عزل و تشخيص بعض الجراثيم الهوائية المسببة للإصابات التنفسية في الأغنام في محافظة الديوانية

مشتاق طالب حسين محسن الروضان
كلية الطب البيطري/ جامعة القادسية

الخلاصة

تم جمع (300) عينة توزعت كالأتي (150) مسحة أنفية و (120) عينة رئوية و (30) عينة دم من الأغنام و التي تعاني من الاخماج التنفسية . أظهرت الدراسة عزل (223)عزلة و توزعت على (12) نوعا و جنسا مختلفا من الجراثيم فيما أظهر (77) نموذج نتيجة سالبة للعزل الجرثومي و فد شكلت جراثيم الاشريشيا القولونية *E. coli* النسبة الاعلى 20.78 % تليها المكورات العنقودية الذهبية *S. aureus* 14.11 % ,بينما شكلت الجراثيم الاخرى نسبا مختلفة الزوائف الزنجاريةPseudomonase aeruginosa الكيلبسيلا الرئوية *Klebsiella pneumonia*e و الباستوريلا الحالة للدم *Pasterurella haemolytica* و الباستوريلا ملتوسيدا *Pasteurella multocida,* و المتقلبات الاعتيادية *Proteus vulgaris* و الوتديات القيحيةCorynebacterium pyogenes و السبحيات الرئوية *Streptococcus pneumoniae*.و المكورات العنقودية البشروية *Staphylococcus epidermdis* و الانتيروبكتر *Enterobacter* spp.و السيتروبكتر*Citrobacter spp* 56,3.92%,2.74%, 3.9%, 9.41%,11.7% , 2.35%, 4.31%, 5.88%, 6.7% على التوالي .درست حساسية هذه العزلات المختلفة من الجراثيم تجاه (10) نوع من المضادات الحياتية المستخدمة اذ اظهرت معظم هذه العزلات حساسية عالية للمضادات الحيوية (النورفلكساسين norfloxacin و السيبروفلوكساسين ciprofloxacin)

المقدمة

تعتبر الاغنام من المصادر الحيوية في اقتصاد البلدان من حيث تعتبر مصدر غذاء بالاضافة الى ان الاغنام تلعب دورا في نقل العديد من الاصابات البكتيرية للانسان[1]. تعد أمراض الجهاز التنفسي من المشاكل الكبيرة التي تواجه تربية الأغنام لما تسببه من خسائر اقتصادية تتمثل بنفوق الأغنام أو الإصابات المزمنة التي ينتج عنها الضعف العام و انخفاض الإنتاج لقلة كفاءة التحويل الغذائي يضاف إليها الخسائر الناتجة عن تكاليف العلاج و التغذية و إجراءات السيطرة بالإضافة الى زيادة تعرض الاغنام للامراض.[2], تتلخص العلامات السريرية لامراض الجهاز التنفسي و التي تتركز في الحمول depression , امتداد الرقبة , فقدان الشهية anorexia , ارتفاع درجة الحرارة pyrexia لما يزيد عن 40.5 م و بشكل خاص في الحالات المرتبطة بجراثيم الباستوريلا ملتوسيدا فضلا عن درجات متفاوتة من صعوبة التنفس و زيادة في تردد التنفس و ملاحظة السعال و العطاس مع ملاحظة مد اللسان و ابقاء الفم مفتوحا و الافرازات الانفية التي تختلف بنوعها و كميتها تبعا لنوع الخمج و العامل المسبب[3]. ان المجرى التنفسي في الحيوانات السليمة اسفل الحنجرة خالي من المسببات المرضية او الدقائق الغريبة بسبب وجود الجهاز المخاطي الهدبي(mucociliary) و الكلوبيلين المناعي IgA و البلاعم السنخية (alveolar macrophage) و الخلايا اللمفاوية التي تساعد على التهام الدقائق و الاحياء المجهرية الغريبة المستنشقة و تطرحها الى الخارج من خلال العطاس(sneezing) ,عدت جراثيم *E.coli* , *Pasteurella , Streptococcus* من اهم الجراثيم المسببة للامراض التنفسية كاحد اهم الاسباب الرئسية في احداث الاصابة التنفسية لذلك جرى تصميم التجربة لغرض عزل و تشخيص الجراثيم الهوائية المسببة للامراض التنفسية في الاغنام و الذي تسبب خسائر اقتصادية كبيرة للبلد. [4]

المواد وطرائق العمل

العينات :- جمعت النماذج من الاغنام المريضة او الهالكة للمدة من 15-11-2009 الى 15-6-2010 و المتضمنة عينات المسحات الانفية(150 عينة) و عينات الرئة (120 عينة) و عينات الدم (30 عينة), اذ بلغ العدد الاجمالي للعينات الاجمالي 300 عينة و التي و ضعت في حاويات بلاستيكية مبردة جرى فحص و زرع هذه العينات في مختبر الاحياء المجهرية –كلية الطب البيطري.

