المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٣، عدد إضافي ١، ٢٠٠٩ (١٤٥-١٤٨)
وقائع المؤتمر العلمي الخامس، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

عزل الجراثيم الهوائية من التجويف الأنفي للحملان السليمة

هيفاء حسين علي وإحسان منير احمد

فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

الخلاصة

تم التحري عن الجراثيم الهوائية المتواجدة في التجويف الأنفي للحملان السليمة ظاهرياً وذلك بفحص ٧٠ مسحة أنفية أخذت من حملان متواجدة في مناطق مختلفة من مدينة الموصل للفترة من آذار ٢٠٠٩ إلى حزيران ٢٠٠٩، وقد تم عزل ١٤ نوع من الجراثيم كانت على التوالي Bacillus spp. ١٤٪، Corynebacterium ١١,٩٪، Eenterococcus ١١,٢٪، Streptococcus و E. coli و Pseudomonas ٨,٤٪ لكل واحد منهم، Nocardia ٧,٧٪، Staphylococcus saprophyticus ٧٪، Klebsiella pneumoniae و Mannheimia haemolytica ٦,٣٪ لكل منهما، Staphylococcus aureus و staphylococcus epidermidis ٣,٥٪ لكل منهما، Actinomyces pyogenes ٢,١٪، وكانت اقل نسبة عزل هي Serratia marcescens ١,٤٪. كما شكلت الجراثيم الموجبة لصبغة كرام ١٤٣/٩٩ (٦٩,٢٪) بينما كانت نسبة الجراثيم سالبة الكرام ١٤٣/٤٤ (٣٠,٨٪). وبينت الدراسة أن النسبة المئوية لنوع العزل الجرثومي نوعان جرثوميان هي الأعلى من بقية أنواع العزل الجرثومي. بالإضافة إلى ذلك فقد بينت الدراسة أن العديد من الجراثيم التي تم عزلها في هذه الدراسة تعتبر ممرضة فرصية حيث أن M. haemolytica، K. pneumoniae، A. pyogenes، غالبا ما تكون مرافقة للأمراض التنفسية. كما أوضحت الدراسة أن هناك انخفاض في أعداد الجراثيم السالبة الكرام بالمقارنة مع ازدياد أعداد الجراثيم الموجبة الكرام.

Isolation of aerobic bacteria from nasal cavity of healthy lambs

H. H. Ali and I. M. Ahmed

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The aerobic bacteria were investigated in this study using 70 nasal swabs collected from the nasal cavity of healthy lambs in Mosul city. The study extended from March to June 2009. 14 bacterial species were isolated, they included Bacillus spp. 14%, Corynebacterium 11.9%, Eenterococcus 11.2%, Streptococcus, E. coli and Pseudomonas 8.4% for each one, Nocardia 7.7%, Staphylococcus saprophyticus 7%, Klebsiella pneumoniae and Mannheimia haemolytica 6.3% for each species, Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis 3.5% for each species, Actinomyces pyogenes 2.1% and finally Serratia marcescens 1.4% had the lowest isolation percentage. Summing-up, Gram's positive bacteria predominated over Gram's negative ones 99/143 (69.2%) vs. 44/143 (30.8%). Two bacterial species were the highest type of isolation frequency. Many isolated bacteria were considered as opportunistic pathogens, M. haemolytica, A. pyogenes, and K. pneumoniae were frequently associated with respiratory diseases. Also Gram's positive bacteria predominated over Gram's negative ones.

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

يعتبر الضأن مصدر مهم لإنتاج البروتين الحيواني حيث يحتل الصدارة بالنسبة للثروة الحيوانية والإنتاج الحيواني في العراق (١،٢). وتعد الأمراض التنفسية وذات الرئة من أكثر الأمراض المهمة التي تسبب خسائر اقتصادية كبيرة في الضأن نتيجة نسبة الإصابة والهلاكات العاليتين (٣-٦). أجريت العديد من الدراسات حول الأمراض التنفسية وذات الرئة في الحملان في العراق، وهناك العديد من الدراسات أجريت في محافظة نينوى حيث تم عزل وتشخيص العديد من المسببات المرضية وبالأخص الجرثومية منها (٣،٤،٧-٩). أشارت الدراسات إلى عزل العديد من الجراثيم من الأنف والرغامي للضأن والحملان السليمة والتي تدل على أن هذه الجراثيم متواجدة في الممرات التنفسية العليا وإن البعض منها تصبح ممرضة عند تعرض

