

دراسة عن العزل الجرثومي من الكلاب المصابة بأورام سرطانية خبيثة

وصبا عبود علي*

واحلام عبد الرزاق محمد*

سحر مهدي حياوي*

و انوار محمود عيسى*

وجعفر محمد حسن الغبان**

* فرع الاحياء المجهرية- كلية الطب البيطري-جامعة بغداد - بغداد - العراق

**قسم امراض الدم والغدد- مستشفىالطفل المركزي- بغداد - العراق

02/12/2007

تاريخ التسليم

19/04/2009

تاريخ القبول

الخلاصة

استهدف البحث إجراء العزل الجرثومي باستخدام المسحات الفموية وعينات الإدرار من حالات الكلاب المصابة بأورام سرطانية خبيثة حيث اشتملت هذه الدراسة على 64 كلباً تضمنت 38 أنثى و 26 ذكراً يعانون من أورام سرطانية مختلفة، قد اظهرالبحث اعلى نسبة عزل جرثومي من المسحات الفموية لجرثومة *Escherichia coli* بنسبة 50 % و *A.pyogenes* (40.6 %) ثم *Beta Heamolytic streptococcus group D* و *S.aureus* (21.8 %) ، كذلك *Klebsiella spp.* و *A. viscosus* بنسبة 18.7 % و *S.epidermidis* (12.5 %) و *Beta Heamolytic streptococcus group B* (9.3 %) ثم *P.mirabilis* و *Heamolytic streptococcus group G* و *Micrococcus* (6.2 %) و *P.aerugenosa* و *P. vulgaris* بنسبة 3.1 % .

أما العزلات الجرثومية من عينات الإدرار فقد بلغت أعلى نسبة عزل (53.12 %) وكانت لجرثومة *E.coli* ثم *S.aureus* بنسبة 28.1 % و *P.mirabilis* (23.4 %) ، و *Klebsiella spp.* (18.7 %) ، و *P.vulgaris* و *S.saprophyticus* (7.8 %) ، و *S.epidermidis* (6.2 %) و *Micrococcus* و *A. pyogenes* و *P. aerugenosa* بنسبة 3.1 % .

بينت اختبارات الحساسية للعزلات الجرثومية من المسحات الفموية مايلي:

اظهرت نتائج *E.coli* وجود فروق معنوية بمستوى $P<0.05$ حيال المضادات الحياتية المختلفة حيث كان اعلاها amikacin واقلها tetracycline. كما اظهرت نتائج *Actinomyces pyogens* وجود فروق معنوية بمستوى $P<0.05$ حيال المضادات الحياتية المختلفة حيث كان اعلاهاحساسية amoxicillin , ciprofloxacin , ampicillin , amikacin واقلها amoxicillin , اما *Beta Heamolytic Streptococcus group D* فقد اظهرت النتائج على عدم وجود فروق معنوية $P>0.05$ لحساسيتها حيال المضادات الحياتية المختلفة.

وكانت نتائج اختبارات الحساسية للعزلات الجرثومية من عينات الادرار كمايلي:

E.coli وجدت فروقات معنوية بمستوى $P<0.05$ حيال المضادات الحياتية وكان اعلاها amikacin و Augmantin واقلها clarithromycin كما اظهرت نتائج *Staphylococcus aureus* وجود فروقات معنوية بمستوى $P<0.05$ لحساسيتها حيال المضادات الحياتية المختلفة وظهر اعلاها amikacin و cefotaxime و Augmantin واقلها tetracycline.

واظهرت نتائج *Proteus mirabilis* وجود فروق معنوية بمستوى $P<0.05$ حيال المضادات الحياتية المختلفة حيث كان اعلاها amikacin واقلها trimethoprim+sulfamethoxazol ampicillin , amoxicillin , clarithromycin.

