric infection. Typhoid fever in: Cecil Textbook of medicine. Wyngarden JB, Smith Saunders Company, Philadelphia. London, : pp. 381- 423.

Campbell I. Chi-squared and Fisher–Irwin tests of two-by-two tables with small sample recommendations. (2007). Statistics in medicine. ;26(19):3661-75.

Carattoli, A., Bertini, A., Villa, L., Falbo, V., Hopkins, K. L., & Threlfall, E. J. (2005). Identification of plasmids by PCR-based replicon typing. Journal of microbiological methods, 63(3), 219-228.

Casanovas, L., De Simon, M., Ferrer, M. D., Arques, J., & Monzon, G. (1995). Intestinal carriage of campylobacters, salmonellas, yersinias and listerias in pigeons in the city of Barcelona. Journal of Applied Bacteriology, 78(1), 11-13.

Catarame, T. M. G., O'hanlon, K. A., McDowell, D. A., Blair, I. S., & Duffy, G. (2006). Comparison of a real- time polymerase chain reaction assay with a culture method for the detection of Salmonella in retail meat samples. Journal of food safety, 26(1), 1-15.

Caza, M., F. Lepine, and C.M. Dozois. (2011). Secretion,but not overall synthesis, of catecholate siderophorescontributes to virulence of extraintestinal pathogenicEscherichia coli. Mol Microbiol. 80:266–282.

Chart , G. , Rowe , B. , Baskervilla , A. , and Humphrey , TJ.(1992). Serological response of chicken to Salmonella enteritidis infection. Epidem. And infect. 104, 63-71.

Chen Sh.; Zhao, Sh.; White, D. G.; Schroeder, C. M.; Lu, R.; Yang, H. McDermott, F. and Ayers, Sh. (2004). Characterization of multiple – antimicrobial resistance Salmonella serovar isolated from retail meats. App. Env. Microbial. J., 70(1): 1-7.

Cheng, Y., A.A. Pedroso, S. Porwollik, M. McClelland, M.D. Lee, T. Kwan, K. Zamperini, V. Soni, H.S. Sellers, S.M. Russell, and J.J. Maurer.

(2015). Rpo Sregulated genes involved in the competitive fitness of Salmonella enterica serovar Kentucky in the intestines of chickens.

Appl Environ Microbiol. 81:502–514.

CLSI.(2017). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 27th ed. Wayne, Pennsylvania, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.

Craven, S.E. (1994). Altered colonizing ability for the ceca of broiler chicks by lipopolysaccharide deficient mutants of Salmonella typhimurium. Avian Dis. 38:401–408.

Cruickshank, R., Duguid, JP. , Marmion, BP., and Swain, RHA. (1975). Medical Microbiology. 12th ed. Churchill. Livingstone Edinburgh. London and Newyork. PP. 222-215.

Desin, T.S., P.-K. Lam, B. Koch, C. Mickael, E. Berberov, A.L.S. Wisner, H.G.G. Townsend, A.A. Potter, and W. Koster. (2009). Salmonella enterica serovar Enteritidis pathogenicity island 1 is not essential for but facilitates rapid systemic spread in chickens. Infect Immun. 77:2866–2875.

Desmidt, M., Ducatelle, R., Mast, J., Goddeeris, B. M., Kaspers, B. and Haesebrouck, F. (1998). Role of the humoral immune system in Salmonella enteritidis phage type four infection in chickens.Vet. Immunol. Immunopathol. 63, 355_367.

De Sousa, E., Júnior, A. B., Pinto, A. A., Machado, R. Z., Carrasco, A. D. O. T., Marciano, J. A., & Werther, K. (2010). Prevalence of Salmonella spp. antibodies to Toxoplasma gondii, and Newcastle disease virus in feral pigeons (Columba livia) in the city of Jaboticabal, Brazil. Journal of Zoo and Wildlife Medicine, 41(4), 603-607.

DibbFuller, M.P. and M.J. Woodward. (2000). Contribution of fimbriae and flagella of Salmonella enteritidis to colonization and invasion of chicks. Avian Pathol. 29:295–304.