الحيوان الى الإجهاد أو الكرب مثل سوء الإدارة، الازدحام، النقل والتسويق، التغيرات المناخية والبيئية وغيرها من الأسباب، بالإضافة إلى وجود مسببات مرضية أخرى مثل الإصابة بالفايروسات والمايكوبلازما (٣،١٠). أشارت المصادر (١١-١٣) إلى عزل جراثيم عديدة من الممرات التنفسية العليا والتي من الممكن أن تصبح ممرضة وتسبب ذات الرئة في حالة تخطيها لدفاعات الجسم الميكانيكية والمناعية ومن هذه الجراثيم Bacillus spp.، Staphylococcus، E. coli، Corynebacterium، Streptococcus، Eenterbacter، Mannheimia، Klebsiella، Actinomyces، Pseudomonas. في حين أكد (٨) انه استطاع عزل ١٠ أنواع جرثومية من مسحات أنفية لحملان تسمين سليمة ظاهريا وهي Pasteurella haeomlytica، Moraxella، Streptococcus، Bacillus spp.، Staphylococcus، E. coli، Micrococcus، Pseudomonas. ونتيجة للتداخل الحاصل بين الجراثيم المتواجدة في الممرات التنفسية مع العوامل الأخرى المسببة لإصابات الجهاز التنفسي فقد أصبح من الصعوبة معرفة المسببات الحقيقية عند حدوث الإندلاعات المرضية الجرثومية، حيث أن الكثير من هذه الجراثيم هي جراثيم فرصية أو مؤاكلة فضلاً عن أن عدداً منها تستوطن الجلد أو تصل إلى الرئتين عن طريق التربة أثناء الرعي أو الاستنشاق المباشر من الهواء لتتمكن من التكاثر وإحداث المرض (١٤،١٥). استهدفت هذه الدراسة عزل الجراثيم الهوائية المتواجدة في التجويف الأنفي للحملان السليمة ومعرفة أنواعها ونسب تواجدها.

المواد وطرائق العمل

تم جمع ٧٠ مسحة أنفية من حملان حديثة الولادة ٥ يوم – ١٠ أسابيع وسليمة ظاهريا (لم تظهر عليها أي علامات تنفسية، وذات تنفس طبيعي) حيث جمعت العينات للفترة من آذار إلى حزيران ٢٠٠٩ وجميع هذه الحملان كانت تربى بأسلوب الرعي الحر داخل المدن وفي مناطق متعددة من مدينة الموصل. تم تنظيف منطقة المنخرين لتجنب حدوث التلوث بعدها أخذت المسحات الأنفية بواسطة مسحات قطنية نظيفة ومعقمة وذلك بإدخال المسحة الأنفية الى داخل تجويف الأنف بعدها وضعت المسحات القطنية داخل أنابيب زجاجية معقمة تحتوي على المرق المغذي المعقم وتم نقلها مباشرة الى مختبر الأحياء المجهرية في كلية الطب البيطري – جامعة الموصل لإجراء العزل الجرثومي حيث تم تحضين أنابيب الاختبار هوائياً في الحاضنة بدرجة حرارة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة بعدها تم نقل مامقداره عروة زرع من المرق المغذي ونشرها على وسط أكار الدم الحاوي على ٧٪ دم الضأن ثم حضنت بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة، أجريت بعد ذلك صبغة كرام على المستعمرات الجرثومية النامية لدراسة شكلها وتفاعلها الصباغي وفحصت باستخدام المجهر الضوئي (العدسة الزيتية بقوة x ١٠٠). أما المستعمرات المختلطة والمستعمرات التي أظهرت وجود جراثيم سالبة الكرام فقد زرعت مرة أخرى على كل من وسط أكار الدم الحاوي على ٧٪ دم الضان ووسط أكار الماكونكي ثم حضنت بدرجة ٣٧°م لمدة ٢٤ ساعة، أجريت بعد ذلك صبغة الكرام على المستعمرات الجرثومية النامية لدراسة شكلها وتفاعلها الصباغي وفحصت باستخدام المجهر الضوئي (العدسة الزيتية بقوة x ١٠٠) ثم نقلت المستعمرات النقية الى وسط أكار المغذي المائل nutrient agar-slant لغرض اجراء الاختبارات الكيموحيوية عليها ومعرفة أنواعها (١٦).