نلاحظ من النتائج إن جرثومة *E.coli* مثلت النسبة الاعلى من حالات العزل الجرثومي من الكلاب المريضة فضلاً عن عزل *Actenomyces pyogenes* كما ان المضاد الحيوي Amikacin اظهر فعالية عالية جدا لعزلات المسحات الفموية اما المضاد Cefotaxime فقد اظهر فعالية عالية لعزلات عينات الإدرار .

Study on bacterial isolation from dogs affected with malignant tumor

Saher. M.H.* , Mohamed .A .Abdulrazak* , Ali.S. Aboud * , Al-khaban. J. M. ** and Iesa. A.M*

*Dept. of Microbiology –college of Vet. Med. –Baghdad University –Baghdad - Iraq

**Dept. Of blood & gland diseases -central Pediatrics hospital –Baghdad- Iraq

Summary

To identify the bacterial isolation from dogs have cancer diseases, the samples were (throat swab and urine) have been taken from (64) dogs suffering from different cancer diseases includes (38) females and (26) males.

The result of throat swab as were follows: *E.coli* (50%), *Actenomyces pyogenes* (40.6 %) , Beta Heamolytic Streptococcus group D (21.8 %) , *Staphylococcus aureus* (21.8 %) , *Klebsiella spp* also *Actenomyces viscosus* (18.7%), *S.epidermidis*(12.5%), Beta Heamolytic Streptococcus groupG (9.3 %) , *Proteus mirabilis* (9.3 %) , Beta Heamolytic Streptococcus group B (6.2 %) , *Bacillus subtilis* (6.2 %) , *Micrococcus* (6.2%) , *Pseudomonas aeruginosa* also *Proteus vulgaris* (3.1%).

While the urine samples of infected dogs showed the bacterial isolates of *Escherichia coli* (53.12 %) , *Staphylococcus aureus* (28.1) , *Proteus mirabilis* (23.4%) , *Klebsiella spp* (18.7 %) , *Proteus vulgaris* also *Staphylococcus saprophyticus* (7.8 %) , *Staphylococcus epidermidis* (6.2 %) , *Micrococcus* , *Actenomyces pyogens*, *Pseudomonas aeruginosa* (3.1 %) . No significant differences were appeared at level $P > 0.05$ between females and males or Gram positive and Gram negative bacteria.

The results of antibiotic sensitivity test to bacterial isolates from throat swabs were: *E.coli* have been showed a significant differences at level $P < 0.05$ among different antibiotics, the highest was amikacin and lowest was tetracycline.

Actenomyces pyogens has been significant differences at level $P < 0.05$ among different antibiotics, the highest was amikacin, ampicillin, ciprofloxacin & the lowest was amoxicillin.

Beta Heamolytic Streptococcus group D has been no significant differences at level $P > 0.05$ among different antibiotics.

The results of antibiotic sensitivity test to bacterial isolates from urine samples showed: *E.coli* have been significant differences at level $P < 0.05$ among different antibiotics, the highest was amikacin and augmantin but the lowest was clarithromycin.

S. aureus has been significant differences at level $P < 0.05$ among different antibiotics, the highest were amikacin, cefotaxime & augmantin but the lowest was tetracycline.

P.mirabilis has been significant differences at level $P < 0.05$ among different antibiotics, the highest was amikacin, the lowest were ampicillin, clarithromycin, amoxicillin & tetracycline..

The study showed that *E.coli* was the common bacteria isolated from dogs at the same time *A.pyogenes* was isolated too.

Amikacin was the most effective antibiotic to bacteria isolated from throat swabs while cefotaxime was effective against isolated bacteria from urine.