Douard, G., Praud, K., Cloeckaert, A., & Doublet, B. (2010). The Salmonella genomic island 1 is specifically mobilized in Trans by the IncA/C multidrug resistance plasmid family. PloS one, 5(12), e15302.

Duffy, G.; Clock, O. M.; O' Sullivan, M. G.; Guellet, A.; Sheridan, J. J.; Blair, I.S. and Mc Dowell, D.A. (1999). The incidence and antibiotic resistance profiles of Salmonella spp. On Irish retail meat products. Food. Microbial J., 16:623 – 631.

Edward, CRW. , and Bouchier, IAD. (2000). Typhoid and Paratyphoid fever In: Davidson s principles and practice of Medicine 19th ed. Churchill Livingstone. London. , pp.: 122-132.

Eid, HM. (2010). Rapid Detection of Salmonella in Dairy Cows Using Polymerase Chain Reaction. J. of Amer. Sc .6 (10) pp.: 31-37.

Eiscnstein, T. K. and Sultzer, B. M., (1983). Immunity to Salmonella infection, Adv. Exp. Med. Biol., 162, 261.

Ekperigin, H.E., & Nagaraja, KV. (1998). Salmonella. Vet. Clin. Nor. Ameri. 14 (1) pp.: 17-29.

Eriksson, C. L.; Mullinson, E. T.; Tablante, N. L., Morales, A. L.; and Parki, A. (2001). Effect of dry litter and air flow in reducing Salmonella and Escherichia coli population in the broiler production environments poultry. Sci. ASSO. 10:245 – 251.

Farghaly, E. M., & Mahmoud, H. B. (2011). The role played by some aerobic bacteria in sudden death among adult pigeons. Egypt. Poult. Sci, 31(2), 549-556.

Ferri, M., Ranucci, E., Romagnoli, P., & Giaccone, V. (2017). Antimicrobial resistance: A global emerging threat to public health systems. Critical reviews in food science and nutrition, 57(13), 2857-2876.

Frazier, WC. , and Westhoff, DC. (1978). Food Microbiology.3rd McGraw - Hill Book Company.U.S.A. (2) 237-243.

Fricker, CR. (1987). The isolation of salmonella and campylobacter . J. App . Bact.63. cited by colee JG , Frazer AG , Marmoin BP , and Simmons A , in Practical Medical Microbiology ,pp.: 66-116.

Gene, O. (2000). The isolation, identification and serotyping of Salmonella of domestic animals in Kars district, Turkey. In : of Veterinary Proceeding of 4th National Congress Microbiology (with international guest speakers) , Ankara , Turkey , pp : 136-137.

Georgiades, G. K., & Iordanidis, P. (2002). Prevalence of Salmonella infection in pigeons, canaries and psittacines. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society, 53(2), 113-118.

Giannasca, PJ. Giannasca, KT., Falk, p., Gordon, JI. , and Neutra, M. (1994). Regional Differences in glycoconjugates of intestinal M cells in Mice : potential target of mucosal vaccines . Am. J. of Physio. 262, G1108 - G1121.

Gonzalez-Acuna, D., Silva, G. F., Moreno, S. L., Cerda, L. F., Donoso, E. S., Cabello, C. J., & López, M. J. (2007). Detection of some zoonotic agents in the domestic pigeon (Columba livia) in the city of Chillán, Chile. Revista Chilena de Infectologia: Organo Oficial de la Sociedad Chilena de Infectologia, 24(3):199-203.

Gray, JT., Fedorka, CPJ. , Stable, JT., and karmer, TT. (1996). Natural transmission of Salmonella choleraesuis in swine. Applied and Environmental Microbiology62, 141-146.

Greig, J. D., & Ravel, A. (2009). Analysis of foodborne outbreak data reported internationally for source attribution. International journal of food microbiology, 130(2), 77-87

Groisman, E. A., & Ochman, H. (1996). Pathogenicity islands: bacterial evolution in quantum leaps. Cell, 87(5), 791-794.