طرائق العمل:

أ- المسحات الأنفية nasal swabs

تم اخذ المسحات من التجويف الأنفي الداخلي nasal cavity للأغنام التي عليها علامات سريريه للإصابات التنفسية بواسطة المسحات القطنية المعقمة .

ب- نماذج الدمblood samples

تم جمع العينات من الأغنام المريضة بالإصابات التنفسية و ذلك بسحب الدم من الوريد الو داجي و باستعمال سرنجات معقمة و يفرغ الدم في أنابيب حاوية على مادة الهيبارين المانعة للتخثر.

ج-عينات الرئة :lung samples

تم جمع الرئات المصابة من الأغنام المذبوحة و يتم ذلك نعد تعيين الآفة المرضية العيانية للرئة و التي يتم تمييزها بملاحظة وجود تكبد او احتقان , تأخذ عينة الرئة المصابة وتوضع في حاويات بلاستيكية مبردة.

د- العزل الجرثومي : تم زرع نماذج المسحات الانفية و الدم و عينات الرئة مباشرة على الاوساط الزرعية الاغنائية و منها اكار الدم blood agar و اكار فول الصويا Tryptic soya agar و من ثم تم عمل مسحات جرثومية وصبغت بصبغة كرام و صبغة المثيلين الازرق و اجري لها زرع على الاوساط الزرعية التفريقية الخاصة و الفحوصات الكيموحيوية و حسب طريقة الباحث Quinn, و جماعته (1998)

ط- فحص الحساسية للمضادات الحياتية :

اتبعت طريقة الباحث Bauer و جماعته [7] و و قورنت النتائج مع نظام (NCCIS1999).

جدول (1) يوضح المدى الحساس و المتوسط الحساسية و المقاوم للجراثيم اتجاه المضادات الحياتية.

Antibiotics	Symbol	ConcenMc g/disc	Inhibition zone(mm)		
			sensitive	Intermediate	Resistant
Ampicillin	A	20	≥17	16-14	≤13
Carbencillin	PY	100	≥17	16-14	≤13
Chloramphencol	C	10	≥18	17-13	≤12
Ciprofloxacin	CIP	5	≥ 21	20-16	≤15
Erythromycin	E	15	≥ 19	18-15	≤14
Gentamycin	GN	10	≥15	14-13	≤12
Norfloxacin	NOR	10	≥17	16-13	≤12
Streptomycin	S	10	≥15	14-12	≤11
Tetracycline	T	30	≥23	22-14	≤13
Vancomycin	VA	30	≥17	16-15	≤14

النتائج

اظهرت نتائج جمع (300) نموذج مرضي من الأغنام المريضة و التي تعاني من الإصابات التنفسية , بان (237) نموذج أعطى نتيجة موجبة للعزل الجرثومي و حوالي (12) جنس مختلف من البكتريا أما (77) نموذج الأخر فقد أعطى نتيجة سالبة للعزل الجرثومي إذ أعطت (119) مسحة أنفية نتيجة موجبة للعزل الجرثومي من أصل (150) مسحة و (15) عينة دم من أصل (30) عينة و (89) عينة رئة من أصل (120) عينة كما في الجدول (2)

جدول رقم (2) : عدد النماذج التي أعطت نمو جرثومي

نوع النموذج	العدد الكلي	عدد النماذج التي أعطت نتيجة موجبة للعزل الجرثومي		عدد النماذج التي أعطت نتيجة سالبة للعزل الجرثومي	
		No.	%	No.	%
مسحات أنفية	150	119	79.3	31	20.7
عينات رئوية	120	89	74.2	31	25.8
عينات الدم	30	15	50	15	50
المجموع	300	223	74.3	77	25.8

شملت الجراثيم المعزولة (12) جنس و شكلت فيها جراثيم *E.coli* اعلى نسبة عزل في هذه الدراسة و بنسبة (20.78%) تليها جراثيم*Staph. aureus* و بنسبة (14.11%) و جراثيم *Pseudomonus aerugenosa* و بنسبة (11.76%) كما موضح بالجدول (3)