المقدمة

يعد مرض السرطان من الامراض الخطيرة التي تؤدي بحياة ملايين البشر اضافة الى الحيوانات حيث اظهرت الدراسات الصادرة عن وزارة البيئة العراقية عام 2003 تضاعف نسب الملوثات في العراق الى 11 ضعف عما كانت عليه عام 1987 وقد عزت الاسباب الى كثرة الحروب واستخدام الاسلحة الخطيرة(1) بالاضافة الى الاسباب الاخرى للمرض ومنها العوامل البيئية مثل المسرطنات الكيميائية والاشعاع والتغذية ثم العوامل الجينية مثل الطفرات الوراثية . وقد لوحظ ان الأمراض السرطانية والأورام وأمراض الاضطرابات المناعية (Immunologic disorder diseases) والإصابات البكتيرية المتكررة أدت إلى ارتفاع نسبة الوفيات عند الأطفال والحيوانات المستأنسة في دول العالم الثالث(2).

وجد الباحثون في العراق (3) ان أورام الجهاز العضلي الهيكلي منتشرة في الكلاب أولها أورام الجلد ثم أورام الثدي وأورام العظام مثل الغرن الغضروفي وورم الخلية العملاقة. أما بالنسبة للجهاز المفراوي فقد سجلت حالات منفردة في الكلاب (4).

ويسبب قلة الدراسات داخل العراق عن انواع البكتيريا المعزولة من الكلاب المصابة بالسرطان فقد استهدف البحث عزل وتشخيص البكتريا المستوطنة في الفم والإدرار للكلاب المصابة بالأورام الخبيثة واختبار حساسية العزلات لبعض المضادات الحيوية المستخدمة كعلاجات بيطرية.

المواد وطرائق العمل

استخدمت الأوساط الزرع والاختبارات الكيموحيوية التالية لعزل وتشخيص البكتيريا من المسحات الفموية وعينات الإدرار المأخوذة من الكلاب:-
وسط أكار الدم، وسط المرق المغذي، وسط الماكونكي، وسط المانيتول الملحي وسط اليوريا، وسط احمر المثيل - فوكس بروسكور، وسط الحركة،
وسط تحلل النشأ، مرق اختزال النترات، وسط استهلاك السترات، وسط EMB، وسط الجلوتين، وسط السكر الثلاثي مع الحديد TSI، وسط
الفنيل الانين، وسط مولر هنتون الصلب ومجموعة لانسفيلد المصلية لتشخيص أنواع بكتيريا Streptococcus.

طريقة جمع العينات

1. جمع المعلومات

شخصت الكلاب التي تعاني من الأورام الخبيثة والمصابة بالتهابات جرثومية متعددة في العيادات البيطرية، حيث لوحظت الأورام الخبيثة الموجودة في جسم الكلب مع الارتشاحات وامتداد الورم إلى أماكن مختلفة في الجسم من خلال الفحص السريري والعمليات الجراحية لاستئصال الورم.

2. المسحات الفموية:

جمعت 64 عينة تضمنت 38 عينة من الإناث و26 عينة من الذكور. أخذت العينة بالاستعانة بخافض لسان معقم بعد تهدئة الحيوان ثم اخذ النموذج بصورة دقيقة من الأماكن المحتقنة والخراجات الموجودة على جدار الفم والبلعوم. استخدمت مسحات قطنية معقمة حاوية على وسط مغذٍ ومعقم، ثم زرع النموذج مباشرة على وسط أكار الدم ووسط الماكونكي.

3. جمع عينات الإدرار

جمعت 64 عينة تضمنت 38 عينة من الإناث و26 عينة من الذكور بعد إجراء تطهير موضعي ثم تؤخذ عينة البول بعد تثبيت المعلومات الكاملة على الأنابيب الخاصة. أما في حالة الكلاب الإناث أو الذكور الذين يعانون من تعب شديد أو بعد التخدير أثناء إجراء عملية استئصال الورم استخدمت الأكياس البلاستيكية الخاصة حيث تثبتت على جسم الحيوان بلاصق مجهز بعد إجراء تطهير موضعي وتؤخذ البيلة التي تخرج منه، ثم تثبتت المعلومات الكاملة على الكيس ونقلت لغرض إجراء الفحوصات المختبرية.

