عزل وتشخيص البكتريا والفطريات من الذباب المنزلي في مدينة الناصرية

م. م ميثاق ستار عبود

جامعة ذي قار -كلية التربية للعلوم الصرفة –قسم علوم الحياة

الخلاصة :

تم خلال الدراسة عزل وتشخيص بعض أنواع الفطريات والبكتريا الموجودة على السطح الخارجي للذبابة وكذلك معي الذباب المنزلي الذي تم جمعه من مناطق سكنية مختلفة في مدينة الناصرية وكان أكثر العزلات البكتيرية شيوعاً بكتريا *Esherichia coli* بنسبة (13.52 %) تلتها البكتريا *Staphylococcus aureus* بنسبة (16.45 %) ثم الفطر *Aspergillusniger* بنسبة (15.18 %) , عند عزل البكتريا والفطريات من السطح الخارجي للحشرة . وفيما يخص البكتريا والفطريات المعزولة من معي الذباب فقد سجلت البكتريا *Staphylococcus aureus* أعلى نسبة عزل مئوية وكانت (20.87%) وسجل الفطر *Aspergillusniger* أعلى نسبة عزل مئوية وكانت (23.94%) وبذلك أكدت الدراسة دور الذباب المنزلي في احتمال نقل هذه الجراثيم المرضية مما يجعلها تشكل خطراً صحياً للإنسان والحيوان .

المقدمة :

الذبابة المنزلية ليست حشرة مؤذية أو تسبب الازعاج بل يتعدى خطرها الى كونها ناقل بايولوجي أو ميكانيكي مهم للعديد من الجراثيم المرضية مثل البكتريا والفطريات والطفيليات والفايروسات بين الانسان والحيوان (Service , 2000) . اذ ينقل الذباب المنزلي العديد من العوامل المرضية أو مسببات الامراض عن طريق اجزاء جسمها المختلفة مثل الكيوتكل أوالسطح الخارجي لجسم الحشرة واللواحق وكذلك اجزاء الفم وافرازاتها مثل القيء والفضلات (Gough&Torgenson, 1983) .وأهم هذه الامراض التي يمكن ان تنتقل عن طريق الذباب المنزلي حمى التايفوئيد والكوليرا والتسمم الغذائي والزحار والاسهال والجمرة الخبيثة وغيرها (Service , 2000) .

كما أشار Macovei&Zurek, 2006 الى ان الذباب المنزلي يمتلك القدرة على نقل البكتريا المقاومة للمضادات وذات الضراوة العالية . وذكر Banjo *et al* .,2004 بان يرقات الذباب المنزلي وخاصة الاجزاء الداخلية لليرقة (المعي) يمكن ان تنقل العديد من الجراثيم مثل البكتريا والفطريات والابتدائيات . كما وجد ان هذا النوع من الذباب *Muscadomestica* قادر على حمل اكياس عدد من الابتدائيات مثل *Entamoebahistolytica* و *Giardia lambillia* كذلك بيوض بعض الديدان مثل *Ancylostoma* و *Ascaris*Freitas*et al.*,1981 .

ونظراً لما يسببه الذباب المنزلي من مشاكل صحية لذا يجب السيطرة على الذباب كذلك يجب التخلص من الجراثيم المرضية وواحدة من هذه الخطوات هو عزل وتشخيص هذه الجراثيم وكذلك التقليل من كثافة الذباب المنزلي في بيئة الانسان والحيوان لذا تهدف الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص البكتريا والفطريات المتواجدة على السطح الخارجي للذباب الخارجي للذباب المنزلي والاعضاء الداخلية للحشرة مثل المعي .

