عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من الأغنام العواسية المحلية

لمياء محمد احمد
المعهد التقني / كركوك

الخلاصة

استهدف البحث الحالي عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة وشملت Listeria monocytogenes و Salmonella spp. و Brucella abortus من أنسجة أعمار مختلفة من الأغنام العواسية المحلية . أخذت عينات من الكبد والكلى والدم ومن محتويات منتصف أمعاء ثلاث مجاميع عمرية من الأغنام العواسية من مجزرة الشعلة ببغداد شملت أعمار اقل من سنة واحدة وسنة إلى سنتين وأكثر من ثلاث سنوات . بينت النتائج عزل جراثيم Listeria monocytogenes و Salmonella spp. و Brucella abortus من كافة المجاميع العمرية للأغنام العواسية المحلية وإن أكثر نسبة عزل كانت للأعمار أكثر من ثلاث سنوات ومن عينات محتويات منتصف الأمعاء . وكانت جرثومة السالمونيلا الأكثر نسبة عزل من بين الجراثيم المشتركة المعزولة تلتها اللستيريا ثم البروسيلا.

ISOLATION OF SOME ZOONOTIC BACTERIA FROM NATIVE AWASSI SHEEP

Lamea M. Ahmed

Abstract

The object of this study was to isolate some of zoonotic bacteria included Listeria monocytogenes, Salmonella spp. and Brucella abortus from different tissues of native awassi sheep. Samples of liver, kidney, blood and content of middle intestine of native awassi sheep from Al-Shula abattoir in Baghdad city included three ages : up to 1 year, 1-2 years and more than 3 years. Results revealed that Listeria monocytogenes, Salmonella spp. and Brucella abortus were isolated from all studied ages of native awassi sheep, the content of middle intestine had the highest isolation percentage. Salmonella spp. was the highest isolation percentage among zoonotic bacterial isolation, then Listeria monocytogenes and Brucella abortus.

المقدمة

الأمراض المشتركة (Zoonotic) أو الانتقالية (Transmittable) كما يسميها البعض هي الأمراض التي تنتقل من الحيوانات سواء الحيوانات الحقلية المدجنة (Domestic) أو البرية (Wild) الى الإنسان وبالعكس ، وتشمل مجموعة من الأمراض الفايروسية والطفيلية والجرثومية وهذه الأخيرة تشمل أمراض عديدة أهمها السالمونيلا (Salmonellosis) واللستيريا (Listeriosis) والبروسيلا (Brucellosis) وغيرها من الجراثيم التي لها أهمية صحية خطيرة على الصحة العامة [1].

مرض البروسيلا المجهضة (Brucella abortus) أحد الأمراض المشتركة واسعة الانتشار في الإنسان والحيوان وله أهمية اقتصادية واجتماعية لما يسببه من خسائر اقتصادية كبيرة في الثروة الحيوانية ، كذلك تأثيره على الصحة العامة للإنسان ويمتاز بتعدد طرائق انتقال جرثومة البروسيلا وتعدد مضائفها حيث يشتمل على المواشي والحيوانات البرية [2 و 3] ، ونظرا لأهمية المرض البالغة ولسرعة انتشار الإصابة أجريت كثير من الدراسات لتوضيح كافة جوانبه وكشف كل ما يتعلق بوبائيته وطرق انتقاله للحد من انتشاره وتقليل خسائره [4 و 5] ، فقد أجريت دراسات عالمية ومحلية عديدة للتعرف على طبيعة المرض وتعد البيئة العراقية والحيوانات المحلية بؤرة كبيرة لانتشار البروسيلا [6].

تشكل جراثيم السالمونيلا (.Salmonella spp) مشكلة صحية كبيرة للإنسان والحيوان كونها من الجراثيم المعوية المشتركة وتعتمد امراضيتها على عاملين مهمين هما قابلية الجرثومة على الغزو والاستيطان وإنتاج السموم المعوية ، وهذا يرتبط بعوامل أخرى مهمة لحدوث المرض كالعمر والمقاومة الطبيعية وتطور الفلورا المعوية والاختلافات الفردية وتطور الجهاز المناعي الإفرازي [7].