4. عينات الإدرار Urine analysis

* وضعت عينات الإدرار في أنابيب النبذ المركزي المعقمة بسرعة 3000 دورة / دقيقة لمدة 5 دقيقة. وزع الراسب على أوساط زرعية هي أكار الدم و أكار المكونكي ثم حضنت الأوساط الزرعية بدرجة 37 °م لمدة 24 ساعة (5).

5. زرع العينات

الطريقة المباشرة

* وضع وسط أكار الدم في حاوية Candle jar باستخدام شمعة مشتعلة داخل الحاوية قبل اغلاقها بإحكام لتوفير نسبة 5-10% غاز ثاني
اوكسيد الكربون في الحاضنة تحت درجة 37 °م ولمدة 24-48 ساعة.

* وضع وسط المكونكي في الحاضنة بدرجة 37 °م لمدة 24 ساعة ويعتبر وسطاً تفريغياً.

الطريقة غير المباشرة:

* زُرعت العينات في أنابيب حاوية على 5 مل من المرق المغذي Nutrient broth وحُضنت بدرجة 37 °م لمدة 24-48 ساعة، بعد ذلك زُرعت
على الأوساط الزرعية الاعتيادية والاختيارية وحضنت بدرجة 37 °م ولمدة 24-48 ساعة، ومن ثم أكملت بقية خطوات التنقية لغرض الحصول
على مستعمرات نقية منفردة.

بعد زرع النموذج على الأوساط الزرعية نقيت المستعمرات الجرثومية، ثم صبغت بصبغة كرام واجريت الاختبارات الكيموحيوية لغرض
التشخيص بصورة نهائية.

النتائج

تضمنت النتائج للجراثيم المعزولة اعتماداً على أشكال المستعمرات النامية على الوسطين الزرعيين وسط أكار الدم ووسط أكار المكونكي، وخواصها
الزرعية على الأوساط الانتخابية التفريقية الخاصة ونتائج الاختبارات الكيموحيوية التفريقية لكل نوع من الجراثيم المعزولة ومنها وسط المكونكي،
وسط المانيتول الملحي وسط اليوريا، وسط احمر المثيل - فوكس بروسكور، وسط الحركة، وسط تحلل النشأ، مرق اختزال النترات، وسط
استهلاك السترات، وسط EMB، وسط الجلوتين، وسط السكر الثلاثي مع الحديد TSI و وسط الفنيل الانين كما تضمنت النتائج الصفات
المجهرية وأشكال الخلايا تحت المجهر. ميزت المسببات الجرثومية اعتماداً على بعض المصادر العلمية (6,7,8) اظهرت العزلات الجرثومية من
المسحات الفموية اعلى نسبة عزل كانت لبكتيريا *Escherichia coli* (50%) وتليها *Actinomyces pyogenes* (40.6%) ثم *H. S.* -
Staphylococcus aureus (21.8%) كما موضح بالجدول (جدول 1).

اماعينات الادرار فكانت اعلى نسبة عزل ايضا لبكتيريا *Escherichia coli* (53%) تليها *Staphylococcus aureus* (28%) كما موضح بالجدول (جدول 2).

جدول (1): الجراثيم المعزولة من المسحات الفموية في الكلاب المصابة بالأمراض السرطانية الخبيثة.

التسلسل	الجراثيم المعزولة	عدد العزلات	نسبتها المئوية
1	<i>Escherichia coli</i>	32	50
2	<i>Actinomyces pyogenes</i>	26	40.625
3	β - <i>H. S. group D</i>	14	21.875
4	<i>Staphylococcus aureus</i>	14	21.875
5	<i>Klebsiella spp.</i>	12	18.75
6	<i>Actinomyces viscosus</i>	12	18.75
7	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8	12.5
8	β - <i>H. S. group G</i>	6	9.375
9	<i>Proteus mirabilis</i>	6	9.375
10	β - <i>H. S. group B</i>	4	6.25
11	<i>Bacillus spp</i>	4	6.25
12	<i>Micrococcus</i>	4	6.25
13	<i>P. aerogenosa</i>	2	3.125
14	<i>P. vulgaris</i>	2	3.125
	المجموع	*146	

*العدد الكلي للجراثيم المعزولة (عدد العينات 64 عينة).