المواد وطرائق العمل :

جمعت 200 ذبابة منزلية من مناطق سكنية مختلفة في مدينة الناصرية ونقلت بعد ذلك الى المختبر ووضعت في الثلاجة في درجة الانجـــــماد لمدة 15 دقيقة لغرض تخدير العيــنات (الذباب) وتم غسلها وذلك بوضعها في 1 مل من الماء المعقم لمدة دقيقة واحدة مرتين , ثم تم وضعها في محلول ملحي بتركيز 0.85 % لغرض التنقيع (2 مل) ثم نقل 0.1 مل من النقيع الى الاطباق الحاوية على الوسط الزرعي المناسب سابروید دكستروز اكار SDA ووسط البطاطا دكستروز اكار PDA بالنسبة للفطريات ووسط اكار الدم والماكونكي بالنسبة للبكتريا وحضنت الاطباق تحت درجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة بالنسبة للبكتريا و 3-14 يوماً بالنسبة للفطريات Nunes*et al.*,2002 ولغرض عزل الجراثيم من الاجزاء الداخـلية للذباب (المعي) تم في البداية تعقيم السطح الخارجي لعينات الذباب وذلك بغسلها بالكحول الايثلي بتركيز 70 % ثم تغسل بعد ذلك برفق باستخدام الماء المعقم وباستخدام مجهر التشريح , تم تشريح الحشرة باستخدام ادوات تشريح معقمة لاستخراج المعي ثم سُحق المعي باستخدام آلة مستدقة الرأس مع 2 مل من المحلول الملحي لغرض التنقيع ثم يؤخذ 0.1 مل من النقيع ويزرع على الاوســــــــاط المذكورة وتحـــــضن الاطباق كما مر ذكره سابقاً Nunes*et al.*,2002.

التشخيص المختبري للبكتريا

التشخيص المظهري Morphological identification

تمت دراسة الصفات المظهرية لمستعمرات البكتريا النامية على وسط اكار الدم واكار الماكونكي من حيث شكل المستعمرة ولونها وطبيعتها كما تم اجراء فحص الشريحة للتعرف على شكل البكتريا ونوع اصطباغها بصبغة كرام (Collee*et al.*,1996).

الفحوصات الكيموحيوية Biochemical test شملت هذه الاختبارات ما يأتي :

- فحص الاندول Indole test وفحص كليكلر Kliglars' test وتم بالاعتماد على (Macffadin , 2001).
- فحص تخمر السكريات Sugar fermentation تم بالاعتماد على (Talib ,1996) .
- فحص احمر المثيل – فوكس بروسكاور Methyl red-vogesproskaurs test وفحص قابـــــليـــــة البكـــــتريا على الحـــــركة Motility بالاعتـــــــماد على (Brooks *et al.*,1998).

- فحص انتاج انزيم اليوريوز Ureas test وفحص انتاج انزيم الكتاليز Catalase test وفحص التخثر Coagulase test وفحص اختبار تحلل الدم Blood haemolysis test بالاعتماد على (Colleet *al.*,1996).
- اختبار تحلل الجيلاتين Gelatin liquefaction test وفحص انتاج الاوكسيديز Oxidase test بالاعتماد على (Baron *et al.*, 1998) والنمو على وسط المانيتول Mannitol salt agar بالاعتماد على (Betty *et al.*, 1999) .

التشخيص المختبري للفطريات

تم تشخيص الاعفان Molds اذ اعتمدت الصفات الزرعية المظهرية للمستعمرات مثل شكل ولون وقطر المستعمرة بالاضافة الى الصفات المجهرية للمستعمرات مثل شكل الخيط الفطري وحجمه ولونه والكونيدات وبالاعتماد على (Ellis , 1994;DeHoog&Guarro,1995;Midgley *et al.*,1997) .

أما الخمائر فقد شخصت باستخدام الاختبارات البايوكيميائية الاتية :

- النمو في درجة جرارة 37 مْ واختبار تكوين انبوب الانبات Germ tube formation واختبار تحلل اليوريا Hydrolysis of urea بالاعتماد على (Ellis ,1994).
- اختبار تخمير السكريات وتمثيل السكريات بالاعتماد على (Colleet *al.*,1996)

حللت النتائج احصائياً باستخدام تحليل مربع كاي Qi squar x (الراوي , 1992) .