تعد جراثيم Listeria monocytogenes من الجراثيم المشتركة عالية الضراوة وواسعة الانتشار في الطبيعة تصيب الإنسان والحيوانات اللبونة وأكثر من أربعين نوعا من الدواجن والطيور، و تعد أحد أسباب المشاكل الرئيسة في عمليات التصنيع الغذائي لما تسببه من حالات التسمم الغذائي وقد تسببت في حدوث أكثر من ٢٥٠٠ حالة إصابة سنويا [8] ، تظهر قابلية الجرثومة على ان تشغل مدى واسعاً في الطبيعة المقدرة على التحسس والاستجابة والتكيف مع العديد من الظروف الصعبة التي تواجهها أثناء وجودها من البيئة وصولاً إلى المضيف [9]. إن انتشار الجرثومة عبر مجرى الدم أو اللمف ضمن خلايا المضيف كالخلايا البلعمية سبب حصول حالة الإنتان الدموي Septicemia مما يؤدي إلى تموضع الجرثومة في أعضاء مختلفة من الجسم كالكبد والطحال والدماغ والرحم حيث يمكنها اختراق المشيمة وصولاً إلى الرحم ثم الجنين مؤدياً إلى حدوث حالة الإجهاض اللستيري [10].

يهدف البحث الحالي محاولة عزل جراثيم اللستيريا والسالمونيلا والبروسيلا من انسجة أعمار مختلفة للأغنام العواسية المحلية.

المواد وطرق العمل
اجري البحث للمدة من ١ / ٥ ٢٠١٠ ولغاية ١ / ٩ / ٢٠١٠ بأخذ أنسجة مختلفة من الأغنام العواسية المحلية بعد تحديد أعمارها لعزل عدد من الجراثيم المرضية المشتركة.

الأغنام
تم اخذ عينات مختلفة شملت على الكبد والكلية والدم ومحتويات منتصف الأمعاء من الأغنام العواسية المحلية المسوقة إلى مجزرة الشعلة في بغداد وتم اخذ العينات حسب الفئات العمرية حيث شملت ثلاث فئات عمرية اعتمادا على تقدير العمر من خلال الأسنان وكما يأتي:
١. اقل من سنة واحدة (٢٥ حيوان).
٢. سنة إلى سنتين (٢٣ حيوان).
٣. أكثر من ثلاث سنوات (٢٥ حيوان).

العينات
تم جمع ١٠ مل من الدم مباشرة أثناء عملية الذبح للحيوانات وتم الجمع باستخدام أنابيب زجاجية حاوية على مانع التخثر (Sodium citrate anticoagulant) وفي نفس الوقت تم اخذ ٣٠ غم من أنسجة الكبد والكلى ومن محتويات منتصف الأمعاء من نفس الحيوانات المذبوحة ووضعت العينات داخل قناني زجاجية معقمة ونقلت خلال ساعتين إلى المختبر داخل حاويات مبردة لإجراء الفحوصات المطلوبة.

البروسيلا (Brucella abortus**)**
زرعت ثلاث عينات مباشرة على الوسط الزرعي السائل المعقم وسط مرق فول الصويا TSB (Trypticase Soy Agar) ووضعت بالحاضنة ، وعند ظهور تعكر في الوسط الزرعي بعد مرور (2-3) أيام حضن بدرجة 37م ºتنقل عروة مملوءة (Loop full) منه إلى الوسط الصلب (وسط أكار فول الصويا) TSA حيث حضن بدرجة 37 م º لمدة 2-3 أيام ، ومن ثم نقلت المستعمرات المشتبه بها (Brucella abortus like colony) إلى قنان محكمة الغطاء (Universal tubes) من وسط أكار فول الصويا المائل (TSA-Slopes) لغرض التشخيص المجهري كما ذكر (٦) وحسب طريقة [11].