Haag-Wackernagel D. & Moch H. (2004). – Health hazards posed by feral pigeons. J. Infect., 48, 307–313.

Handel, A., Regoes, R. R., & Antia, R. (2006). The role of compensatory mutations in the emergence of drug resistance. PLoS computational biology, 2(10), e137.

Henderson, S. C., Bounous, D. I. and Lee, M. D. (1999). Early events in the pathogenesis of avian salmonellosis. Infect.Immun. 67, 3580_3586.

Hirsh, D. C. And Zee, Y.C. (1999). Veterinary Microbiology. 1st ed. Blackwell science Inc. U.S.A pp75-78.

Hirsh, D. C., & Zee, Y. (2004). Enterobacteriaceae: Escherichia. Veterinary Microbiology.(Hirsh DC, Maclachlan NJ and Walker RL eds.), 61-68.

Hoelzer K., Soyer Y., Rodriguez-Rivera L.D., Cummings K.J., McDonough P.L., Schoonmaker-Bopp G.J., Root T.P., Dumas N.B., Warnick L.D., Grohn Y.T., Wiedmann M., Baker K.N.K., Besser T.E., Hancock D.D. & Davis M.A. (2010). The prevalence of multidrug resistance is higher among bovine than human Salmonella enterica serotype Newport, Typhimurium, and 4, 5, 12: i: - isolates in the United States but differs by serotype and geographic region. Appl. environ. Microbiol. 76, 5947–5959.

Holt, PS. (2000). Host Susceptibility, Resistance and Immunity to Salmonella in Animals, Salmonella in Domastic Animal. , CAB. Inter. (eds.) cha.5: pp. 73-80.

Hosain, M. S., Islam, M. A., Khatun, M. M., Dey, R. K., (2012). Prevalence and antibiogram profiles of Salmonella spp.Isolated from pigeons in Mymensingh, Bangladesh. Microbes Health;1(2):54–57.

House, JK. , Smith, Bp. (2004). Profitable Strategies to Control Salmonellosis in Dairy Cattle. 23rd World Buiatrics Congress, Quebec City, Canada, 1-7.

Humphrey, TJ. , Baskervillle , A. , Chart , H. , Rowe , B. , and Whitehead , A. (1991) . Salmonella enteritidis PT4 infection in specific pathogen free hens: influence of infecting dose. Vete. Rec., 129, 482-485.

Ibrahim, H. S. (2008). Bacteriological Studies on Pathogens in Egyptian Pigeons. Journal of Veterinary Medical Research, 18(1), 187-197.

Im, M. C., Jeong, S. J., Kwon, Y. K., Jeong, O. M., Kang, M. S., & Lee, Y. J. (2015). Prevalence and characteristics of Salmonella spp. isolated from commercial layer farms in Korea. Poultry Science, 94(7), 1691-1698.

Jacoby, G., Arlet, G., & Phillippon, A. (2002). Plasmid determined Amp c type βlactamases. Antimicrob agents chemother, 46, 1-11.

Johnson, T.J., Y.M. Wannemeuhler, J.A. Scaccianoce, S.J. Johnson, and L.K. Nolan. (2006). Complete DNA sequence, comparative genomics, and prevalence of an IncHI2 plasmid occurring among extraintestinal pathogenic Escherichia coli. Antimicrob AgentsChemother. 50:3929_3933

Khaitsa M.L. & Doetkott D. (2012). – Antimicrobial drug resistance and molecular characterization of Salmonella isolated from domestic animals, humans and meat products; Salmonella – a dangerous foodborne pathogen, Chapter 11. In Immunology and microbiology (S.M. Barakat Mahmoud, Ed.). InTech, Rijeka, Croatia, 450 pp.

Khordadmehr, M., Ranjbar, V. R., Shahbazi, P., & Zeinoddin, M. (2018). Co-infection of Sarcocystis sp. and Hadjelia truncata in fantail pigeons

(Columba livia domestica). Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 21(1), 115-121.