النتائج :

تم خلال الدراسة عزل وتشخيص 13 نوعاً من البكتريا و12 نوعاً من الفطريات من السطح الخارجي لجسم الذبابة جدول (3,1) , وعند عزل البكتريا من السطح الخارجي لجسم الذبابة اظهرت البكتريا *Esherichia coli* السيادة على بقية الانواع البكتيرية بنسبة 13.52 % وأقلها سيادة أو ظهوراً البكتريا *Seratiasp* بنسبة 2.94 % جدول (1) . أما بالنسبة للفطريات فقد سجل الفطر *Pencilliumsp* أعلى نسبة وكانت 16.45 % وأقلها نسبة كانت للفطرين *Geotrichumsp* و *Microsporumsp* بنسبة 1.26% جدول (3) .

كما أظهرت النتائج عزل وتشخيص 9 أنواع من البكتريا من الفطريات من الاجزاء الداخلية لجسم الحشرة (المعي) وكانت البكتريا *Staphylococcus aureus* هي السائدة بنسبة 20.87 % في حين أظهرت الاجناس *Enterobactersp* و*Klebsiellaspp* أقل نسبة 4.39 % جدول (2) . أما بالنسبة للفطريات سجل الفطر *Aspergillusniger* أعلى نسبة وكانت 23.94 % في حين أظهر الفطر *Candida Tropicals* أقل نسبة في العزل 5.63 % جدول (4) .

كما أظهرت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية بين السطح الخارجي والاحشاء الداخلية لجسم الذبابة في كثافة الجراثيم التي تحملها (X^2المحسوبة = 6.358 , X^2المحسوبة

=20.277) بالنسبة للبكتريا (X^2 المحسوبة = 4.381 , X2=18.547) بالنسبة للفطريات .

جدول (1) : العدد الكلي والنسبة المئوية للبكتريا المعزولة من السطح الخارجي للذبابة المنزلية .

نوع البكتريا	العدد	النسبة المئوية
Esherichia coli	23	13.52
Staphylococcus aureus	21	12.35
Sterptococcusfaecalis	18	10.58
Entrobactersp	12	7.05
Staphloccucusepidermidis	12	7.05
Klebsiellaaerugens	10	5.88
Salmonella typhi	8	4.7
Seratiamaracescens	5	2.94
Streptococcus pyogenes	16	9.41
Proteus vulgrus	15	8.82
Shigellasp	7	4.11
Bacillus subtitius	14	8.23
Micrococcus sp	9	5.29
المجموع	170	% 100

جدول (2) : العدد الكلي والنسبة المئوية للبكتريا المعزولة من معي الذبابة المنزلية .

نوع البكتريا	العدد	النسبة المئوية
Esherichia coli	17	18.68
Staphylococcus aureus	19	20.87
Staphloccucusepidermidis	11	12.08
Streptococcus pyogenes	13	14.28
Bacillus cereus	9	9.89
Bacillus subtitius	6	6.59
Entrobactersp	8	8.79
Klebsiellaaerugens	4	4.39
Proteus vulgrus	4	4.39
المجموع	91	%100

جدول (3) : العدد الكلي والنسبة المئوية للفطريات المعزولة من السطح الخارجي للذبابة المنزلية

نوع الفطر	العدد	النسبة المئوية
Aspergillusniger	24	15.18
Aspergillusflaves	21	13.29
Aspergillusterreus	10	6.32
Penicilliumsp	26	16.45
Candida albicans	21	13.29
Candida tropicals	5	3.16
Alternariaalternaria	16	10.12
Geotrichumsp	2	1.26
Trichophytonsp	4	2.53
Microsporumsp	2	1.26
Cladosporiumcladosporates	14	8.86
Fusariumsp	13	8.22
المجموع	158	% 100

جدول (4) : العدد الكلي والنسبة المئوية للفطريات المعزولة من معي الذبابة المنزلية

نوع الفطر	العدد	النسبة المئوية
Aspergillusniger	17	23.94
Aspergillusflaves	10	14.08
Penicilliumsp	14	19.71
Candida albicans	10	14.08
Fusariumsp	8	11.26
Candida tropical	4	5.63
Alternariaalternaria	8	11.26
المجموع	71	%100