السالمونيلا
زرعت ثلاث عينات مباشرة على الوسط الزرعي السائل المعقم SCB (Selenite Cystine Broth) وحضنت القناني بدرجة (42) مº لمدة (24-48) ساعة ، ومنه زرع ١مل على الوسط الزرعي المعقم على وسط BGBA (Brilliant Green

Bile Agar) وحضنت بدرجة 37 م لمدة 24 ساعة فظهرت مستعمرات جرثومة السالمونيلا ملساء دائرية محدبة كاملة الحواف ذات قطر (1-3) ملم لونها وردي فاتح مع تلون الوسط المحيط بها باللون الأحمر (غير مخمرة للاكتوز) وللتأكد منها انتخبت احدى المستعمرات وزرعت على وسط MacConkey agar فظهرت مستعمرات ملساء محدبة قطرها حوالي (1-3) ملم عديمة اللون مع ميل الوسط الى التلوث باللون ألقشي [12]. وأجريت الفحوصات الكيميا إحيائية للتأكد من جرثومة السالمونيلا المعزولة وشملت تخمير اللاكتوز على وسط BGBA وتخمير اللاكتوز على وسط Macconkey وتفاعل Oxidase وتحويل الستريت على وسط Simone citrate . وتخمير السكريات على وسط TSI. واختبار الحركة وإنتاج الأندول بواسطة SIM . ونزع الكاربوكسيل على وسط LIA [13] .

اللستيريا (Listeria monocytogenes)

زرعت ثلاث عينات مباشرة على سطح أطباق الوسط ألزرعي الصلب المعقم وسط مرق اللستيريا المغذي Enrichment Listeria Broth, Modified (ELBM) وحضنت بدرجة 37 م ° لمدة ٤٨ ساعة وحسب طريقة [14] ، أجريت سلسلة من التخافيف العشرية لمحتويات الوسط وصولا الى التخفيف العاشر بعد ذلك تم زرع من كل على سطح طبق Trypticase Soy Agar (TSA) ثم حضنت الأطباق بدرجة ٣٧ ° م لمدة ٢٤ ساعة ، بعدها عدت المستعمرات على الطبق الذي يحتوي على (٣٠-٣٠٠) مستعمرة وحسب التخفيف على أساسها مع مراعاة زرع طبقين لكل تخفيف ثم استخراج المعدل وحسب طريقة (11) .

النتائج

يتبين من الجدول (١) ان عزل جرثومة السالمونيلا ن محتويات منتصف الامعاء للاغنام العواسية قد تم من ٢٠ حيوان من اصل ٢٥ حيوان اخذت منها نماذج الفحص عند عمر اقل من سنة ليرتفع العدد الى ٢٣ حيوان حامل للجرثومة من اصل ٢٣ ٢٥ حيوان للفئات العمرية ١ – ٢ سنة وأكثر من ٣ سنوات على التوالي ، وفي نفس الوقت بلغت أعداد الحيوانات الحاملة لجرثومة اللستيريا ١٠ و ١٨ و١٨ حيوان للفئات العمرية الثلاثة على التوالي كما عزلت جرثومة البروسيلا المجهضة من ٨ و ٩ و ١٣ حيوان للفئات العمرية الثلاثة قيد الدراسة للأغنام العواسية مما يشير إلى ارتفاع نسبة العزل من محتويات القناة الهضمية لهذه الجراثيم المرضية المشتركة.

العزل الجرثومي للجراثيم المرضية المشتركة من دم الأغنام العواسية وللأعمار الثلاثة موضح بالجدول (٢) ، حيث نلاحظ إن نسبة العزل كانت مرتفعة في الأغنام بالنسبة لجرثومة السالمونيلا مقارنة بجرثومتي اللستيريا والبروسيلا وكانت نسبة العزل تزداد مع تقدم عمر الأغنام .

يوضح الجدول (٣) نتائج العزل الجرثومي لجراثيم السالمونيلا واللستيريا والبروسيلا من عينات كلى الفئات العمرية الثلاثة للأغنام العواسية المحلية ، حيث نجد ان عزل جرثومة السالمونيلا كان الأكبر حيث بلغت أعداد الأغنام التي عزلت منها هذه الجرثومة ١ و ٤ و ٤ للفئات العمرية اقل من سنة و١ – ٢ سنة وأكثر من ثلاث سنوات على التوالي مشكلة نسبة ٤ و ١٧.٤ و ١٦ % على التوالي ، وفي نفس الوقت لم تعزل جرثومتي اللستيريا والبروسيلا من كلى الأغنام للأعمار اقل من سنة و ١ – ٢ سنة في حين بلغ عزل هاتين الجرثومتين ١ و ٣ وبنسبة عزل ٤ و ١٢ % من الأغنام التي بعمر أكثر من ٣ سنوات وعلى التوالي.

