

الكلية: الطب البيطري	اسم الطالب: الإء عبد الهادي احمد
القسم: احياء المجهرية	اسم المشرف: محمد حسن خضر
التخصص: احياء المجهرية	الشهادة: الماجستير
عنوان الرسالة أو الأطروحة	

التوصيف الجزيني لبعض جينات ضراوة السالمونيلا المعزولة من الدجاج والابقار المجمدة والطازجة في مدينة البصرة

ملخص الرسالة أو الاطروحة

جمعت 205 عينة للفطرة من 4 تشرين الاول 2017 إلى 27 شباط 2018. شملت تلك العينات عينات لحم الدجاج المجمد (الفخذ ، الأجنحة ، الكبد ، 40 عينة لكل منها) ، لحم البقر المجمد 40 عينة واللحم الطازجة (الكبد ، العضلة ، واللحم المفروم ، 15 لكل منها) من مدينة البصرة. أظهرت نتائج هذه الدراسة عزل السالمونيلا وفقا للعزل التقليدي على وسط Xylose(LXD) Lysine Deoxycholate Agar بنسبة 22.4% (205/46). تم التعرف على عزلات السالمونيلا باستخدام الاختبارات الكيميائية التقليدية بنسبة 76% (46/35)، بينما أعطت العدة التشخيصية API 20 E نسبة 84% (25/21) ونسبة 100% (20/20) باستخدام سلسلة تفاعلات البلمرة (PCR) على *16srRNA*. ظهرت أعلى نسبة عزل للسالمونيلا في اكباده اللحم المجمد المستورد 80% (20/16) ، بينما كانت النسبة الأقل من عزلات السالمونيلا في اكباده اللحم الطازج المحلي 6.6% (15/1). اظهر التحليل الإحصائي اختلافات معنوية ($P < 0.05$) في معدل عزل السالمونيلا بين الأنواع المختلفة من عينات اللحم. أظهرت طريقة التمييز المصلي وجود اربعة انماط مصلية توزعت على النحو التالي: *Salmonella* Typhimurium 8/20 (40%) ، *Salmonella* Enteritidis 5/20 (25%) ، *Salmonella* Munchen 4/20 (20%) ، *Salmonella* Kentucky 3/20 (15%) ، ولم يظهر التحليل الإحصائي اية فروق معنوية بين تلك الانماط المصلية. تم عزل المادة الوراثية (DNA) من عزلات جرثومة السالمونيلا ، تم عمل التشخيص التاكدي لهذه العزلات باستخدام *16srRNA* (574bp) ونسبة 100% باستخدام سلسلة تفاعلات البلمرة (PCR). تم إجراء تتابع للقواعد النيوتروجينية لجين *16srRNA*. أظهرت طريقة التمييز المصلي وطريقة تفاعل البلمرة على عزلات السالمونيلا نسبة متشابهة (100%) في التعرف على تلك العزلات بالمقارنة مع نظام API 20 E (84%). تم دراسة الجينات المرتبطة بالضراوة (*agfA* , *sopE* , *spvC* , *ipfA* , *stin* , *invA*) في عزلات السالمونيلا . أظهرت النتائج ان اعلى نسبة كانت لجينات الضراوة *invA* و *ipfA* (18,20) على التوالي) واقلها نسبة كانت لجينات الضراوة *spvC* و *sopE* (6,5) على التوالي) ووجود فروق معنوية ($P < 0.05$) بين تلك الجينات. أظهرت نتائج التمييز المصلي الجزيني لعزلات السالمونيلا باستخدام جين *Flic-C* الخاصة *S. Typhimurium* وبالجين *IE-1* الخاصة *S. Enteritidis* ظهور النمط *S. Typhimurium* بنسبة 25% (20/5) في حين كانت سلبية لجميع العزلات بالنسبة للنمط *S. Enteritidis*. تم مقارنة عزلات السالمونيلا قيد الدراسة بالعزلات المرجعية (NCBI \Gene bank) لمعرفة نسبة التماثل مع تلك العزلات لتأكيد التشخيص للعزلات من جهة ولعمل الشجرة الوراثية على الانماط المصلية التابعة لعزلات السالمونيلا قيد الدراسة من جهة اخرى. يمكن أن نخلص إلى أن أساليب التصنيف المصلي و PCR قد أعطت نتائج جيدة ودقيقة لتحديد السالمونيلا ، ويمكن الكشف عن الانماط المصلية من السالمونيلا عن طريق الفحص الجزيني ، وينبغي أن تكون الأجزاء الأخرى من لحوم الدجاج المجمدة المستوردة أفضل من الكبد للاستهلاك ووجود السالمونيلا في لحوم الدجاج يحمل مخاطر للاستهلاك لامتلاكه الجينات المرتبطة بالضراوة والتي يجب السيطرة عليها.

