التوصيف الجزيئي لبكتيريا الباستريلا مالتوسيدا المعزولة من بعض حيوانات المزرعة بمحافظة الفيوم - مصر

مقدمة من

آيات أحمد عمر طلب

كجزء من متطلبات الحصول على

درجة الماجستير في العلوم الزراعية

(وراثة)

قسم الوراثة

كلية الزراعة

جامعة الفيوم

٢٠١٤

الملخص العربي

تعتبر صناعة الإنتاج الحيواني و الدواجن من أهم الموارد الاقتصادية لمصر حيث تمدنا باللحوم والألبان والبيض والصوف وغيرها من المنتجات في هذا المجال حيث أنها توفر العديد من فرص العمل فى مزارع الإنتاج الحيواني والدواجن.

تعتبر بكتيريا الباستيرلا من أهم الميكروبات الممرضة التى تصيب حيوانات المزرعة والطيور والأرانب خاصة السلالة باستريلا مالتوسيدا *Pasteurella multocida* حيث تسبب مرض الكوليرا للبط والرومي والدجاج ومرض التسمم الدموي البكتيري فى الأرانب ومرض الالتهاب الرئوى في الارانب صغيرة العمر و الأغنام والأبقار ومرض حمى السفر للأبقار و التسمم الدموي في الحيوانات الكبيرة.

تضمنت الدراسة علي عزلات من بكتيريا الباستيرلا وتصنيفها مورفولوجيا وكيميائيا حيويا وعلى المستوى الجزيئى.

أجريت الدراسة بقسم الوراثة - كلية الزراعة - جامعة الفيوم - الفيوم- مصر. خلال الفترة من ٢٠٠٩ حتي ٢٠١٣ و شملت الدراسة اثني عشر عزلة من بكتيريا الباستيريلا تم عزلها من مسحات انفية لعدد من بعض حيوانات المزرعة وهي الاغنام والجاموس والابقار والتي ظهرت عليها اعراض تنفسية اكلينيكية في منطقة الفيوم – مصر.

وأهداف الدراسة هي:-

- جمع عينات تتمثل في مسحات أنفية لحيوانات تظهر عليها أعراض تنفسية اكلينيكية من مناطق مختلفة بالفيوم باستخدام Swaps قطنية معقمة لأخذها للمعمل لإجراء عزل البكتيريا وتنميتها على Brain-heart infusion broth ثم بيئة اجار الدم.
- تنقيه عزلات بكتيريا الباستيرلا والحصول على عزلات نقية.
- إجراء توصيف كيميائى حيوي بالطرق التفليدية وايضا باستخدام API Kit -20 E 25 strips.
- اختبار حساسية العزلات لعشر انواع من المضادات الحيوية.
- عزل الـ DNA باستخدام Bacterial DNA Kit (Spin Colum) وبطريقة الغليان لخمس عزلات هي FPU-2 من الاغنام و(FPU-5 و FPU-8) من الجاموس و (FUP-9 و FUP-12) من الابقار وإجراء تكنيك الـRAPD-PCR لتحديد درجة التشابه بين العزلات.
- اجراء توصيف جزيئى للعزلات الخمس باستخدام 16S rDNA و جين Kmt1.
- عمل Sequencing لتحديد التتابع النيوكليوتيدى لنواتج الـ PCR.

ويمكن تلخيص أهم النتائج المتحصل عليها فيما يلى:

- تم عزل 12 عزلة من بكتيريا الباستيريلا من بعض حيوانات المزرعة وهي ٤ من الاغنام و ٤ من الجاموس و ٤ من الابقار وتم التعريف المورفولوجى للعزلات بوصف المستعمرات علي بيئة اجار الدم وكان لونها رمادي ومستديرة ولامعة ومخاطية وقطر الخلايا 0.2:2 µm وتميزت خمس من العزلات بعدم قدرتها علي تحلل الدم او النمو على بيئة اجار ماكونكي وهذا ما يميز الباستريلا ملتوسيدا.
- اجريت الاختبارات الكيميائية الحيوية على العزلات و كانت كلها موجبة للاكسيديز والكتاليز وانتاج ال H_2S وسالبة لانتاج اليوريز و تخمر بعض السكريات حيث كانت خمس عزلات (+) مع السكروز والجلوكوزوالسوربيتول و(-) للاكتوز والمانيتول وتم استخدام API-20 E Kit واظهرت النتائج ان هناك احتمال ان العزلات باستيريلا.

- تم اجراء علي خمس عزلات هي FUP-2 و FUP-5 وFUP-8 و FUP-9 و FUP-12 اختبارات الحساسية لعشر مضادات الحيوية ووجد ان العزلات حساسة لكل من التيتراسيكلين والكلنداميسين والايرثروميسين والكلورومنفكول وجميعها مقاومة للامبسيلين وال Flucloxacillin وال Trimethoprim
- تم عزل ال DNA للخمس عزلات وعمل تفاعل البلمرة المتسلسل العشوائيRAPD-PCR باستخدام ٩ بادئات عشوائية هى:
(OPA-01 و OPA-02 و OPA-03 و OPA-04 و OPA-05 و OPA-06 و OPA-07 و OPA-09 وOPA-010)
- باستخدام التكبير العشوائى لمناطق متباينة من ال DNA (RAPD-PCR) ان جميع العزلات الخمس كانت باستريلا مالتوسيدا واظهرت نتائج تفاعل البلمرة المتسلسل لمنطقة (16S rDNA) و جين KMT1 لجميع العزلات الخمس وتم الحصول علي حزمة واحدة 1471 و 460 زوج من القواعدعلي التوالي.

التوصيات

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها توصيف خمس عزلات من بكتيريا الباستيريلا مالتوسيدا مورفولوجيا و كيميائيا حيويا وعلي المستوي الجزيئى واختبارها للحساسية لعشر مضادات حيوية مختلفة وبناء على نتائج الدراسة ، نوصى بما يلي :

١- ينبغي إجراء اختبار حساسية العزلات البكتيريه قبل وصف المضاد الحيوى المستخدم لعلاج الحيوانات المريضة.

٢- ينبغي ترشيد استخدام المضادات الحيوية في العلاج للحد من ظهور وانتشار سلالات من الباستريلا تكون مقاومة للمضادات الحيوية حتي لا يحدث خسارة اقتصادية للمربي سواء في الخطأ في تشخيص المرض او الاسراف في المضادات الحيوية.

٣- يمكن تشخيص الامراض الناتجة عن الباستريلا مالتوسيدا باستخدام 16S rDNA و جين ال KMT1