النتائج

شخصت ١٤٣ عزلة جرثومية من المسحات الأنفية المأخوذة من حملان سليمة ظاهريا وصنفت هذه العزلات إلى ١٤ جنس أو نوع جرثومي حيث كانت Bacillus spp. ١٤٪ الأعلى نسبة في حين كانت Serratia marcescens ١,٤٪ الأقل نسبة فيما تباينت بقية الأنواع الجرثومية بين النسبتين السابقتين وكما مبين في الجدول (١).

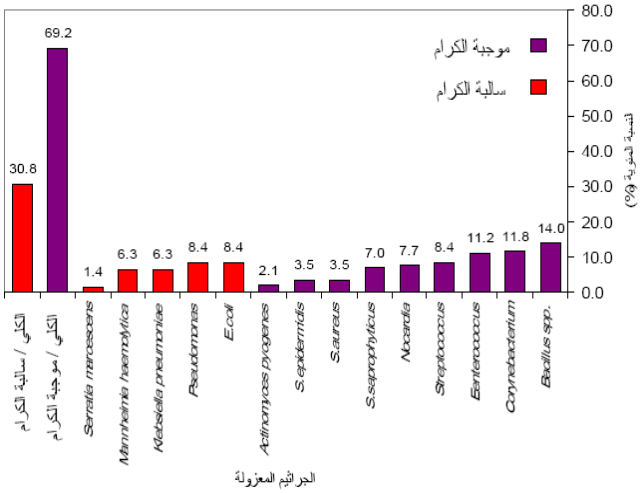
كما بينت الدراسة أن نسبة الجراثيم المعزولة الموجبة الكرام ١٤٣/٩٩ (٦٩,٢٪) كانت أعلى من الجراثيم السالبة الكرام ١٤٣/٤٤ (٣٠,٨٪) كما هو موضح في الشكل (١).

جدول (١) يبين أنواع وأعداد الجراثيم الهوائية المعزولة من المسحات الأنفية للحملان السليمة.

أنواع الجراثيم المعزولة	العدد	النسبة المئوية
Bacillus spp.	٢٠	١٤
Corynebacterium	١٧	١١,٨
Eenterococcus	١٦	١١,٢
Streptococcus	١٢	٨,٤
Escherichia coli	١٢	٨,٤
Pseudomonas	١٢	٨,٤
Nocardia	١١	٧,٧
Staphylococcus saprophyticus	١٠	٧
Klebsiella pneumoniae	٩	٦,٣
Mannheimia haemolytica	٩	٦,٣
Staphylococcus aureus	٥	٣,٥
Staphylococcus epidermidis	٥	٣,٥
Actinomyces pyogenes	٣	٢,١
Serratia marcescens	٢	١,٤
المجموع	١٤٣	١٠٠

وتم عزل نوع جرثومي واحد من ١٠ مسحات أنفية، و نوعيين جرثوميين من ٤٦ مسحة، و ثلاثة أنواع جرثومية من ١٢ مسحة وأربعة أنواع جرثومية من مسحتين، كما هو مبين في الجدول (٢).