Kim, CJ. , Nagaraj, KV. , and Pomeroy, BS. (1991). Enzyme linked immunosorbant assay for detection of Salmonella enteratidis infection in chicken. Am. J. of Vet. Res. 52, 1069-1074.

Kinjo, T., Morishige, M., Minamoto, N., & Fukushi, H. (1983). Isolation and drug sensitivity of salmonella and Escherichia coli from the faeces of feral pigeons. Research Bulletin of the Faculty of Agriculture, Gifu University, 48, 121-127.

Koneman, E. W., Allen, S. D., Janda, W. M., Schreckenberger, P. C., & Winn, W. C. (1997). Diagnostic microbiology. The nonfermentative gram-negative bacilli. Philedelphia: Lippincott-Raven Publishers, 253-320.

Koo, F.C., J.W. Peterson, C.W. Houston, and N.C. Molina. (1984). Pathogenesis of experimental salmonellosis: Inhibition of protein synthesis by cytotoxin. Infect Immun. 43:93–100.

Koupal, L.P., and R.H. Deibel. (1975). Assay, characterization, and localization of an enterotoxin produced by Salmonella. Infect Immun. 11:14–22.

Lillehaug, A., Jonassen, C. M., Bergsjø, B., Hofshagen, M., Tharaldsen, J., Nesse, L. L., & Handeland, K. (2005). Screening of Feral Pigeon (Colomba livia), Mallard (*Anas platyrhynchos*) and Graylag Goose (*Anser anser*) Populations for Campylobacter spp., *Salmonella spp*. Avian Influenza Virus and Avian Paramyxovirus. Acta Veterinaria Scandinavica, 46(4), 1-10.

Madigan, M. T., Martinko, J. M., Dunlap, P. V., & Clark, D. P. (2009). Brock-Biology of Microorganisms. 12th International Edition.

Martin, E. H. , Hubbert , W. T. & Hagsted , H.V. (1995) . Zoonoses. 1st ed Iowa State University Press, Ames. pp. 280-282.

Merchant I.A, Packer R.A. 7th ed. Ames, Iowa, USA: The Iowa University Press; (1967). Veterinary Bacteriology and Virology; pp. 286–306.

Monogue, M.L.; Tsuji, M.; Yamano, Y.; Echols, R.; Nicolau, D.P. (2017). Efficacy of Humanized Exposures of Cefiderocol (S-649266) against a Diverse Population of Gram-Negative Bacteria in a Murine Thigh Infection Model. Antimicrob. Agents Chemother. 61.

Morgan J.L. (2006). – Culinary creation: an introduction to foodservice and world cuisine. Butterworth-Heinemann hospitality management series. Butterworth-Heinemann, Oxford, 220 pp.

Mridha, D., Uddin, M. N., Alam, B., Akhter, A. T., Islam, S. S., Islam, M. S., & Kabir, S. L. (2020). Identification and characterization of Salmonella spp. from samples of broiler farms in selected districts of Bangladesh. Veterinary world, 13(2), 275.

Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of antibiotic resistance. Microbiology spectrum, 4 (2), 1-37.

Natala A.J., Asemadahun N.D., Okubanjo O.O., Ulayi B.M., Owolabi Y.H., Jato I.D. & Yusuf K.H. (2009). A survey of parasites of domesticated pigeon (Columba livia domestic) in Zaria, Nigeria. Int. J. soft Comput. 4 (4), 148–150.

Nicholas, RA. , and Cullen, GA. (1991). Development and Application of an ELISA for Detecting Antibodies to Salmonella entratidis in Chicken Flocks. Vet. Rec. 128, 74-76.

Office International des, Epizooties (OIE) terrestrial Manual. (2010). Salmonellosis Chap.2.9.9 pp 1-19. Http: // www.oie.int/chapter 2.9.9.

Pasmans, F., Van Immerseel, F., Hermans, K., Heyndrickx, M., Collard, J. M., Ducatelle, R., & Haesebrouck, F. (2004). Assessment of virulence of pigeon isolates of Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium variant Copenhagen for humans. Journal of Clinical Microbiology, 42(5), 2000-2002.

