التحري عن بعض الجراثيم المعوية في الإبل (*Camelus dromedarius*) باستعمال فحص دليل النموذج التحليلي API20E

محمد حمزة عبد الكاظم
كلية الزراعة/ جامعة القادسية

الخلاصة

هدفت الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص بعض الجراثيم المعوية في براز الابل باستعمال فحص دليل النموذج التحليلي، بلغ مجموع عينات البراز المفحوصة 53عينة، تم الحصول على 30 عزلة من الجراثيم المخمرة لسكر اللاكتوز عند تنميتها على وسط الماكونكي، اذ اظهر فحص API20E 9,21 حالة اصابه بجراثيم الاشريشيا القولونية و الانتيروبكتر وبنسب اصابة قد بلغت 16.9,39.6% على التوالي، تم تنمية العزلات النقية غير المخمرة لسكر اللاكتوز 23 على وسط السالمونيلا–شايكيلا اكار، اذ نمت 4 عزلات ظهرت على انها جراثيم السالمونيلا وبنسبة اصابة 7.5% اذ بين فحص الحساسية تجاه المضادات الحياتية مقاومة جراثيم الاشريشيا القولونية والسالمونيلا للمضاد الحيوي tetracyclin و streptomycin بينما اظهرتا حساسية عالية تجاه المضاد الحيوي amikacin وحساسية متوسطة تجاه chloramphenicol ، اما جراثيم الانتيروبكتر فقد اظهرت حساسية واضحة تجاه جميع المضادات الحياتية التي شملتها الدراسة.

المقدمة

تعد إصابات الجراثيم المعوية كتلك الناجمة عن السالمونيلا والكلوستريديا والايشريشيا القولولنية من المشاكل العالمية الخطيرة على الصحة العامة، فهي تعد من اشهر الأمراض المنقولة غذائياً، وتنتمي هذه الجراثيم إلى عائلة الجراثيم المعوية *Enterobacteriaceae* وهي سالبة لصبغة كرام (Gauthier *et al*.,2010).

تتميز الأعراض السريرية للأطوار الحادة من تلك الأمراض بالحمى أو قد تتمثل بالتهاب الأمعاء واستيطان الجراثيم فيها خصوصاً بالأطوار المزمنة منها، إذ تؤدي إلى انتقال الإصابة إلى بقية الحيوانات بطريقة غير مباشرة من خلال تلوث البيئة بتلك الجراثيم (Radostitis *et al*.,2007).

تصاب الإبل بهذه الجراثيم نتيجة تناولها الماء والغذاء الملوثين بحيث تؤدي إلى تلوث المنتجات الحيوانية بهذه الجراثيم ثم انتقالها إلى المستهلك وبالتالي ظهور حالات التسمم الغذائي (Tejedor-Junco *et al*.,2009).لقد سجل العديد من الباحثين إصابة الإبل بالطور المزمن من جراثيم السالمونيلا وفي كثير من بلدان الوطن العربي والعالم خصوصاً في السعودية والإمارات العربية المتحدة والسودان وفلسطين ومصر والمغرب والصومال وأثيوبيا ونيجيريا والهند والولايات المتحدة الأمريكية (Warnery & Kaaden,2002).

ونظراً للأهمية الصحية لتلك الجراثيم وما تحدثه من مشاكل صحية في مجال الثروة الحيوانية ومنتجاتها ولقلة الدراسات حول هذا الموضوع فقد هدفت الدراسة إلى تشخيص البعض من الجراثيم المعوية التي تصيب الإبل ومعرفة مواصفاتها الكيموحيوية فضلاً عن تحديد حساسيتها او مقاومتها تجاه بعض المضادات الحياتية.

المواد وطرائق العمل

جمعت 53 عينة براز بطريقة معقمة من الإبل ومن كلا الجنسين ولأعمار مختلفة بعد ذبحها مباشرة في مجزرة الديوانية، إذ تم نقل تلك العينات بصورة مبردة إلى مختبر الصحة العامة التابع لدائرة الصحة في المحافظة وحضن كل (1غرام من البراز في 9 مل من المرق المغذي بدرجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة) ونقل من المستنبت بوساطة عروة ناقله إلى أكار الماكونكي، اذ تم تنقية المستعمرات المخمرة للاكتوز على وسط الماكونكي وغير المخمرة له على وسط السالمونيلا – شايكيلا اكار بعد ان تم التأكد

من ان العزلات سالبه لصبغة كرام (Coles,1986).