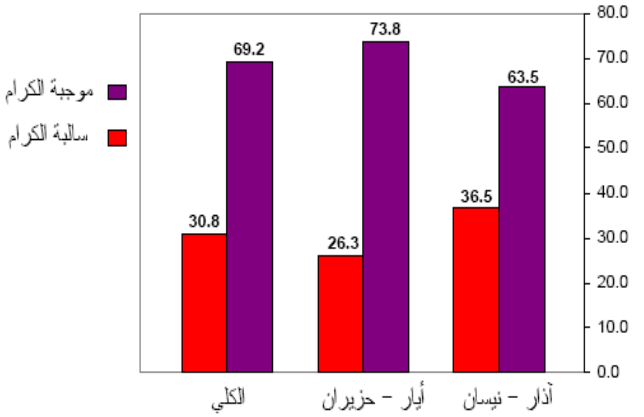
كما لوحظ انخفاض في أعداد العزلات الجرثومية السالبة الكرام ٢٦,٣٪ خلال شهري أيار وحزيران مقارنة مع نظيرتها في بداية الدراسة خلال شهري آذار ونيسان ٣٦,٥٪، كما هو مبين في الشكل (٢).



الشكل (١) يبين توزيع الجراثيم المعزولة حسب التفاعل الصباغي لصبغة كرام.

جدول (٢) يبين نوع العزل الجرثومي من المسحات الأنفية.

نوع العزل الجرثومي	عدد المسحات الأنفية	النسبة المئوية
نوع جرثومي واحد	١٠	١٤,٣
نوعان جرثوميان	٤٦	٦٥,٧
ثلاثة أنواع جرثومية	١٢	١٧,١
أربعة أنواع جرثومية	٢	٢,٩
المجموع	٧٠	١٠٠



الشكل (٢) يبين توزيع أعداد العزلات الجرثومية خلال أشهر الدراسة.

المناقشة

بينت نتائج الدراسة للمسحات الأنفية المأخوذة من الحملان السليمة ظاهريا أن نسبة عزل الجراثيم كانت ١٠٠٪، فقد تم عزل الجراثيم الهوائية من جميع المسحات الأنفية المفحوصة والبالغة ٧٠ مسحة. وبلغ مجموع العزلات ١٤٣ عزلة تعود إلى ١٤ جنس جرثومي، وقد اتفقت هذه النتائج مع ما توصل إليه (٨،١١،١٣)، حيث تشابهت ٨ أنواع جرثومية مع ما ذكره (٨) وهي Mannheimia haemolytica، Staphylococcus aureus، Streptococcus. spp.، Bacillus saprophyticus، Staphylococcus epidermidis، E. coli، Pseudomonas في حين لم يتم عزل الجراثيم التالية من قبله وهي Klebsiella pneumoniae، Eenterococcus Nocardia، Corynebacterium Serratia marcescens، Actinomyces pyogenes وهذا مؤشر على ازدياد أنواع الجراثيم المتواجدة في التجويف الأنفي للحملان السليمة في هذه الدراسة. بالإضافة إلى ذلك فقد ذكر (٨) أن ٥٧ عزلة جرثومية تعود إلى ١٠ أنواع جرثومية تم عزلها من ٤٠ مسحة أنفية أخذت من حملان تسمين سليمة ظاهريا، كذلك أشارت نفس الدراسة إلى عزل نفس هذه الأنواع الجرثومية من مسحات أنفية ومسحات رغامية لحملان تعاني من إصابات تنفسية بالإضافة إلى عزل هذه الجراثيم من رئات مصابة وهذا ما يؤكد أن الجراثيم المتواجدة في الحملان السليمة ظاهريا قد تتسبب بإحداث الأمراض التنفسية ومنها ذات الرئة عند وصولها إلى الممرات التنفسية السفلى (٨). كما بينت نتائج العزل الجرثومي أن الجراثيم الموجبة الكرام كانت نسبتها اعلى ٦٩,٢٪ من الجراثيم السالبة الكرام ٣٠,٨٪ وهذا يتفق مع الدراسات التي أجريت من قبل الباحثين (١١،١٣). وكانت النسبة المئوية لنوع العزل الجرثومي (نوعان جرثوميان) هي الأعلى، في حين سجل (٨) أعلى نسبة عزل لنوع جرثومي واحد من رئات مصابة، وهذا يعود إلى دور الدفاعات والحواجز التشريحية الطبيعية في تقليل أعداد الجراثيم التي تصل إلى المجرى التنفسي السفلي (١٧).