Patel, R. (2005). Biofilms and antimicrobial resistance. Clinical Orthopaedics and Related Research®, 437, 41-47.

Peirano, G.; Pitout, J.D.D. (2019). Extended-Spectrum beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: Update on Molecular Epidemiology and Treatment Options. Drugs 79, 1529–1541.

Piasecki, T. (2006). Evaluation of urban pigeon (Columba livia f. urbana) health status in relation to their threat to human health. Medycyna Weterynaryjna, 62(5), 531-535.

Pouwels, K. B., Muller-Pebody, B., Smieszek, T., Hopkins, S., & Robotham, J. V. (2019). Selection and co-selection of antibiotic resistances among Escherichia coli by antibiotic use in primary care: an ecological analysis. PLoS One, 14(6), e0218134.

Prescott, L M., Harley, JP. , and Klein, DA. (2002). Microbiology. 3th Ed. The McGraw - Hill Companies. U. S. A.

Prescott, LM. , Harley, JP. , Klein, DA. (1996). Microbiology 2 Wm. C. Brown Publishers, USA , pp . 769.

Qiao, J.; Zhang, Q.; Alali, W.Q.; Wang, J.; Meng, L.; Xiao, Y.; Yang, H.; Chen, S.; Cui, S.; Yang, B.(2017). Characterization of extendedspectrum beta-lactamases (ESBLs)-producing Salmonella in retail raw chicken carcasses. Int. J. Food Microbiol. 248, 72–81.

Quinn, P. J.; Carter, M. E.; Marky, B. And Carter, G. R. (2004). Clinical veterinary Microbiology. 6th ed. Mosby. London. Pp. 49-226-231-345-348.

Radostits, O. M., Gay C. C., Blood, D. C. & Hinchcliff, K. W. (2000). Veterinary Medicine. 9th ed., W. B. Saunders Company Ltd. London, New York. p. 809-828.

Rasooly, A., & Herold, K. E. (2008). Food microbial pathogen detection and analysis using DNA microarray technologies. *Foodborne pathogens and disease*, *5*(4), 531-550.

Schoonjans F, Zalata A, Depuydt C, Comhaire F. (1995). MedCalc: a new computer program for medical statistics. Computer methods and programs in biomedicine;48(3):257-62.

Seral, C., Van Bambeke, F., & Tulkens, P. M. (2003). Quantitative analysis of gentamicin, azithromycin, telithromycin, ciprofloxacin, moxifloxacin, and oritavancin (LY333328) activities against intracellular Staphylococcus aureus in mouse J774 macrophages. Antimicrobial agents and chemotherapy, 47(7), 2283-2292.

Shen, H.; Chen, H.; Ou, Y.; Huang, T.; Chen, S.; Zhou, L.; Zhang, J.; Hu, Q.; Zhou, Y.; Ma, W. (2020). Prevalence, serotypes, and antimicrobial resistance of Salmonella isolates from patients with diarrhea in Shenzhen, China. BMC Microbiol. 20, 197.

Silva, C., Wiesner, M., & Calva, E. (2012). The importance of mobile genetic elements in the evolution of Salmonella: pathogenesis, antibiotic resistance and host adaptation. Salmonella-A Diversified Superbug, 231, 254.

Soback, S. (2005). Antimicrobial resistance transfer-science or emotion. In 4th Biennial symposium of the American Academy of veterinary pharmacology and therapeutics. Rockville. U. S. A. pp. 1831-0505.

Sousa, E., Werther, K., Berchieri Junior, A., Almeida, A. M., Candioto, C. G., Silva, A. C.(2011).Experimental infection of chickens one day of age with Salmonella serotypes isolated from poultry facilities, wild birds and swine. Technical articles, XXII Latin American Poultry Congress.

