دراسة العزل الجرثومي لمسببات الإصابات التنفسية في العجول الصغيرة في مدينة الديوانية

جميلة راضي إسماعيل الشويلي
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة للتعرف على دور الجراثيم في الإصابات التنفسية للعجول الصغيرة من خلال عزل وتشخيص هذه الجراثيم. جمعت 95 عينة تضمنت 63 مسحة أنفية و7 عينات رئوية و25 عينة دم من عجول بأعمار (1–5) شهر والتي تعاني من الالتهابات التنفسية. بينت الدراسة عزل (66) عزلة جرثومية لستة أجناس مختلفة من الجراثيم مثلت*coli Esherichia* النسبة الأعلى إذ بلغت 50 % تليها *Staphylococcus aureus* 15% فيما تباينت نسب بقية الجراثيم وكان أهمها *Klebsiella pneumonia*, *Enterobacter*, spp *Pseudomonas*و*Proteus* . اختبرت حساسية العزلات الجرثومية لتسعة مضادات الحيويةو اظهر ت معظمها حساسية 100% لمضادي (النورفلوكسلين والسيبروفلوكساسين) فيما تباينت نسب مقاومة بقية الجراثيم للمضادات المستخدمة.

Study of Bacterial Isolation for Causes of Respiratory Infection In Calves in Diwanya City young

J. R. E. Al-Shweely
College of Veterinary Medicine\ University of Al-Qadisiy

Abstract

This study was conducted to identify the role of bacteria in respirartory infections in the young calves through isolation and identification of these bacteria. (95) samples were collected included (63) nasal swabs, (7) samples of lungs and (25) blood samples from calves at ages (1-5) months suffered from respiratory infection.

The study showed isolate (66) bacterial isolates of six different genera of the bacteria represented *Esherichia coli* the maximum ratio of 50% followed by *Staphylococcus aureus* 15%with varied rates of the rest of the bacteria and was the most important *Klebsiella pneumonia*,*Enterobacter*,*Pseudomonas* spp and *Proteus*.

Tested the sensitivity of bacterial isolates for nine antibiotics, most of the isolates were sensitive (100%)to ciprofloxacin and norfloxacin while varied rates the resistant of other bacteria to antibiotics used.

المقدمة

تعد إمراض الجهاز التنفسي من المشاكل التي تواجه تربيةالأبقار والعجول لما تسببه من خسائر اقتصادية والمتمثلة بزيادة عدد الهلاكات في الحيوانات المصابة إضافة إلى قلة كفاءة التحويل الغذائي التي ينتج عنها الضعف العام وانخفاض الإنتاج فضلا عن تكاليف العلاج (1).

وقد أشارت منظمة صحة الحيوان The national animal health monitoring system ا ن 21.3% من نسبة الهلاكات في العجول الرضيعة تعزى إلى المشاكل التنفسية وتأتي بالدرجة الثانية بعد الإسهال 52.2% وتليها الكدم والتهابات السرة والمفاصل وأسبابأخر ى (2)وتعد الجر اثيم من أهم المسببات الثانوية لذات الرئة والالتهابات التنفسية في العجول إذ ان العديد من العوامل كالإجهاد والإصابة بالفيروسات والمايكوبلازما تكون

ظروفا مثالية للإصابة ببعض الجراثيم والتي تكون متواجدة في الجهاز التنفسي العلوي لاختراق النظام الدفاعي للجهاز التنفسي وغزو نسيج الرئة مما يعرضها للاستيطان الثانوي للجراثيم وتكوين المستعمرات Colonization (3). تحتل البكتيريا المرتبة الثالثة في إحداث الإصابات التنفسية في العجول لاسيما ذات الرئة الجرثومي(2). وبين (4) و(5) إ ذ العجول الصغيرة تعد أكثر احتمالا للتعرض للأمراض التنفسية حيث يشكل ذات الرئة الجرثومي في العجول نسبة وفيات تجاوزت 30%. وأوضح (6) الدور الفاعل للجراثيم إذ ا ذ لها دورا مهما في الإصابات التنفسية وخصوصا ذات الرئة والتهابات المجاري التنفسية العليا والسفلى. وفيما يخص اختبار حساسية الجراثيم للمضادات فان ظهور العتر المقاومة للمضادات الجرثومية يؤكد ضرورة اختبار الحساسية ضد هده العتر خلال نشوء المرض(7). وأوضح (8) ان اغلب الجراثيم المعوية حاوية على بلازميدات حاملة للمعلومات الوراثية يطلق عليها R-factor مسؤولة عن إحداث طفرات واسعة في الحامض النووي DNA للخلية الجرثومية وبالتالي مقاومة هده الجراثيم للعديد من المضادات الحيوية.