المناقشة :

نتائج هذه الدراسة اشارت الى ان الذباب يتعدى ضررها كونها حشرة مزعجة الى كونها تشكل خطر صحي مؤكد من خلال دورها في نقل الجراثيم بين الانسان والحيوان . وقد تم خلال الدراسة عزل وتشخيص 13 نوعاً من البكتريا من السطح الخارجي و 9 أنواع من الاحشاء الداخلية لجسم الحشرة وسجلت البكتريا *Eshreshia coli* أعلى نسبة مئوية وكانت 13.52 % وهذه النتيجة تتفق مع دراسة Vazirianzadeh*et al.*,2008 الذي أكد سيادة البكتريا *Eshreshia coli* بنسبة 36.5 % أما الانواع البكتيرية الاخرى التي تم عزلها فهي مشابهة الى الانواع التي تم عزلها في دراسة Vazirianzadeh*et al.*,2008 وهنالك العديد من الدراسات التي اشارت الى دور الذباب في حمل البكتريا فقد قام Sulaiman*et al.*,2000 بعزل 18 نوعاً من البكتريا المعوية من أنواع مختـــــــلفة من الذباب في ماليزيا , كما قام Nazni*et al.*,2005 بعزل *Bacillus sp* , *Micrococcus sp, Staphyloccussp* من فضلات وقيء الذباب المنزلي اضافة الى عزلها من السطح الخارجي لجسم الذباب . وقام Banjo *et al.*,2005 بعزل أنواع بكتيرية مشابهة للانواع التي تم عزلها في الدراسة الحالية من يرقات الذباب المنزلي في نيجيريا . وفي المانيا قام Forster *et al.*,2009 بعزل بعض أنواع البكتريا المرضية مثل *Campylocterjejuni* و *Eshreshia coli* من السطح الخارجي وامعاء الذبابة .

تم خلال الدراسة كذلك عزل وتشخيص 12 نوعاً من الفطريات من السطح الخارجي و 7 أنواع من الاجزاء الداخلية (المعي) لجسم الذبابة وقد سجل الفطر *Penicilliumsp* أعلى نسبة مئوية وكانت 16.45 % وهذا خلاف ما توصل اليه Zavrin*et al.*,2007 الذي أشار الى ان السيادة كانت للفطر *Aspergillussp* بنسبة 30% تلاه الفطر *Pencillium* بنسبة 25 % وخلاف ما توصل اليه Sales *et al.*,2002 ايضاً الذي أكد ان السيادة كانت للجنس *Aspergillussp* ويتبع بالجنس *Pencillium* اذ سجل الفطر *A.flavus* نسبة 23.8 % و *A.niger* بنسبة 14.4 % أما في

دراستنا الحالية فقد سجل الفطر *A.flavus* نسبة 13.29 % أما الفطر *A.niger* فقد سجل نسبة 15.18 % في حين أشار Norberg*et al.*,1999 الى ان السيادة كانت للفطر *Penicillium* عند عزله للفطريات من بالغات الذباب المنزلي التي تم جمعها من المستشفيات في البرازيل بالاضافة الى ان الانواع الفطرية الفطرية التي تم عزلها في الدراسات السابقة كانت مشابهة للانواع الفطرية التي تم عزلها في دراستنا الحالية كما ان هنالك العديد من الدراسات التي اشارت الى دور الذباب في نقل العديد من الفطريات مثل دراسة Banjo *et al.*,2003 الذي قام بعزل الفطريات *Alternariasp , Fusariumoxyspoum, Cladosporiumsp* من السطح الخارجي ليرقات الذباب وعزل الفطريات *Pencilliumaxalicum , Aspergillus tamari Fusariumoxysporum,* من الاجزاء الداخلية للذبابة (المعي) .