Stefanie, D.; Egon, D.; David, H.; Piotr, T.; Verena, P.; Manfred .; Markus, S.; Alexander, H.; Natascha, B.; Reinhard, W.; Igor, T.; Joyce, E. K.; Ferric, C. F.; Günter, W. (2019). Dopamine Is a Siderophore-Like Iron Chelator That Promotes *Salmonella enterica* Serovar Typhimurium Virulence in Mice. MBio. 10(1): 02624-18.

Sun, C.; Chen, B.; Hulth, A.; Schwarz, S.; Ji, X.; Nilsson, L.E.; Ma, S.; Sun, Q.; Bi, Z.; Wang, Y. (2019). Genomic analysis of Staphylococcus aureus along a pork production chain and in the community, Shandong Province, China. Int. J. Antimicrob. Agents. 54, 8–15.

Swann, W. H. (1969). A survey of non- linear optimization techniques. FEBS letters, 2(S1), S39-S55.

Talaska , F. (2004) . Salmonellosis In: Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 5th ed. Part 2. Sec 2.10. 55-60.

Tanaka, C., Miyazawa, T., Watarai, M., & Ishiguro, N. (2005). Bacteriological survey of feces from feral pigeons in Japan. Journal of Veterinary Medical Science, 67(9), 951-953.

Toro, H., Saucedo, C., Borie, C., Gough, R. E., & Alcaino, H. (1999). Health status of free-living pigeons in the city of Santiago. Avian pathology, 28(6), 619-623.

Tsolis, RM., Adams, LG., Ficht, TA. , and Bäumler, AJ. (1999). Contribution of Salmonella typhimurium virulence factors to diarroeal diseases in calves. Infection and Immunity 67: 4885-4897.

Usha, G.; Chunderika, M.; Prashini, M.; Willem, S.A.; Yusuf, E. (2008). Characterization of extended-spectrum beta-lactamases in Salmonella spp. at a tertiary hospital in Durban, South Africa. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 62, 86–91.

Turnbull, P.C.B. and G.H. Snoeyenbos. (1974). Experimental salmonellosis in the chicken. 1. Fate and host response in alimentary canal, liver, and spleen. Avian Dis. 18:153–177.

Uzzau, S., Brown, D. J., Wallis, T., Rubino, S., Leori, G., Bernard, S., & Olsen, J. E. (2000). Host adapted serotypes of Salmonella enterica. Epidemiology & Infection, 125(2), 229-255.

Veldman, A.; Vahl, H. A.; Borggreve, G. J. and Fuller, D. C. (1995). A survey of the incidence of Salmonella species and Enterobacteriaceae in poultry feeds and feed components. Vet Rec. 136(7); 169-172.

Vico, J. P., Mainar-Jaime, R. C. (2011).Salmonellosis in wild birds and its relationship with the infection in finishing pigs. Proceeding book of 9th International Conference on the Epidemiology and Control of biological, chemical and physical hazardsin pigs and pork.1922 june:p:264-267.

Volkova, V. V., Bailey, R. H., Hubbard, S. A., Magee, D. L., Byrd, J. A., & Robert, W. W. (2011). Risk factors associated with Salmonella status of broiler flocks delivered to grow- out farms. Zoonoses and Public Health, 58(4), 284-298.

Vučemilo, M., Vlahović, K., Dovč, A., MuŽinić, J., Pavlak, M., Jerčić, J., & Župančić, Ž. (2003). Prevalence ofCampylobacter jejuni, Salmonella

typhimurium, and avianParamyxovirus type 1 (PMV-1) in pigeons from different regions in Croatia. Zeitschrift für Jagdwissenschaft, 49(4), 303-313.

Wang, W., Zhao, L., Hu, Y., Dottorini, T., Fanning, S., Xu, J., & Li, F. (2020). Epidemiological study on prevalence, serovar diversity, multidrug resistance, and CTX-M-type extended-spectrum β-lactamases of Salmonella spp. from patients with diarrhea, food of animal origin, and pets in several provinces of China. Antimicrobial agents and chemotherapy, 64(7), e00092-20.