يتبين من الجدول (٤) إن نسبة عزل جرثومة السالمونيلا من كبد الأغنام للاعمار الثلاثة المدروسة قد بلغت ٦٠ و ٦٥.٢ و ٧٢ % على التوالي في حين بلغت نسبة عزل جرثومة اللستيريا ٨ و ٣٠.٤ و ٥٢ % على التوالي وبلغت نسبة عزل جرثومة البروسيلا ٠ و ٤.٣ و ١٢ % للفئات العمرية الثلاثة على التوالي.

الجدول (١) عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من محتويات أمعاء أعمار مختلفة من الأغنام العواسية المحلية

الفئات العمرية أنواع الجراثيم	اقل من ١ سنة	١ – ٢ سنة	اكثر من ٣ سنوات
Salmonella Spp.	٢٠/٢٥ % ٨٠	٢٣/٢٣ % ١٠٠	٢٣/٢٥ % ٩٢
Listeria monocytogenes	١٠/٢٥ % ٤٠	١٨/٢٣ % ٧٨.٣	١٩/٢٥ % ٧٦
Brucella abortus	٨/٢٥ % ٣٢	٩/٢٣ % ٣٩.١	١٣/٢٥ % ٥٢

الجدول (٢) عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من دم أعمار مختلفة من الأغنام العواسية المحلية

الفئات العمرية أنواع الجراثيم	اقل من ١ سنة	١ – ٢ سنة	اكثر من ٣ سنوات
Salmonella Spp.	١٣/٢٥ % ٥٢	١٣/٢٣ % ٥٦.٥	١٥/٢٥ % ٦٠
Listeria monocytogenes	٠/٢٥ % ٠	٢/٢٣ % ٨.٧	٥/٢٥ % ٢٠
Brucella abortus	١/٢٥ % ٤	٣/٢٣ % ١٣.٠	٣/٢٥ % ١٢

الجدول (٣) عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من كلى أعمار مختلفة من الأغنام العواسية المحلية

الفئات العمرية أنواع الجراثيم	اقل من ١ سنة	١ – ٢ سنة	اكثر من ٣ سنوات
Salmonella Spp.	١/٢٥ % ٤	٤/٢٣ %١٧.٤	٤/٢٥ %١٦
Listeria monocytogenes	٠/٢٥ % ٠	٠/٢٣ % ٠	١/٢٥ % ٤
Brucella abortus	٠/٢٥ % ٠	٠/٢٣ % ٠	٣/٢٥ % ١٢

الجدول (٤) عزل بعض الجراثيم المرضية المشتركة من كبد أعمار مختلفة من الأغنام العواسية المحلية

الفئات العمرية أنواع الجراثيم	اقل من ١ سنة	١ – ٢ سنة	اكثر من ٣ سنوات
Salmonella Spp.	١٥/٢٥ % ٦٠	١٥/٢٣ % ٦٥.٢	١٨/٢٥ % ٧٢
Listeria monocytogenes	٢/٢٥ % ٨	٧/٢٣ % ٣٠.٤	١٣/٢٥ % ٥٢
Brucella abortus	٠/٢٥ % ٠	١/٢٣ % ٤.٣	٣/٢٥ % ١٢

المناقشة

تمثل الإصابة بجراثيم السالمونيلا مشكلة صحية كبيرة تؤدي إلى خفض الأداء الإنتاجي للحيوانات عموماً، حيث تسبب هذه الجراثيم ضررا كبيرا في القناة المعدية المعوية لأنها من الجراثيم الانتهازية ولها القابلية على الاستيطان وغزو بطانة الأمعاء ثم الدخول للدورة الدموية محدثة حالة تجرثم دموي وتنتشر إلى باقي أعضاء الجسم [١٥] ، وممكن ان تنتج سموم معوية تؤدي إلى الخمول والهزال وقلة الشهية (7) وهلاك الحيوانات ، وان طرح جراثيم السالمونيلا مع البراز يكون كثيفا وخاصة في بداية الإصابة مسببا انتشار الجرثومة في المحيط وقد يحدث تلوث للذبائح خلال عمليات الذبح والتحضير في المجزرة وبالتالي انتقالها للإنسان مسببة التسمم الغذائي [16].