لذلك هدفت هذه الدراسة لتحديد دور الجراثيم كأهم المسببات الرئيسة في إحداث الإصابات التنفسية من خلال عزل وتشخيص الجراثيم الهوائية المسببة للإمراض التنفسية في العجول بأعمار (1-5) شهر واختبار حساسية الجراثيم المعزولة لبعض المضادات الحيوية المستخدمة كعلاجات بيطرية.

المواد وطرائق العمل

1. جمع العينات (Sampling): تم جمع العينات من العجول المريضة الواردة إلى المستشفى البيطري في مدينة الديوانية وبعض العيادات البيطرية في بعض أقضية ونواحي محافظة القادسية (ناحية الدغارة، ناحية السنية، قضاء عفك) للمدة من (2007/11/3) ولغاية (2008/3/5) إذ تم جمع 95 عينة تضمنت (63) مسحة أنفية و(25) عينة دم و(7) عينات رئوية لعجول هالكة أو تم ذبحها نتيجة إصابتها بالتهابات تنفسية شديدة تم الحصول عليها من مربيها.

وضعت العينات في أوعية مبردة ومعقمة ومن ثم اختبارها لاحقا في مختبر الإحياء المهجرية في كلية الطب البيطري – جامعة القادسية. تم استخدام الأوساط الزرعية المجهزة من شركة oxoid وحضرت الأوساط حسب طريقة الشركة المصنعة.

الاكار المغذي Nutrient agar

أكار الماكونكي MacConkey agar

أكار الدم Blood agar base

أكار المولرهنتون Muller-Hinton agar

أكار المانيتول Mannitol salt agar

أكار السكر الثلاثي والحديد Triple sugar lron agar

المرق المغذي Nutrient broth

2. العزل الجرثومي: تم زرع العينات مباشرة على الأوساط الزرعية الاغنائية ومنها أكار الدم agar blood وزرعت على الأوساط التفريقية الخاصة وأجريت الفحوصات الكيمو حيوية وحسب طريقة Quinn وجماعته (6).
3. فحص الحساسية للمضادات الحيوية: استخدمت طريقة الباحث Baur وجماعته (9) لقياس حساسية العزلات المختلفة للمضادات الحيوية وحسب الخطوات التالية:

أ. تحضير الوسط الزر عي.

ب. تحضير العالق الزرعي: نقلت مستعمرة نامية إلى أنبوبة تحتوي على 5 مل من المرق المغذي بواسطة المعقم ثم وضع في الحاضنة لمدة 24 ساعة وبدرجة 37 ْ وخفف الزرع البكتيري إلى 10 باستعمال المحلول الفسيولوجي. ولقحت الإطباق الحاوية على اكار المولر هنتون بنقل 0.1 مل من الزرع البكتيري المخفف ونشرت بصورة متجانسة وتركت الأطباق بدرجة حرارة الغرفة لمدة 10 دقائق.

ج. وضع الأقرا ص: نقلت أقرا ص المضادات الحياتية إلى سطح الطبق ووضعت بواسطة ملقط معقم وضغطت بصورة خفيفة على سطح الطبق وحضنت بدرجة 37 ْ لمدة 24 ساعة.

د. قراءة النتائج: قيست منطقة التثبيط (وهي المنطقة الشفافة المحيطة بقرص المضاد الحيوي ومن ضمنها قطر القر ص نفسه والخالية من النمو الجرثومي بالملميتر بواسطة مسطرة مدرجة ثم قورنت بالمعدلات القياسية للمضادات الحيوية وحسب نظام NCCIS العام (10).

النتائج

1. نتائج العزل الجرثومي: أظهر ت النتائج جمع (95) عينة من عجول بأعمار 1-5 شهر والتي تعاني من الالتهابات التنفسية كانت (82) تعود لحيوانات حية و(13) تعود لحيوانات هالكة أو مذبوحة. أظهر ت الدراسة إلى وجود (66) إصابة موجبة أ ي بنسبة 69% إذ تم عزل (44) عزلة من (63) مسحة أنفية أ ي بنسبة عزل 96.8%. وعزل (4) عزلات من (7) عينات رئوية أ ي بنسبة 57% كما تم عزل (18) عزلة من (25) عينة دم أ ي بنسبة عزل 72%.