اجري فحص API20E المجهز من قبل شركة BioMerieux الفرنسية لإكمال الفحوصات الكيموحيوية وتحديد نوع البكتريا، إذ أخذت مستعمرات نقية من أوساط النمو ووضعت في المحلول القياسي لغرض الحصول على عالق جرثومي، ثم أضيفت كميات مناسبة منها في ركائز شريط الفحص بعد ملئ الفحوصات التالية [(Sodium Citrate(CIT) , Voges-Proskauer(VP) , gelatin(GEL)] بالعالق الجرثومي بشكل كامل، أما فحوصات [(Arginine dihydrolase(ADH), Lysine decarboxylase (LDC), Ornthine decarboxlase(ODC), Hydrogen peroxide (H2S), Urea(URE), فغمرت بالزيت المعدني لتوفير ظروف لاهوائية، حضنت الأشرطة بجو رطب بدرجة حرارة (37) م لمدة (24) ساعة وبعد إضافة الكواشف التالية [10% ferric chloride, Barritts A & B, Kovacs reagent, Nitrite test reagen الى ركائز الفحص التالية Glucose (GLU), Tryptophan deaminase (TDA)] (VP) , Indol (IND),]، تم إكمال تثبيت نتائج التفاعلات الكيموحيوية بعد (10) دقائق من الإضافات واستنتجت حسب دليل النموذج التحليلي API20E analytical profile Index، واجري اختبار الحساسية لتراكيز معينة من (4) انواع من المضادات الحياتية لمعرفة حساسية او مقاومة العزلات الجرثومية لتلك المضادات، اذ نقلت مستعمرات نقية من اوساط النمو الى قناني معقمة حاوية على (5) مل من وسط المرق المغذي وحضنت بدرجة حرارة 37 م لمدة (24) ساعة ثم غمرت المسحات المعقمة بالعالق الجرثومي ونشرت على اطباق مولر- هنتن اكار وبأربع اتجاهات متعاكسة وتركت لتجف لمدة (5) دقائق ثم وزعت اقراص المضادات الحياتية على تلك الاطباق بوساطة ملقط معقم وحضنت عند درجة حرارة 37 م لمدة (24) ساعة وقرئت النتائج من خلال قياس قطر منطقة التثبيط للنمو الجرثومي بوحدة الملمتر وعن طريق مقارنتها مع قياسات جداول السيطرة لتحديد مدى حساسية الجراثيم للمضادات الحياتية، اذ استعملت المضادات الحياتية التالية (streptomycin 10µg , tetracycline 30µg, amikacin 30µg , chloramphenicol 30µg) (Benson,2001).

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج الدراسة الحالية تشخيص (9,21) إصابة بجراثيم الاشريشيا القولونية والانتيروبكتر المخمرتان لسكر اللاكتوز في وسط الماكونكي على التوالي، وتشخيص (4) حالات من الاصابة بجراثيم السالمونيلا على وسط السالمونيلا- شايكيلا اكار في حين لم تشخص أي حالة من الاصابة بجراثيم الشايكيلا، وقد بلغت نسبة الاصابة الاجمالية بتلك الجراثيم (64.1%) منها (39.6%) و (16.9%) لكل من الاصابة بجراثيم الاشريشيا القولونية والانتيروبكتر و (7.5%) للإصابة بجراثيم السالمونيلا (جدول 1)، ولم تظهر النتائج أي علامات مرضية على الحيوانات المذبوحة التي عزلت منها تلك الجراثيم.بينت الدراسة تميز التفاعلات الكيموحيوية لجراثيم الاشريشيا القولونية بكونهاسالبةلاختبار [(Orthonitrophenol(ONPG), Arginine dihydrolase (ADH), Ornithine decarboxylase (ODC), [(CIT, H2S , URE , TDA , IND , VP , GEL , Inositol , Sucrose(SAC) , Amygdalin(AMY) وموجبة لاختبار [(LDC, GLU , Mannitol (MAN), Sorbitol (SOR), Rhamnose (RHA),Melibiose (MEL), Arabinose (ARA)]. (جدول 2) (صورة 1)، وقد لوحظ تميز التفاعلات الكيموحيوية لبعض العزلات من جراثيم الانتيروبكتر والبالغة (5) بكونها سالبة لاختبار [LDC , H2S , URE, TDA , IND , GEL, INO] وموجبة تجاه