Wattiau, p. , Van Hessche , M. , Schlicker , C. , Vander , Veken , H. , & Imberechts , H. (2008). Comparison of classical serotyping and PremiTest assay for routine identification of common Salmonella enterica serovars. J. Clin. Microbiol. 46 (12), 4037-4040.

Wayne, P. A. (2011). Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing.

Willias, PH., Roberts, MM. and Hinson, G. (1988). Stage In Bacterial Invasion. Journal of Applied Bacteriology. Symposium Supplement. , 1315-1475.

Withanage , G.S.K. , Sasai , K. , Fukata , T , Miyamoto , T. and Baba , E. (1999) Secretion of Salmonella - specific antibodies in the oviducts of hens experimentally infected with Salmonella enteriditis . Veterinary Immunology and Immunopathology, 67, 185-193.

Youxian, Z. (2005). Detection of Salmonella in Food borne pathogens . Henan J. Preventive Med., 16: 80-80.

Zhang, J.; Wang, F.; Jin, H.; Hu, J.; Yuan, Z.; Shi, W.; Yang, X.; Meng, J.; Xu, X. (2015). Laboratory monitoring of bacterial gastroenteric

pathogens Salmonella and Shigella in Shanghai, China 2006–2012. Epidemiol. Infect. 143, 478–485.

Zhang, L.; Fu, Y.; Xiong, Z.; Ma, Y.; Wei, Y.; Qu, X.; Zhang, H.; Zhang, J.; Liao, M. (2018). Highly Prevalent Multidrug-Resistant Salmonella From Chicken and Pork Meat at Retail Markets in Guangdong, China. Front. Microbiol. 9, 2104.

Zinnah M.A, Haque M.H, Islam M.T, Hossain M.T, Bari M.R, Babu S.A.M, Rahman M.T, Islam M.A. (2008). Drug sensitivity pattern of Escherichia Coli isolated from samples of different biological and environmental sources. Bang. J. Vet. Med. 6(1):13–18.

Zwe, Y. H., Tang, V. C. Y., Aung, K. T., Gutiérrez, R. A., Ng, L. C., & Yuk, H. G. (2018). Prevalence, sequence types, antibiotic resistance and, gyrA mutations of Salmonella isolated from retail fresh chicken meat in Singapore. Food Control, 90, 233-240.

Abstract

A study was conducted to elucidate the prevalence of Salmonella infection in squabs, adult pigeons and their rearing environment including feeders, waterers, litter and hands of breeders. The study involve 34 districts in Nineveh Governorate. Four hundred swabs were taken from the internal organs of squabs and adult pigeons and were as follows: 195 samples from squabs (aged less than 6 months), including 50 samples of intestines, 50 samples of livers, 35 samples from the cloaca, 35 samples of hearts, 20 samples of spleens and 5 samples of the pancreas.

from adult pigeons (more from 6 months), 205 samples were taken included 50 bowel samples, 50 liver samples, 40 samples from waterers, 40 heart samples, 20 spleen samples and 5 pancreatic samples.

As for the pigeon breeding surroundings, the samples included 50 litter samples, 50 feeder samples, 45 waterers samples and 5 breeders' hand wash samples.

Various transport, enrichment and solid media were used to isolate *Salmonella spp*. which were confirmed using various biochemical tests. For sensitivity testing to antimicrobials, 30 samples of Salmonella isolates were subjected to 16 different antibiotics, as well as the ability of 16 of the isolates were tested for their ability to produce beta-lactamase enzyme against beta-lactam antibiotics.

In addition, 23 blood samples were collected from squabs and 69 samples from adult pigeons were collected for estimation the level of antibodies against *Salmonella enteritides* using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method.

The Genetic sequence and phylogenetic tree of some of Salmonella isolates from squabs, adult pigeons and their environment was done.

To determine the virulence of the isolated *Salmonella spp*., three genes were used: *IroN*, *IucC* and *IucD* on 10 isolates taken from squabs, adult pigeons and their environment.