College: Colleg of Veterinary Medicine
Dep.: Microbiology
Certificate: master
Title of Thesis

Name of Student: Alaa Abdul Hadi Ahmed
Name of Supervisor: Mohammed Hassan khudor
Specialization: Microbiology

Molecular Characterization of Some *Salmonella* Virulence Genes Isolated from Frozen and Fresh Chicken and Beef in Basrah City .

Abstract of Thesis

Summary

A total of 205 samples were collected between 4 October 2017 to 27 February 2018. The collected samples include frozen chicken meat (thigh, wings, liver, and 40 samples for each one), frozen beef meat 40 samples and fresh meat (liver, muscle, and ground meat, 15 for each) in Basrah city. The results of this study showed that the overall identification of *Salmonella* spp. isolates according to conventional isolation on Xylose Lysine Dextrocholate agar (XLD) was 22.4% (46/205). The identification of *Salmonella* isolates by conventional biochemical test was 76% (35/46), while the result of API 20 E system was 21/25 (84%) and by molecular method was 20/20 (100%). The highest rate of *Salmonella* isolates were found in the liver of imported frozen chicken meat 80% (16/20), while lower rate of *Salmonella* isolates were recorded for liver of local fresh meat 6.6% (1/15). Statistical analysis show significant differences ($P < 0.05$) between isolation rates of *Salmonella* from different sample types. Serotyping of *Salmonella* isolates of poultry and beef meats revealed that there were 4 serotypes in percentages as follow: *Salmonella* Typhimurium 8/20 (40%), *Salmonella* Enteritidis 5/20 (25%), *Salmonella* Munchen 4/20 (20%) and *Salmonella* Kentucky 3/20 (15%). There were no significant differences ($P > 0.05$) between different serotypes. The *Salmonella* isolates which were subjected to DNA extraction and PCR assay for detection of *16srRNA* (574bp) to confirm the identification. Positive results were seen in 100% of isolates subjected to PCR assay. The nucleotide of *16srRNA* gene was submitted to sequencing. The identification methods of *Salmonella* isolates revealed similarities of results (100%) between serotyping and PCR assay comparable with API 20 E system (84%). All *Salmonella* serotype were subjected to molecular detection of virulence genes of *Salmonella* isolates by using *invA* , *stin* , *ipfA* , *spvC* , *sopE* and *agfA* genes. The highest percentage of virulence genes were appear in *invA* and *ipfA* genes (20, 18 respectively) while the lowest percentage rate were for *spvC* and *sopE* genes (5, 6 respectively). The statistical analysis showed significant differences ($P < 0.05$) between these genes. The molecular serotyping of *Salmonella* isolates by using *Flic* and *IE-1* genes revealed *Salmonella* Typhimurium in 25% percentage (5/20), while all isolates gave negative results for *Salmonella* Enteritidis showed. The *Salmonella* isolates under consideration were compared with reference isolates in (NCBI/Gene bank) to find out the identical percentage with these isolates to confirm diagnosis of isolates on the one hand and to doing phylogenetic tree of serotyping of *Salmonella* isolates on the other hand. It could be concluded that the serotyping and PCR techniques have given a good and accurate results for identification of *Salmonella*, *Salmonella* serotypes can be detected by molecular assay, the other parts of imported frozen chickens meat should be preferable than the liver for consumption and the existence of *Salmonella* in the chickens meats carries risks for consumption to own virulence associated genes which must be controlled.