جدول (2) : الجراثيم المعزولة من عينات الادرار في الكلاب المصابة بالأمراض السرطانية الخبيثة

التسلسل	الجراثيم المعزولة	عدد العزلات	نسبتها المئوية
1	<i>Escherichia coli</i>	34	53.125
2	<i>Staphylococcus aureus</i>	18	28.125
3	<i>Proteus mirabilis</i>	15	23.437
4	<i>Klebsiella spp.</i>	12	18.75
5	<i>Proteus vulgaris</i>	5	7.812
6	<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	5	7.812
7	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	6.25
8	<i>Micrococcus</i>	2	3.125
9	<i>Actinomyces pyogenes</i>	2	3.125
10	<i>Pseudomonas aerogenosa</i>	2	3.125
	المجموع	* 99	

*العدد الكلي للجراثيم المعزولة (عدد العينات 64 عينة).

نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية

العزلات البكتيرية من عينات المسحات الفموية عند الكلاب المصابة:-

- *E.coli* اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى $P < 0.05$ لحساسيتها حيال المضادات الحيوية المختلفة حيث كان اعلاها amikacin وقلها tetracycline.
- *Actinomyces pyogenes* اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى $P < 0.05$ لحساسيتها حيال المضادات الحيوية المختلفة حيث كان اعلاها amoxicillin, ampicillin, ciprofloxacin, وقلها amoxicillin.
- *Beta Hemolytic Streptococcus group D* اظهرت النتائج على عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$ حيال المضادات الحيوية المختلفة.
- *Staphylococcus aureus* اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى $P < 0.05$ بين المضادات الحيوية المختلفة حيث كان اعلاها حساسيةً norfloxacin , amikacin, ciprofloxacin , وقلها tetracycline و amoxicillin.
- *Klebsiella spp.* اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى $P < 0.05$ لحساسيتها حيال المضادات الحيوية المختلفة حيث كان اعلاها amikacin , ciprofloxacin, norfloxacin , وقلها amoxicillin و clarithromycin.
- *Actinomyces pyogenes* اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى $P < 0.05$ حيال المضادات الحيوية المختلفة حيث كان اعلاها حساسيةً amikacin و Augmantin (Amoxicillin+clavulanic acid) وقلها tetracycline.
- *Staphylococcus epidermidis* اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى $P < 0.05$ في حساسيتها للمضادات الحيوية المختلفة حيث كان اعلاها amikacin و Augmantin و (trimethoprim+sulfamethoxazole) وقلها chloramphenicol و amoxicillin.
- *Beta Hemolytic Streptococcus group D* , *Pseudomonas aerogenosa* , *Proteus vulgaris* , *Micrococcus* لوحظ عدم وجود فروق معنوية $P > 0.05$ لحساسية العزلات الجرثومية حيال المضادات الحيوية.
- *العزلات البكتيرية من عينات الادرار عند الكلاب المصابة
 - *E.coli* وجدت فروقات معنوية بمستوى $P < 0.05$ بين المضادات الحيوية وكان اعلاها amikacin و Augmantin وقلها clarithromycin.
 - *Staphylococcus aureus* اظهرت النتائج وجود فروقات معنوية بمستوى $P < 0.05$ لحساسيتها تجاه المضادات الحيوية المختلفة حيث كان اعلاها amikacin و cefotaxime و Augmantin وقلها tetracycline.