إن الانخفاض في نسبة العزلات الجرثومية السالبة الكرام خلال شهري أيار وحزيران (٢٦,٣٪) مقارنة مع نظيرتها في بداية الدراسة خلال شهري آذار ونيسان ٣٦,٥٪ يعزى إلى حصول الجفاف في شهري أيار وحزيران فضلا أن هذه الحملان ترعى مع أمهاتها داخل المدن بسبب قلة المراعي والظروف الاقتصادية المتمثلة بغلاء أسعار الأعلاف (١١). تعتبر Mannheimia haemolytica من الجراثيم المؤاكلة التي تستوطن القنوات التنفسية العليا في العديد من الحيوانات وهي جراثيم فرصية تسبب ذات الرئة في الضأن والحملان والأبقار وقد عزلت من الأنف واللوزتين للضأن السليمة ظاهريا، أما Actinomyces والتي هي في الغالب جراثيم مؤاكلة متواجدة في التجويف الفمي للمجترات، وبعض أنواعها تم عزلها من اللوزتين في الضأن (١٨-٢٠). وشكلت E. coli نسبة ٨,٤٪ وهي معروفة بأنها تستوطن الجهاز الهضمي للإنسان والحيوانات بالإضافة على تواجدها طبيعيا في التربة (٢١)، وتعتبر نسبة العزل هذه أعلى من (٨) الذي عزلها بنسبة ٢,٥٪ من حملان سليمة ظاهريا وبنسبة ٥٪ من الحملان تعاني من إصابات تنفسية وقد يعود

السبب في ذلك الى عدم توفر المياه الصالحة والمخصصة لروي القطعان وتلوثها، كون هذه القطعان ترعى بشكل حر داخل المدن. في حين عزلت Nocardia بنسبة ٧,٧٪ وهي تسبب الأمراض للإنسان والحيوانات الأليفة وقد عزلت من حالات ذات الرئة بالخيول والتهاب الضرع في الأبقار والإجهاض في الخنازير(١٦). كما عزلت Serratia marcescens في هذه الدراسة بنسبة ١,٤٪ وهي جراثيم تعود إلى عائلة المعويات وتعتبر عامل ممرض فرصي حيث عزلت من حالات التهاب الضرع في الأبقار (٢٢). إن الأمراض التنفسية خاصة في الحملان الصغيرة العمر تسبب الكثير من الهلاكات والخسائر الاقتصادية (٢٣-٢٥). ومن هنا تتأتى أهمية إجراء دراسات مستقبلية حول علاقة التغير المناخي وسوء الإدارة على إمراضية هذه الجراثيم المؤاكلة.

شكر وتقدير

يتقدم الباحثان بالشكر والثناء لكلية الطب البيطري، جامعة الموصل لدعمها المادي والمعنوي لانجاز هذا البحث.