بينت نتائج البحث فحص عزل اللستيريا من الأعضاء الداخلية للأغنام يمكن أن يفسر على أساس انتقال الجرثومة عبر الدم إلى تلك الأعضاء وحصول الاستجابة النمطية الجسمية ضد الخمج الجرثومي وقد بين الباحث [17] إن أولى مراحل الإصابة بجرثومة L.monocytogenes تظهر في الكبد والطحال. ويعد الكبد من الأعضاء المهمة في تحديد الإصابة الجهازية بالجرثومة حيث تعمل العدلات على خفض وتحديد المستوى الجرثومي في الكبد خلال الأيام الثلاثة الأولى بعد الإصابة نتيجة

الإنتان الدموي ، وتتوافق هذه النتائج مع ما توصل إليه الباحثون [18] Prats و [19] Schonberg في الفئران وسبب ذلك يعود إلى أن الإصابة الكبدية بهذه الجرثومة تحصل عبر الدم ، حيث تدخل الجرثومة الكبد من خلال هذه المنطقة وتؤدي الى نخر الخلايا المجاورة لها ومن ثم تتكون الخراجات وهذا ما فسرته العديد من الدراسات السابقة في الفئران والإنسان [20] .

نتائج عزل جرثومة Brucella abortus من الأعضاء الداخلية للأغنام يدل على انتشار الجرثومة إلى هذه الأعضاء عبر الدم حيث إن الإصابة بهذه الجرثومة يؤدي الى انتقالها من الخلايا اللمفاوية الموجودة في الدم ودخولها إلى الأعضاء الداخلية المختلفة كالطحال والكبد والكلى ، كما إن وجود الجرثومة في الكلى ومحتويات الأمعاء أعطى التأكيد لطرح الجرثومة إلى المحيط الخارجي ، وهذا يتوافق مع ما طرحه الباحث [21] Morata .

إن وجود هذه الجراثيم المرضية المشتركة في المحيط يؤدي إلى إعادة دورة انتقالها للأغنام من جديد وإصابة الحيوانات غير المصابة وهذا يفسر العزل الجرثومي الكبير من الأغنام التي بأعمار كبيرة مقارنة بالأعمار الصغيرة ، فضلا على إن هذه الجراثيم من الممكن ان تهرب من الجهاز المناعي المتمثل بالخلايا البلعمية واختباءها في أنسجة الكبد والمرارة لتصبح الحيوانات حاملة او خازنة لها ويمكن لهذه الجراثيم ان تتحمل تراكيز إفرازات كيس الصفراء لتنساب عبر القنوات الصفراوية من جديد على فترات ثم تستقر في بطانة الأمعاء وإعادة دورة الإصابة (٥ و ١٤ و ١٦ و ٢٢).

نستنتج وجود بؤرة وبائية لجراثيم السالمونيلا واللستيريا والبروسيلا من خلال دور الأغنام بنشر الجراثيم وبخاصة في مناطق الأرياف نتيجة عزل الجرثومة من محتويات الأمعاء.

المصادر

1. Ciampa, F. Boelaert, B. Helwigh, H. Korsgaard, M. Chríel, A. Ammon, P. Mäkelä, 2009 . Rapid communications zoonotic infections in Europe in 2007. Eurosurveilance, 14(3).
2. Farrel , I . (1996). Brucella In : Mackie and McCartey, Practical Medical Microbial. 14th ed. Collee, J. Franser, A. Mamion, B. and Simmon, A., Churchill Livingstone person professional limited. New York. London. Tokyo. Pp:473-478.
3. McGiven , J. A. ; J. D. Tucker ; L. L. Perrett ; J. A. Stack and S. D. Brew, (2003).Validation of FPA and ELISA for the detection of antibodies of Brucella abortus in cattle sera and comparison to SAT , CFT and ELISA:278:171-178.
4. Young , E. J. (1995). An overview of human brucellosis . Clin. Infect. Dis. 21:283-290.