[ONPG,ADH,ODC,CIT,VP,GLU, MAN,SOR,RHA,SAC,MEL,AMY, ARA] ، كما بينت نتائج تلك التفاعلات بالنسبة للعزلات الأخرى (4) نفس النتائج ماعدا فحص (SOR) فقد كان سالباً (جدول3) (صورة2,3) ، وقد اظهرت نتائج التفاعلات الكيموحيوية لجراثيم السالمونيلا بكونها سالبة لاختبار [ONPG , URE , TDA , IND , VP , GEL , INO , SAC , AMY]

وموجبة تجاه [ADH,LDC, ODC, CIT,H2S , GLU,MAN,SOR, RHA,MEL ,ARA] (جدول 4).اوضحت نتائج فحص الحساسية مقاومة جراثيم السالمونيلا والاشريشيا القولونية تجاه المضادات الحياتية (streptomycin , tetracyclin) بينما كانت تلك العزلات عالية الحساسية تجاه المضاد الحيوي amikacin ومتوسطةالحساسيةتجاه chloramphenico ، كما بينت الدراسة حساسية جراثيم الانتيروبكتر لجميع المضادات الحيوية التي شملتها الدراسة.

تتميز إصابات الجهاز الهضمي بالجراثيم المعوية في الإبل بكونها ممرضة في الأعمار الصغيرة أو قد تكون خاملة وتطرح بشكل مستمر في البيئة عن طريق البراز وخصوصاً في الأعمار الكبيرة بسبب تطور الجهاز المناعي لتلك الحيوانات، وتعرف تلك الجراثيم بكونها انتهازيه opportunistic أي تنمو وتتكاثر لتغزو أنسجة الجسم بعد عبورها نسيج الأمعاء وبالتحديد عند تعرض تلك الحيوانات إلى تثبيط مناعي أو إصابة بأمراض أخرى (Moore *et al*.,2002;Gutierrez *et al*.,2004; Gauthier *et al*.,2010).

وتبين من خلال نتائج الدراسة الحالية تشخيص جرثومة السالمونيلا في براز الإبل غير المصابة بالإسهال بسبب طرح تلك الجراثيم مع البراز نتيجة تعرضها لظروف مجهدة كنقص للغذاء او الاصابة بالأمراض الجهازية الاخرى فهي تشابه الحيوانات الحقلية الاخرى في كونها حاملة للمرض المزمن chronic carriers وهذا يتفق مع ما جاء به الباحث (Molla *et al*.,2004ab).

كما أظهرت النتائج تشخيص جراثيم الانتيروبكتر في الإبل غير المصابة مرضياً، وهذا يتطابق مع ما لاحظه Tibary *et al*(2006) من عزل جرثومة *Enterobacter cloacae* كإحدى المسببات الجرثومية الانتهازية لالتهاب الرحم في النوق، بينما تمكن Sevcik *et al*(2003) من عزل تلك الجراثيم من محتويات كرش الأبقار و مياه شربها (البحيرات والمستنقعات) فضلاً عن ذيفاناتها والتي تدعى saxitoxin المسببة للعلامات العصبية في الأبقار المصابة، بينما لاحظ Malinowski *et al*(2006) أن تلك الجراثيم كانت إحدى مسببات التهاب الضرع في الأبقار، كما عزل Seimiya *et al*(2007) من *E. cloacae* عجل مولود حديثاً مصاب بالتهاب الأغشية السحائية .