جدول(3): يوضح اعداد و نسب الجراثيم المعزولة

الجراثيم	أعداد ونسب الجراثيم المعزولة						المجموع	
	Nasal swabs		Infected lung		Blood			
	No,	%	No.	%	No.	%	No.	%
Escherichia coli	26	10.19	22	8.62	5	1.96	53	20.78
Pasteurella multocida	3	1.18	8	3.13	0	00	11	4.31
Mannheimea heamolytica	4	1.56	2	0.78	0	00	6	2.35
Klebsiella pneumonia	15	5.88	6	2.35	3	1.18	24	9.41
Pseudomonas aeroginosa	15	5.88	11	4.31	4	1.56	30	11.76
Proteus vulgaris	10	3.92	2	0.78	3	1.18	15	5.88
Enterobacter aerogenes	0	00	11	4.31	0	00	10	3.92
Citrobacter divresus	0	00	4	1.56	0	00	4	1.56
Staphylococcus aureus	21	8.23	15	5.9	0	0	36	14.1
Staphylococcus epidermis	6	2.35	1	0.39	0	0	7	2.74
Streptococcus pneumonia	9	3.52	1	0.39	0	0	10	3.9
Corynbacterium pyogen	10	3.92	7	2.74	0	0	17	6.7

تم تشخيص الجراثيم بالاعتماد على الصفات الزرعية و الفحوصات الكيموحيوية و كما مبين بالجداول (4) و (5) و (6) و كما بينت نتائج اختبار حساسية العزلات الجرثومية للمضادات الحياتية نتائج متباينة حسب جنس البكتريا و نوع المضاد الحيوي و كما موضح بالجدولين (7) و (8).

جدول (4) يوضح الصفات الزرعية لمستعمرات الجراثيم السالبة لصبغ كرام.

Bacterial isolates	EMB(GREEN METALIC SHEEN)	Triple Sugar Iron(TSI) Slant/butt	MacConky agar	Brilliant green agar
E.coli	+	y/y, gas, no H_2S	Bright pink coloines	Yellow-green
Klebsiella Pneumonia	_	y/y, gas, no H_2S	pink coloines	Yellow-green
Enterobacter aerogenes	_	y/y, no H_2S	Pale pink coloines	Yellow-green
Citrobacter diversus	_	R/y,H_2S	Pale colonies	green
Proteus vulgaris	_	R/y, H_2S	Pale colonies	Red colonies
Pseudomonas aerugenosa	_	–	Pale colonies with pigment	Red+ pigment

(+):positive. (–):negative, R=RED, Y=yellow . H_2S=sulfurehydrate production, EMB=Eosin Methyline Blue.

جدول (5) يوضح الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص الجراثيم السالبة لصبغة كرام

Bacteria	Biochemical test														
	Cat.	Oxi.	Ind	MR.	VP.	Urs.	Cit.	H_2S	Moti.	Gel.	Nit.	Glu.	Lac.	Suc.	Man.
Pasturella multocida	+	+	+	_	_	_	_	+	+	_	+	+	-	+	+
Pasturella hemolytica	+	+	_	_	_	+	_	_	+	_	_	+	+	+	+
Escherichia coli	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+
Klebsiella pneumonia	+	-	-	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+
Proteus vulgaris	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Enterobacter aerogenosa	+	-	-	-	+	-	+	-	+	-	+	+	+	+	+
Citrobacter	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+
Pseudomonas. aerugenosa	+	+	-	-	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	+

جدول (6) يوضح الاختبارات الكيموحيوية المستخدمة في تشخيص الجراثيم الموجبة لصبغة كرام .

Bacterial isolates	Coagulase	Gelatine liquification	Charbohydrate fermentation			Nitrate reduction	Manitol salt agar	Urease	Pigment production	Heamolysis on blood agar	Motility	Oxidase	Catalase
			Glucose	Lactose	Manitol								
Staphylococcus aureus	+	+	+	+	+	+	+	+	+a	+	–	–	+
Staphylococcus epidermdis	–	–	+	–	–	–	+	–	–	+	–	–	+
Streptococcus pneumonia	–	+	+	+	–	+	*	–	–	+	–	+	–
Corynbacterium pyogen	–	+	+	+	–	–	*	–	–	+	–	–	–