المصادر

١. عبد الكريم، فؤاد عبد اللطيف ومظفر نافع الرحو. إنتاج الأغنام. (١٩٨٣). مطبعة جامعة البصرة، العراق.
٢. شرف الدين، ممدوح وكمال السيد غنيم. إنتاج الأغنام.(١٩٧٣). مطبعة جامعة الموصل، العراق.
٣. سعيد، مرح عبد الجبار. دراسة وبائية ذات الرئة في الأغنام مع التأكيد على الإصابة بجراثيم الباستوريلا هيمولتكا في محافظة نينوى.(١٩٩٠). رسالة ماجستير.كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.
4. Al-sultan I I. Incidence of pneumonia in Iraq. The Iraqi J Vet Med. 1978;2:3-12.
5. Odugb MO, Odama LE, Umoh JU and Lamorde AG. Pasteurella multocida pneumonic infection in sheep, prevalence, clinical and pathological studies. Small Rum Res. 2005;66:273-277.
6. Chiara E, Flavio S, Massimo S and Leonardo DS. Pneumonia of lambs in the Abruzzo region of Italy:anatomopathological and histopathological studies and localization of Mycoplasma ovipneumoniae. Veterinaria Italiana. 2007;43(1) 149-155.
٧. السلطان، عماد إبراهيم والسعدي، حافظ إبراهيم. داء الباستوريلا الجهازي الضأني المسبب بالباستوريلا حالة الدم النمط الحيوي T. مراجعة علمية.(٢٠٠٠). المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ١٣، العدد ١، الموصل، العراق.
٨. حمد، محمد علي. عزل وتشخيص المسببات الجرثومية لذات الرئة في حملان التسمين.(٢٠٠٠). رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.
٩. رحيمة، ماجد شيال وشمعون، جورجيت نيسان وقاسم، الهام عبد الغني. المسببات المرضية لذات الرئة في حملان التسمين.(٢٠٠١). المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ١٤، العدد ١، الموصل، العراق.
10. Mohamed, RA and Abdelsalam, EB. A review on pneumonic pasteurellosis (Respiratory Mannheimiosis).with emphasis on pathogenesis, virulence mechanisms and predisposing factors. Bulgarian J Vet Med. 2008;11(3): 139-160.
11. Yimer, N and Asseged B. Aerobic bacterial flora of respiratory tract of healthy sheep slaughtered in Dessie municipal abattoir northeastern Ethiopia.Revue Med Vet. 2007; 158 (10): 473-478.
12. Louise LP, Turio MR, Rikk, LS, Magne B, Henrik C, John EO, Sorre S and Anders MB. Occurrence of haemolytic Mannheimia spp. In apparently healthy sheep in Norway.Acta Vetrinaria Scand. 2006; 48:19.
13. Carijean Q, Alton CS W and Hunter LD. Bacteria isolated from nasal and tonsillar samples of clinically healthy Rocky Mountain bighorn and domestic sheep. J wild life Dise . 1994;30 (1): 1-7.
14. Malone FF, McCullough SJ, Maloughlin, MF, Ball HJ, Ohagen, D, Neil, SD. Infectious agents in respiratory disease of house fattening lambs in Northern Ireland. Vet Rec. 1988;122:203-208.
15. Porter, JF, Conner, K, Krueger, N, Hodgson, JC, Donachie, Wt. Predisposition of specific pathogen-free to Pasteurella haemolytica pneumonia by Bordetella parapertussis infection. J Comp Pathol. 1995;121 (4):381-189.
16. Songer JG, Post KW. Veterinary Microbiology. Bacterial and Fungal Agents of Animal diseases. Elsevier Saunders. 2005.
17. Gery Cl and Thomson RG. Pasteurella haemolytica in the tracheal air of calves. Canad J Comp Med. 1971; 35:121.
18. Carter GR and Cole JR. Classification, normal flora, and laboratory safety. In Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and mycology.. Academic Press, Inc., San Diego, California, 1990. pp 1-620.
19. Timoney JF, Gillespie JH, Scott FW, and Barlough JE. (editors). The genus Actinomyces. In Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. Comstock Publishing Associates, Ithaca, New York, 1988a .pp259-264.
20. Wild MA, and Miller MW. Detecting non hemolytic Pasteurella haemolytlca infections in healthy Rocky Mountain bighorn sheep (Ovis canadensis canadensis):Influences of sample site and handling. 1. J Wildlife Dis. 1999; 27:53-60.
٢١.حداد، جاسب جاسم, علم الأحياء المجهرية البيطرية, الجزء الأول (أساسيات -٢١ علم الجراثيم). (١٩٩١). ٣٥٦-٣٦٥. دار الحكمة للطباعة والنشر – الموصل.
22. Holt G J, Kriey RN, Sneatn HA P, Staley TJ, Williams TS. Bergey's Manual of determinative Bacteriology. Nineth edition. 1994. Wilkins 428 East Preston street, Baltimore, Maryland 21202. USA.
23. Skoufos J, Mavrogianni VS, Tzora A, Mavrommalis I, Alexopoulos C, Fthenakis GC. Use of lincomycine to control respiratory infections in lambs:Effect on health and production. Small Rumin Rese. 2006; 66:214-221.
24. Aitken ID. Disease of sheep. Fourth edition. Blackwell Puplishing. pp. 2007.pp224-230.
25. Pugh DG. Sheep and goat medicine. First edition. Saunders company. 2002.pp. 110-114.