جدول (١) يبين أنواع الجراثيم المشخصة ونسب الإصابة

العدد المفحوص وفقاً لتخمير سكر اللاكتوز من عدمه		نوع الجرثومة المشخصة	العدد المصاب	نسبة الإصابة %
وسط الماكونكي	30	*Escherichia coli*	21	39.6
		Enterobacter cloacae	9	16.9
وسط السالمونيلا–شايكيلا	23	*Salmonella spp.*	4	17.3
المجموع الكلي	53	—	٣٤	64.1

جدول (٢) يبين التفاعلات الكيموحيوية الموجبة والسالبة لجراثيم الاشريشيا القولونية

نوع الاختبار	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Escherichia coli	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+

جدول (٣) يبين نوع التفاعلات الكيموحيوية الموجبة والسالبة لجراثيم الانتيروبكتر

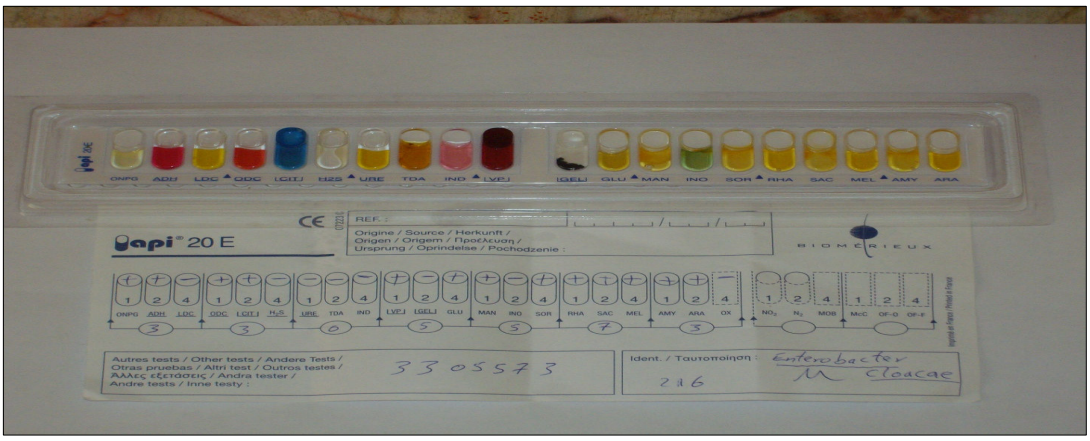
نوع الاختبار	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Entero bacter	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+
	+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+

جدول (٤) يبين التفاعلات الكيموحيوية الموجبة والسالبة لجراثيم السالمونيلا

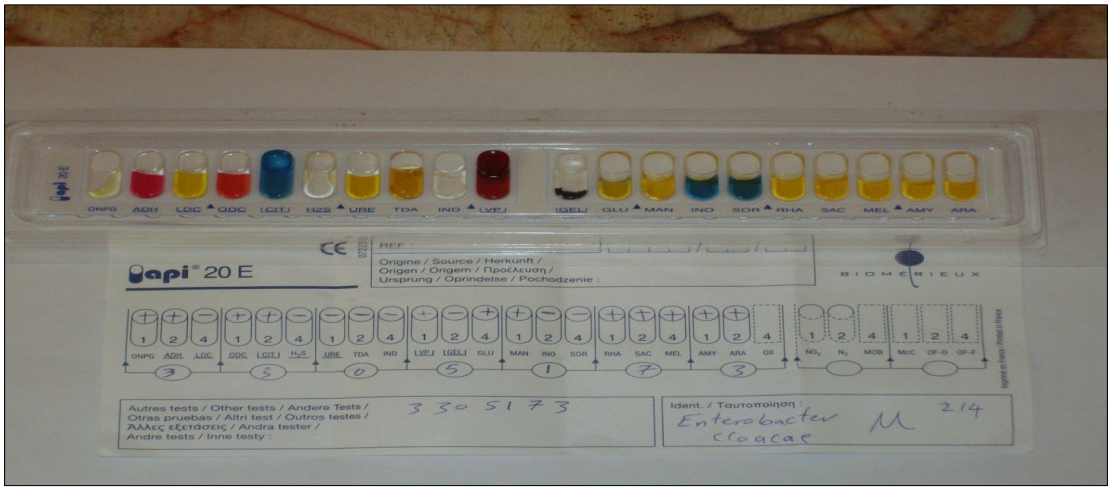
نوع الاختبار	ONPG	ADH	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA
Salmonella spp.	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+

صورة (1) تبين التفاعلات الكيموحيوية الموجبة والسالبة لجراثيم الاشريشيا القولونية

صورة (2) تبين التفاعلات الكيموحيوية الموجبة والسالبة لجراثيم الانتيروبكتر



صورة (3) تبين التفاعلات الكيموحيوية الموجبة والسالبة لجراثيم الانتيروبكتر



المصادر

Gutierrez, C.; Schulz, U.; Corbera, J. A.; Morales, I. & Tejedor, M.T. (2004). Vegetative endocarditis associated with *Escherichia coli* in a dromedary camel. Vet. Res. Commun., 28:455-459.