كما قام Casta&Oliverira , 1998 بعزل نوعين من الفطر *Penicillium* هما *P.corylophilum* و *P. fellutanum* من الذبـــاب المـــــنزلي . وعـــــــزل Kaaya&Okeen , 1990 أنواع مختلفة من الفطريات من يرقات وبالغات الذباب المنزلي من بينها *A.niger* و *A.flavus* و *Pencillium* و *Fusariumsp* فضلاً عن دراسة Forster et al.,2009 الذي عزل الفطرين *Cabdidaalbicans* و*C.Tropicals* من السطح الخارجي وأمعاء الذبابة وغيرها من الدراسات التي اثبتت ان الذباب المنزلي حاملاً للسبورات الفطرية وتم خلال الدراسة عزل وتشخيص نوعين من الفطريات الجلدية هما *Microsoyum* و*Trichophyton* كما هو الحال في دراسة Zarrin*et al.*,2007 الذي عزل ايضاً هذين النوعين من السطح الخارجي لجسم الذبابة . قد يرجع سبب الاختلاف في دراستنا الحالية عن الدراسات السابقة في الانواع المعزولة ونسبها المئوية الى الاختلاف في اماكن جمع العينات ففي دراستنا الحالية تم جمع العينات من المناطق السكنية أما في الدراسات الاخرى فقد تم جمعها أما من المجازر أو اماكن تربية الحيوانات وغيرها فضلاً عن الاختلاف في اعداد العينات والظروف البيئية لمنطقة الدراسة .

وأظهرت نتائج التحليل الاحصائي عدم وجود فروق معنوية بين كثافة الجراثيم المحمولة على الســـطح الخارجي والاجـــــزاء الداخليـــــة (المعي) على عـــكس ما توصـــل اليه Akharaiyi&Omoyo,2005 الذي أكد ان الجزء الداخلي للحشرات ومن بينها الذباب المنزلي يحتوي على بكتريا أكثر من السطح الخارجي بينما تكون كثافة الفطريات على السطح الخارجي أكثر من الاجزاء الداخلية . في حين أشار Banjo *et al.*,2002 انه لم يكن هنالك فرقاً معنوياً في عدد المايكروبات المحمولة على كلا من السطح الخارجي ومعي الذبابة .

References:

- **Akharaiyi** , FC &Omoya , OF .(2005). Microbial survery of insect – pests in five major twon of ondostate , Nigeria . Global Journal of Enviromental sciences vol.4(2):131-134.

- **Banjo**, AD.; Lawal , OA. And Osinuga , BO.(2004). Reservoir competence of *Alphitobiusdiasperius*(cleoptera : Tenebrionidae) in south west Nigeria poultry House .Asian J. microbial . Biotech .Environ ,sci . 6(3) : 7- 11.

- **Banjo**, AD.; Lawal , OA. And Adeduji, OO. (2005) . Bacteria and fungi isolated from house fly (*Muscadomestica L.*)Larvae . African Journal of Biotechnology vol.4(8) .pp.780-784.

- **Banjo**, AD.; Lawal , OA. And Akintola , OI. (2006).Bacteria and fungi Associated with luciliacurpina (sheep Blowfly) Larvae . Research Journal of Agriculture and biological sciences .2(6) : 358-364.

- **Baron** ,EJ.;Peterson , L.R.andFingold , SM.(1994). Bailey and scotts .Dignostic microbiology .9th C.V. Mosby , Co ., U.S.A.

- **Betty** ,A;Forbes , F; Sahm , H; Weiss , F.(1999). DignosticMicrobioloy .10 thed , New York ,P502-508.

- **Brooks**, GF.;Butol, JS.and Mores , SA.(1998). Jawetz,melmicka and Aldberge's medical microbiology .21st .ed Appleton and langemAsimon and schustero; California.

- **Collee**, JG.;Fraser, AG.;Marmion , BP.andSimmon ,AS.(1996).Practical medical microbiology .14th .ed.Chur chill living stone , London .P.P. : 106,116.