The results of isolating *Salmonella spp*. from squabs showed that the percentages of isolation from the internal organs were 24, 6, 5.7, 2.8, 0 and 0% for Intestine, Liver, Cloaca, Heart, Spleen and Pancreas, respectively, with a total percentage of 9.23%. The percentage of isolation of *salmonella spp.* from the intestine was significantly ($p \leq 0.05$) higher than the rest of the other organs.

The percentages of *Salmonella spp*. isolated from the internal organs of the adult pigeons were as follows: 36, 14, 15, 5, 10, and 0% from the Intestines, Liver, Cloaca, Heart, Spleen and Pancreas, respectively, with a total percentage of 17%. The percentage of isolating *Salmonella spp*. from the intestine was also significantly ($p \leq 0.05$) higher than the rest of the other organs.

Regarding the percentages of *Salmonella spp*. isolated from the surrounding they were 30, 22, 6.66, and 20% from the Litter, Feeder, Waterers, and breeders' hands samples.

Therefore, the total percentage of *Salmonella spp*. isolated from pigeons and their surrounding is 15% (total number of samples = 550 samples).

The results of antimicrobial resistance of 30 Salmonella isolates to 16 antibiotics were in a descending manner as follows: Ciprofloxacin (73.33%), followed by Colistin (70%), Florphenicol (66.6%), Sulfamethoxazole-trimethoprim (60%), Lincomycin and Amoxicillin (46.6%), Spiramycin and Doxycycline. (40%), Tetracycline (36.66%), Levofloxacin and Enrofloxacin ((33.33%), Fosphomycin (26.6%), Norfloxacin (23.3%), Cephalexin, Neomycin and Gentamicin (16.6%).

The result about the positive proportion of salmonella isolates for their ability in ß-lactamase enzyme production using the acidometric method were 3 out of 16 (18.75%); 7/16 (43.75%) by applying disc diffusion method and 6/16 (37.50%) were Positive to extended-spectrum ß-lactam type (*ampC*) (ESBL / *ampC*).

Salmonella antibodies level in squabs and adult pigeons showed that five samples from squabs out of 23 (21.73%) were positive to *Salmonella enteritides* antibodies using IDEXX iELISA technique with a titer of (681), which was significantly ($p \leq 0.05$) higher than the titer of negative samples (215.5). While for the adult pigeon, it appeared that 8 samples out of a total of 69 samples (11.59%) were positive to *Salmonella enteritides* antibodies with a titer of (793.62) which was also significantly ($p \leq 0.05$) higher than negative sample rate (202.65).

The results of the PCR reaction for the genetic sequences of Salmonella isolates that sent to the GenBank and taken from breeders' hand wash, litter, squabs, and adult pigeons showed that the sample taken from the breeders' hand wash belonged to *Salmonella enterica subsp. enterica serovar Typhimurium.* While and for the first time in Iraq and in Nineveh governorate, three new genes were registered and they were: Salmonella isolate from the litter MO-A1 (LOCUS LC714863), Salmonella isolate from squabs MO-A2 (LOCUS LC714864) and Salmonella isolate from adult pigeons MO-A3 (LOCUS LC714865).

With regard to the virulence factors borne by *Salmonella spp*., it was found that all Salmonella isolates tested (n=10), contained the virulence factors *IucC*, *IucD* and *IroN* with a percentage of (100%).

Prevalence of Salmonella producing β-lactamase in local pigeons at Nineveh province

A thesis submitted

By

Mohammed Jassim Mohammed Owaid

To

The Council of the College of Veterinary Medicine

University of Mosul

In

Partial Fulfillment of the Requirements for the

Degree of Master of Science

In

Veterinary medicine/veterinary public health

Supervised by

Prof. Dr. Aqeel Mohammed Shareef khider

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

University of Mosul

College of Veterinary Medicine

Prevalence of Salmonella producing β-lactamase in local pigeons at Nineveh province

Mohammed Jassim Mohammed Owaid

M.Sc./ Thesis

Veterinary Medicine/Veterinary Public Health

Supervised by:

Prof. Dr. Aqeel Mohammed Shareef khider

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