5. Young, E. J.; Tarry, Genta, R. M.(2000). Thrombocytopinic Purpura associated with brucellosis report of 2 cases and literature review . Clin. Infect. Dis. 31(4):904-9.

٦. فارس عبد علي ألعبيدي ، هناء صالح عبد علي وشهرزاد محمد ألشديدي ، ٢٠٠٩ . أثر إصابة دجاج البيض تجريبياً بجرع مختلفة من جرثومة Brucella abortus في عزل الجرثومة من أعضاء الجسم المختلفة وتلوث البيض. ٢٠٠٩ . وقائع المؤتمر العلمي التاسع لكلية الطب البيطري ٣١ / ٣ –١ / ٤ / ٢٠٠٩ العدد ١ : ٢٢١ – ٢٢٧ .

7. Muir, W. I., Bryden, W. L. and Hudband, A. J. 2000 . Immunity, vaccination and the avian intestinal tract .Develop.comparat .Immune 24:325-342.
8. Schlech, W.F. (2001). Food borne Listeriosis . Clin. Infec. Dis. 31: 770-775.
9. Begly, M., Cormac, G. M. and Colin, H. 2002 . Bile stress response in Listeria monocytogenes L028 : adaptation cross – protection , and identification of genetic Loci involved in bile resistance. App. Environ. Microbiol. 68 (12) :6005-6012.
10. Low, J. C. 1998 . Listeriosis . In Manual for Labrotary diagnosis of infections abortions in small ruminants, by Radolakins, A. ,Nettleton , P. and Benkirane , A. Rome, 1998.
11. Miles, A., Misra S. and Irwin J. 1938 . The estimation of bacterial power of the blood. J. Hyg. 38:73.
12. Bhatia, T. R., McNabb C. D., Wyman H. and Nayar, G. P. 1979 . Salmonella isolation from litter as an indicator of flock and carcass contamination. Avian Dis. 24(4):838-847.
13. Cruickshank, R., Duguid, J. P., Marmoin, B. P. and Swain, R. H. 1975 . Medical Microbiology. 12th ed. Churchill Livingstone. Edinburg, London and New York. Pp:403-419.
14. Liu, D. 2008 . Handbook of Listeria monocytogenes. CRC Press Taylor & Francis Group 6000 Broken Sound Parkway NW, U.S.A.
15. Zhang-Barber , L. , Turner,A.K. and Barrow P.A. (1999) Vaccination for contol of Salmonella in poultry. Vaccine.17:2538.2545.
16. Line, J. E., J. S. Bailey, N. A. Cox, N. J. Stern and T. Tompkins. 1998 . Effect of yeast supplement feed of Salmonella and Campylobacter populations in broilers. Poultry Sci. 77:10-405.
17. Mackaness, G.B. (1962). Cellular resistance to infection. J. Exp. Med. 116: 381-406.
18. Prats, N., Lopez, S., Domingo, M., Briones, V., Carcia, J. A., Dominguez, L., and Marco, A. J. 1997 . Prolonged persistence of Listeria monocytogenes after intragastric infection in corticosteriod treated mice. Vet. Microbiol. 58: 79-85.

19. Schonberg, A. 1989 . Method to determine virulence of Listeria strains. International Journal of Food Microbiology. 8: 281-284.
20. Heinrichs, A. J., Jones, C. M. and Heinrichs, B. S. 2003 . Effects of mannan oligosaccharide or antibiotics in neonatal diets on health and growth of dairy calves. J. Dairy Sci. 86:4064-4069.
21. Moreno, E., A. Cloekaert and I. Moriyon, 2002 . Brucella evaluation and Taxonomy. Vet. Microbiol. 90:209-227.
22. Justin, J. D., Ingo, B., and Werner, G. 2000 . Interaction of Listeria monocytogenes with the intestinal epithelium FEMS. Microbiology Letters. 190: 323-328.