- **Costa** ,CL&Oliveira , Pc.(1998). *Penicillium* species in mosquitoes from two Brazilian regions , J Basic microbial; 83:343-7.

-**De Hoogde** , GS. &Guarro , J.(1995). Atlas of Clinical fungi . Center albureauvoorshimmel cultures and universitalRovivaivirgill ,Espain .720P.

-**Ellis** , DH.(1994). Clinical mycology . The human opportunistic mycoses .gillinham .printers pty . Ltd ,Austerlia . 166 P.

- **Forster** , M; Sievert , K; Messier , S; Klimpel , S&pfefer , K.(2009). Comprechensive study on the occurrence and Distribution of pathogenic microorganisms carried by synanthropic files cought at different Rural location in Germany . Journal of Medical Entomology 46(5):1164-1166.

- **Freitas** MG; Costa , HMA, Costa , Jo &Iide , P.(1981). EntomologiaeAcarologiaMedicaeveterinaria ,59.ed .; precisaEditoraGraficaLtda , Belo Horizonte . 253pp.

- **Gough ,**PM&Jorgenson , RD.(1983). Identification of PorcieTransmissble gastro-enterites Virus in house flies (*MuscadomesticaLinneaus*) .Am J vet Res uu: 2078-2082.

- **Macovei**, L and Zurek , L.(2006). Ecology of Antibiotic Resistance Genes : Characterization of Enterococci from houseflies collected in food settings Applied and Environmental microbiology ; 72:4028-4035.

- **Macffadin** , JF.(2001). Biochemical test for identification of medical bacteria .3rd .ed.the Williams and Willims .co.,London .

-**Midgley** ,G.;Clayton , YM.andItay , RJ.(1997). Diagnosis in colormedicalmycology .Moshywolfe , an imprint of mosby international , Spain , 155 p.

- **Nunes**, SM; costa , S; Gisela , L; Elias , VR and Bittencourt , P.(2002). Isolation of fungi in *MuscadomesticaLinnueus*. 1758 (Diptera :Muscidae) captured at two natural breeding grounds in the munivipality of seropedicaRiode Janeiro , Brazil . Brazil Mem Institute OS waldo Cruz; 97;1107-1110.

-**Zarrin** , M; Vazirianzadeh , B; solary , SS; Mahmoud abadi , AandRahdar , M.(2007). Isolation of fungi from housefly (*Muscadomestica*) in Ahwaz , Iran .Pak edScivol .23 No . 6 917-919.

-**Service** , MW.(2000). Medical entomology for students .2nd ed. Cambridge university press.

- **Sulaiman**, S; Aziz , AH; Hashim , Yand Abdul Rahim , S. (1998). Isolation entero-pathogenic bacteria from some cyclorrhaphan flies in malaysia Malaysian Applied Biology ; 17;129-133.

- **Talib**, VH.(1996). A hand book of medical laboratory Techniques . G.B.C.1st .ed. Published and distributor , India .

-**Vazirianzadeh ,**B;Solary , SS; Rahdar , M; Hajhossien , R and Mehdinejad M.(2008). Identification of Bacteria which possible transmitted by *Muscadomestica* (Diptera : Muscidae) in the region of Ahwaz , Iran . Jundishapur Journal of microbiology (1): 28-31.

Isolation and Identification of Bacteria and fungi from housefly (*Muscadomestica .L*) in Nassyriah

Abstract

This study was carried out to isolation and identification of bacteria and fungi found on the body surface and the gut of the houseflies were collected from residential areas in Nassyriahcity . The study showed that *Esherichia coli* are the most common bacterial isolate from body surface of the fly and the *Penicillium* are the most common fungal isolate with a percentage of 13.52% and 16.45 % respectively .*Staphylococcus aureus* record a high rate of bacterial isolate from the gut of insect 12.35 % while the*Aspergillusniger*showed also a high rate of fungal isolate from the gut 15.18 %. The results of the current study confirm that flies cause potentially serious health risks .

Key words : House fly , Bacteria , fungi