المناقشة

تم عزل (12) جنس من الجراثيم و التي شكلت فيها جراثيم *E.coli* أعلى نسبة و ياتي هذا متوافقا مع لما سجل في نتائج Andrews و جماعته[3] و *Past. multocida* و *Past. heamolytica* و هذا مطابقا إلى Quinn وجماعته[10] و التي أظهرت بان نسبة *Past.* multocida اعلى من نسبة *Past. heamolytica* و جاء ذلك مطابقا الى Alley [1] و الذي اشار الى دور الحراثيم الموجودة في المسلك التنفسي اذ ذكر انه ليس من الضروري ان تسبب المرض و لكنها قد تشارك و بشكل فعال في الفعل الالتهابي و هذا ما لوحظ في تباين نسب عزل الجراثيم من العينات. و اظهرت النتائج كذلك عزل العديد من الجراثيم مثل المكورات العنقودية و السبحية و الوتديات القيحية و الكلبسيلا الرئوية و الزوائف الزنجارية و المتقلبات و الانتيروبكترو السيتروبكتر و جاءت متفقة مع ما ذكرع العديد من الباحثين حول نسبة عزلها من الحيوانات الحقلية المصابة بالامراض التنفسية و خصوصا ذات الرئة [6و9] واوضحت الدراسة مدى مدى حساسية الجراثيم للمضادات الحياتية و خصوصا السيبروفلوكساسين و النورفلوكساسين حيث كانت نسبة الحساسية 100%و هذا مطابق للباحثDonald[7] و الذي اكد فعالية ciprofloxacin و norfloxacin ضد جراثيم *E.coli* و *Enterobacter* و *Pseudo. aerogenosa* و *Klebseilla* spp. و *Pasteurella spp.* و *Staphylococcus* و *Streptococcus* و *Corynbacterium* spp و *Proteus* من خلال تثبيطه لانزيمات الDNA الجرثوميةbacterial DNA gyrase نوع 11 topoisomerase الضروري خلال اطوار النمو الجرثومي ل Growth and stationary phases اما بقية المضادات الحياتية فكانت نسب الحساسية مختلفة و حسب نوع الجرثومة و هذا جاء متوافق مع ما ذكره Gilmour و جماعته[8]

المصادر

1. Alley, M. R., (2002). Pneumonia in sheep in New Zealand: an overview. New Zealand Veterinary Journal 50:11.
2. Amstutz., H. E.; Anderson, D. P. and Benzel, H. A.(2000). The merck veterinary manual, ovine respiratory disease , 8th . Ed. By merck & co.INC. pan- American copy right convention.
3. Andrews, A.H.blowey, R.W. ; Boyd H. and Eddy , R.G.(2004). Animal medicine disease and husbandary of cattle and sheep respiratory disease , 3rd. Ed. By black well publishing company.
4. Radostitis, O. M. and Blood, D. C. (1989). Veterinary Medicine. 7th ed. A text book of the diseases of cattle , sheep, Pigs, goats and norses. Bailliere Tindal, London. PP.643-657.
5. Blecha, F. (2000). Immunology. In: Mersmann, *H.1*, and Pond, W.G. (eds) Biology o f the Domestic Pig. Cornell University Press, Ithaca, New York (in press).
6. Bruere,A.N., West, D. and Ridler, A.L., (2002). Enzootic pneumonia, In: The sheep: health, disease & production: written for veterinarians and farmers. Veterinary Cont nuing Education Massey University, Palmerston North, N.Z., pp. 100-108
7. Bauer, A. W.; Kirby, W. M. M.; Sherris, J. C. and Turck, M. (1966). Antibacterial susceptibility testing by a standardized single diskmethod. Am. J. Clin. Pathol., 45: 493-496
8. Gilmour, N. J. L. (1980). *Pasteurella haemolytica* infections in sheep. Veterinary Quarterly 2, 191-198.
9. Martin , W. B. and Aitken , F. D. (2000). Diseases of sheep. 3rd ed. Blackwell science V. K.
10. Quinn. P. , J. ; Carter, M. E. and Markey, B. K. (1998). Clinical veterinary microbiology. Mosby international Baltimore, PhiladiLphia.

Isolation and identification of some aerobic bacteria associated with respiratory infections of sheep in Al-Diwaniya Governorate

M. T. Husseein M. Alrodhan
Coll.of Vet. Med. /Unive. Of Al-Qadisiya

Abstract

This study was included collection of 300 samples divided into 150 nasal swabs 120 infected lungs 30 blood samples from infected sheep suffering from respiratory infections the study showed isolation 223 bacterial isolates which divided into 12 species and 61 samples were negative to bacterial isolation. *E.coli* has the higher isolation percentage between other percentages 20.78% then *Staph aureus* at percentage 14.11% then other bacteria as *Klebsiella pneumonia*, *Streptococcus pneumonia*, *Staph epidermis*, *Pasterurella haemolytica*, *Enterobacter*, *Corynebacterium pyogenes* , *Pasteurella multocida*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter* and *Pseudomonase aeruginosa.* The sensitivity test was done to all isolates toward 10 types of antibiotics where all isolates showed sensitive to norfloxacin and ciprofloxacin.