- *Proteus mirabilis* اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى $P < 0.05$ لتحسسها حيال المضادات الحياتية المختلفة حيث كان اعلاها amikacin واقلها trimethoprim+ clarithromycin و amoxicillin ampicillin, .sulfamethoxazol.
 - *Klebsiella spp.* اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى $P < 0.05$ حيال المضادات الحياتية المختلفة حيث كان اعلاها amikacin و ciprofloxacin و cefotaxime واقلها amoxicillin و clarithromycin .
 - *Proteus vulgaris* اظهرت النتائج وجود فروق معنوية بمستوى $P < 0.05$ حيال تحسسها للمضادات الحياتية المختلفة حيث كان اعلاها تحسسا amikacin و augmantin و norfloxacin واقلها tetracycline و ampicillin.
- اما بالنسبة للعزلات الجرثومية *S.saprophyticus, S.epidermidis, Micrococcus, Actinomyces pyogens, Pseudomonas aeruginosa* فلقد اظهرت النتائج على عدم وجود فروق معنوية حيال المضادات الحياتية بمستوى $P > 0.05$ خضعت النتائج للتحليل الاحصائي بأستخدام مربع كاي (X^2) (27).

المناقشة

تشخيص عينات المسحات الفموية :

عزلت جرثومة *Actinomyces pyogens* وتستوطن الأغشية المخاطية للغم ، في المنطقة الأنفية البلعومية ، أخذت المسحة الفموية من منطقة مليئة بالمواد الفيجية من فم الكلاب وخاصة المنطقة الداخلية من جانب اللسان حيث عُزلت بنسبة 40.6 % من مجموع عينات المسحات الفموية وهذا يخالف ما ذكره (8) من أن هذه الجرثومة قد عزلت من الماشية فقط ، والسبب قد يعود إلى إن كلاب الحراسة تعيش بتماس مع الماشية في الحقول الزراعية ومن الممكن انتقال الجرثومة إلى الكلاب لاسيما وهي تعاني من تدهور وضعف في الصحة العامة. كذلك عزل جنس *A.viscosus* بنسبة 18.7 % من مناطق قيحية داخل الفم، هذه الجرثومة تسبب مرض Canine actinomycosis (9).

ان أكثر العزلات الجرثومية المعزولة هي *E. coli* بنسبة 50 % أعطت أعلى نسبة عزل من المسحات الفموية (10)، تستوطن هذه الجرثومة القناة الهضمية للكلاب حيث استطاعت اختراق الحواجز الطبيعية ومقاومة الأنزيمات وضعف الأجسام المناعية المضادة بسبب الأمراض السرطانية. ظهرت عزلات المسبقيات ذات التحلل بيتا مجموعة D بنسبة 21.8 % ومجموعة G بنسبة 9.3 % ومجموعة B بنسبة 6.2 % شخّصت هذه الأنواع عن طريق مجاميع لانسفيلد المصلية ، تسمى مجموعة B *Streptococcus agalactiae* هذه الجرثومة موجودة في الإنسان والحيوان ، وتسبب الالتهاب الرئوي (11).

اما مجموعة G يطلق عليها *S.canis* أعطت تحلاً من نوع بيتا ، وتسبب تعفن الدم septicemia كذلك تصيب القناة التناسلية والجلد والجروح (8).

وعزلت جراثيم المسبقيات مجموعة D ذات التحلل بيتا على وسط اكار الدم وتضم هذه المجموعة عدد من الأجناس التابعة لأنواع *Enterococcus* تتواجد في القناة الهضمية وتعتبر من الجراثيم الانتهازية التي تستوطن القناة البولية للكلاب (8) .