Malinowski, E.; Lassa, H.; Kllossowska, A.; Smulski, S.; Markiewics, H.; Kaczmarowski, M. (2006). Etiological agents of dairy cow's mastitis in western part of Poland. Pol. J. Vet. Sci., 9(3):191-194.

Molla, B.; Mohammed, A. & Salah, W. (2004a). Salmonella

Benson, (2001). Microbiological application: laboratory manual in general microbiology. p:185; 8th ed.; The McGraw Hill, USA.

Coles, E. H. (1986). Veterinary clinical pathology. P.320; 4thed.; Saunders company, Canada.

Gauthier, M.; Simard, M. & Blais, B.W.(2010). Prevalence of *Escherichia coli o157:H7* &Salmonella in traditional meats derived from game animals in Nunavik. Rural & Remote Health, 10:1329.

Sevcik, C.; Noriega, J. & Dsuze, G. (2003). Identification of Enterobacter bacteria as saxitoxin producers in cattle's rumen & surface water from Venezuelan savannahs. Toxicon, 42(4):359-366.

Tejedor-Junco, M.; Lupiola, P.; Caballero, M.; Corbera, J. A. & Gutierrez, C. (2009). Multiple abscesses caused by *Salmonella enterica* & *Corynbacterium pseudotuberculosis* in a dromedary camel. Trop. Anim. Health Prod., 41:711-714.

Tibary, A.; Fite, C.; Anouassi, A. & Sghiri, A. (2006). Infectious causes of reproductive loss in camelids. Theriogenology, 66:633-647.

Warnery, U. & Kaaden, O. R. (2002). Infectious diseases in camelids. p.73; 2nd ed., Blackwell science, Berlin, Germany.

prevalence & distribution of serotypes in apparently healthy slaughtered camels (*Camelus dromedarius*) in Eastern Ethiopia. Trop. Anim. Health Prod., 36(5);451-458.

Molla, B.; Salah, W.; Alemayehu, D. & Mohammed, A. (2004b). Antimicrobial resistance pattern of salmonella serotypes isolated from apparently healthy slaughtered camels (*Camelus dromedarius*) in Eastern Ethiopia. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr., 117(1-2);39-45.

Moore, J. E.; McCalmont, M.; Xu, J.; Nation, G.; Tinson, A. H.; Crothers, L. & Harron, D. W. G.(2002). Prevalence of fecal pathogens in calves of racing camels (*Camelus dromedaries*) in the United Arab Emirates. Trop. Anim. Health Prod., 34;283-287.

Radostitis, O.; Gay, C. C,; Hinchclif, K.W. & Constable, P.D. (2007). Veterinary medicine: a text book of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats & horses. P:809. 10th ed., Saunders company, London, England.

Seimiya, Y. M.; Murakami, M.; Takahashi, M.; SasakK.; Miyazaki, H. & Kawashima, K. (2007). A neonatal calf with concurrent Meningoencephalitis by *Enterobacter cloacae* & enteritis by attaching & effacing *Escherichia coli* (O128). J. Vet. Med. Sci., 69(4):445-448.

Detection Some of Enteric Pathogens in Camels (*Camelus dromedarius*) by Using API20E

Mohammed Hamzah Abdulkadhim
College of agriculture\ University of Al-Qadisiya

Abstract

This study was aimed to isolate & identify some of enteric pathogens in camel fecal samples by using analytical profile index; A total of (53) fecal samples were tested, (30) isolates were lactose fermented on MacConkey agar. The API20E test revealed that (21,9) infections with *Escherichia coli* & *Enterobacter cloacae*,(39.6,16.9)%, respectively. From the non-lactose ferment isolates (23) which sub cultured on salmonella-shiegella agar, from these only (4) isolates identified as *Salmonella sp*. (7.5%) by API20E. The antibiotics sensitivity test showed the resistance of *E. coli* & *Salmonella sp*. pathogens against tetracyclin & streptomycin, while these were sensitive to amikacin & intermediately sensitive to chloramphenicol. The *Enterobacter cloacae* was sensitive to all antibiotics that covered in this study.