جدول (1) يوضحأنواع وا ٍعداد العينات الموجبة المأخوذة من العجول المصابة

نوع العينة	عدد العينات	العينات الموجبة	النسبة المئوية
مسحات أنفية	63	44	96.8
رئات مصابة	7	4	57
عينات دم	25	18	72
المجموع	95	66	69

تضمنت البكتريا المعزولة (6) أجناس مختلفة إذ مثلت بكتريا *Escherichia coli* أعلى نسبة عزل في الدراسة إذ كانت (50%) تليها بكتريا *Staphylococcus aureus* (15%) وبكتريا *Klebisella pneumonia* (13.6 %) و*Enterobacter* (10.6%) و*Pseudomonas* spp (6%) و*Proteus* (4.5%) وكما هو موضح في جدول (2).

جدول (2) يوضح أنواع وأعداد البكتريا المعزولة من العينات المرضية ونسب عزلها

نوع البكتيريا	عدد العزلات	نسبة العزل
Esherichia.coli	33	50
Staphylococcus.aureus	10	15
Klebsiella.pneumonia	9	13.6
Pseudomonas.aeuroginosa	4	6
Enterobacter	7	10.6
Proteus	3	4.5

2. نتائج اختبار حساسية العزلات للمضادات الحيوية: بينت نتائج اختبار حساسية العزلات البكتيرية للمضادات الحيوية نتائج متباينة وحسب جنس البكتريا ونوع المضاد.

جدول (3) النسب المئوية لحساسية العزلات البكتيرية المعزولة للمضادات الحيوية

المضادات البكتريا	*E.coli*		*Staph.aureus* 10		*Klep.pneumonia* 9		*Enterobacter* 7		*Pseudomonas* 4		*Proteus* 3	
	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
النورفلوكساسين	32	96	10	100	9	100	7	100	4	100	3	100
السبروفلوكساسين	33	100	9	90	9	100	7	100	4	100	3	100
الجنتامايسين	9	27	7	70	8	88	5	71	0	00	2	66
الأمبسلين	3	9	0	00	3	33	1	14	0	00	0	00
الارثيرومايسين	2	6	8	80	2	22	2	28	0	00	2	66
الكلورامفنيكول	2	6	0	00	7	77	2	28	4	100	2	66
البنسلين ج	1	3	0	00	3	33	3	42.8	0	60	1	33
الترايمثوبرم+سلفاميثازول	3	9	7	70	7	77	5	71	4	100	3	100
التتراسايكلين	3	9	6	60	7	77	5	71	0	60	2	66

المناقشة

تلعب الجراثيم دوراً أساسياً أو ثانويا في إصابات الجهاز التنفسي التي تعد من المشاكل المهمة التي تواجه تربية الأبقار وبالأخص العجول بأعمار صغيرة لما تسببه من خسائر اقتصادية متمثلة بالهلاكات والإصابات المزمنة فضلا عن الخسائر الناتجة من قلة الإنتاج وتكاليف العلاج وقلة المناعة (1).

وأشارت نتائج هذه الدراسة إلى عزل (66) عزلة من هذه العينات مثلت فيها جرثومة *Esherichia .coli* أعلى نسبة عزل (50%) وهذا يأتي مطابقا لما حصل عليه (11) وبنسبة (18.5%) وأيضا لما ذكره (12) حول الدراسات التي تضمنت عزل *Esherichia.coli* كأعلى نسبة عزل من العجول المصابة بذات الرئة.

كذلك أظهر ت الدراسة عزل *Staphylococcus aureus* وبنسبة (15%) وجاءت متفقة مع ماذكر ه العديد من الباحثين حول نسبة عزلها من الحيوانات الحقلية المصابة بالأمراض التنفسية وخصوصا ذات الرئة (12) و(13).

وأشار (14) إلى دور الجراثيم الموجودة في المسلك التنفسي حيث ذكر انه ليس من الضروري ان تسبب المرض ولكهنا قد تشارك في الفعل الالتهابي وهذا ما يوضح التباين في نسبة عزل الجراثيم من المسحات الأنفية، الدم، الرئات، وعلاقتها مع بعضها.

كذلك أظهر تنتائج الدراسة عزل العديد من الجراثيم مثل الكلبسيلا الرئوية والزوائف الزنجاريةو الانتروبكتر والمتقلبات وجاءت هذه النتائج متفقة مع العديد من الباحثين (6) و(12).

بينت الدارسة مدى حساسية الجراثيم المعزولة لمضادي (السبروفلوكساسين والنورفلوكساسين) حيث أظهر ت حساسيتها العالية تجاه هاذين المضادين و هذا متفق مع ما جاء به (15) في دراسة حول مضادات الكينولونات إلى ان الحساسية تجاه مضاد السبروفلوكساسين ما تزال عالية وان له كفاءة في علاج حالات الإصابة خصوصا بالجراثيم السالبة لصبغة كرام.

أظهر تجميع جراثيم العائلة المعوية حساسية لمزيج الترايمثوبرم + السلفاميثازول ما عدى عزلات الاشرشيا القولونية فكانت مقاومة له وهذا يفسر اكتساب عنصر مقاومة هذا المضاد الحيوي من قبل جراثيم الاشرشيا القولونية (16).

References

1. Amstutz, H. E.; Anderson, D. P. & Benzel, H. A. (2000). The Merck veterinary manual bovine respiratory disease complex,8th. ed. By Merck and American copyright conversion.
2. Anonymous, (1996). Calf diseases and prevention, statistic line of calf diseases mortality in USA report, University of Wisconsin-Madison.
3. Jones, G. E.; Gilmour, J. S.; Rae, A. G.; Mclauchlan, M. & Nettletor, P. F. (1986). A review of experimental on production chronic pneumonia. Vet. Bull., 56: 251-263.
4. Peter, A. R. (1986). Some husbandry factors affecting mortality and morbidity on a calf-rearing unit. Vet. Rec., 119 (14): 355-357.
5. Scott, P. R. (1997). Epidemiology and treatment of bovine respiratory disease in beef cattle. Cattle Practice. 5(4): 283-288.
6. Quinn, P. J.; Cartet, M. E.; Markey, B. K.; Donett, W. J.; Leonnard, F. C. & Maghire, D. (2002). Veterinary microbiology and microbial disease Blackwell publishing company.
7. Radostits, O. M.; Gay, C. C.; Blood, D. C. & Hinchchliff, K. W. (2000). Veterinary medicine, 9th. ed. London: W. B. Saunders company.
8. Verma, A.; Desai, N.; Shannon K.; Philpott, J. & Hill, R. L. (2001). Intra. and inter generic plasmid- mediated spread of cephalosporin and aminoglycoside resistance amongst klebsiella spp. and other Enterobacteria. Int. J. Antimicrob. Agents.,17: 123-129.
9. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sheriis, J. C. & Turek, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standarized single disk method. J. Clin. Path., 44:439-496.
10. National Committee for clinical laboratory standards. (2002). Performance standards for antimicrobial disk susceptibility test,7th ed., approved standard. NCCLS document M2-A7, national committee for clinical laboratory standards wayne pa.
11. المالكي، علي جواد جابر. (2005). دراسة عزل وتشخيص بعض المسببات الجرثومية الهوائية للإصابات التنفسية من العجول الرضيعة والحالات المرافقة لها. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري–جامعه بغداد.
12. Anderws, A. H.; Blowey, R. W.; Boyd, H. & Eddy, R. G. (2004). Bovine medicine disease and husbandry of cattle respiratory disease, 2nd. ed. By Blackwell publishing company.
13. الزبيدي، عماد عبد الحسين. (1984). دراسة حول العزل الجرثومي والتغييرات المرضية لذات الرئة من الأبقار، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري– جامعة بغداد.
14. Alley, M. R. (1975). The bacterial flora of respiratory tract of normal and pheumonia in sheep. Newzealand Vet. J., 23:113-118.
15. Tupasi, T. E. (2000). Quinolone use in the developing world: state of the art. Drugs 28(2): 55-95.
16. Donald, M. M. (1998). Clinical text book for Veterinary technicians. 4th. ed by Philadelphia London diagnostic shaming and Treatment Techniques. P.217.