جدول (3-A) : العدد والنسب المئوية لحساسية العزلات الجرثومية حيال المضادات الحيوية المعزولة من عينات المسحات الفموية عند الكلاب المصابة بالاورام السرطانية الخبيثة (عدد العينات 64 عينة)

<i>A. viscosus</i> عزلة 12		<i>Klebsiella Spp.</i> عزلة 12		<i>S. aureus</i> عزلة 14		β - H.S Group D. عزلة 14		<i>A. pyogens</i> عزلة 26		<i>E. coli</i> عزلة 32		الجراثيم المضادات الحيوية (مايكروغرام)	
النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد		
67	8	33	4	14	2	93	13	100	26	47	15	Ampicillin 10	1
100	12	100	12	100	14	100	14	100	26	100	32	Amikacin 30	2
50	6	17	2	71	10	71	10	96	25	19	6	Clarithromycin 15	3
75	9	92	11	71	10	71	10	92	24	91	29	Gentamycin 10	4
75	9	17	2	00	0	71	10	8	2	53	17	Amoxicillin 25	5
92	11	100	12	100	14	86	12	100	26	94	30	Ciprofloxacin 5	6
92	11	75	9	71	10	86	12	77	20	78	25	Cefotaxime 30	7
100	12	83	10	86	12	100	14	92	24	78	25	Amoxicillin +Clavulanic acid 30	8
50	6	92	11	71	10	64	9	96	25	75	24	Trimethoprim +Sulfamethoxazol 25	9
67	8	75	9	50	7	64	9	100	26	53	17	Chloramphenicol 30	10
75	9	100	12	100	14	93	13	96	25	84	27	Norfloxacin 10	11
17	2	75	9	00	0	77	11	92	24	00	0	Tetracycline 30	12

جدول (B-3) : العدد والنسب المئوية لحساسية العزلات الجرثومية حيال المضادات الحيوية المعزولة من عينات المسحات الفموية عند الكلاب المصابة بالاورام السرطانية الخبيثة (عدد العينات 64 عينة)

<i>P.vulgaris</i> 2 عزلات		<i>P.aeruginosa</i> 2 عزلات		<i>Micrococcus</i> 4 عزلات		β -H.S Group B 4 عزلات		<i>P.mirabilis</i> 6 عزلات		β -H.S. Group G 6 عزلات		<i>S.epidermidis</i> 8 عزلات		الجراثيم	
المضادات الحيوية (مايكروغرام)															
النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد		
00	0	00	0	00	0	50	2	00	0	83	5	63	5	Ampicillin 10	1
100	2	00	0	100	4	100	4	100	6	100	6	100	8	Amikacin 30	2
50	1	00	0	75	3	100	4	00	0	83	5	88	7	Clarithromycin 15	3
00	0	00	0	75	3	50	2	83	5	83	5	13	1	Gentamycin 10	4
00	0	00	0	25	1	50	2	16	1	83	5	00	0	Amoxicillin 25	5
100	2	100	2	75	3	100	4	83	5	100	6	50	4	Ciprofloxacin 5	6
50	1	50	1	75	3	50	2	67	4	67	4	50	4	Cefotaxime 30	7
100	2	50	1	75	3	100	4	67	4	100	6	100	8	Amox.+Clav. Acid 30	8
50	1	00	0	75	3	25	1	17	1	00	0	100	8	Trim.+Sulfamethoxazol 25	9
50	1	100	2	100	4	75	3	50	3	83	5	100	8	Chloramphenicol 30	10
100	2	50	1	75	3	25	1	67	4	100	6	88	7	Norfloxacin 10	11
00	0	00	0	00	0	00	0	00	0	85	5	63	5	Tetracycline 30	12

جدول(4): العدد والنسب المئوية لحساسية العزلات الجرثومية حيال المضادات الحيوية والمعزولة من عينات الإدرار من الكلاب المصابة بالاورام السرطانية الخبيثة (عدد العينات 64 عينة)

<i>P.aerugenosa</i>		<i>A.pyogens</i>		<i>Micrococcus</i>		<i>S.epidermidis</i>		<i>S.saprophyticus</i>		<i>P.vulgaris</i>		<i>Klebsiella Spp.</i>		<i>P.mirabilis</i>		<i>S.aureus</i>		<i>E.coli</i>		الجراثيم المضادات الحيوية (مايكروغرام)	
عزلة 2		عزلة 2		عزلة 2		عزلات 4		عزلات 5		عزلات 5		عزلة 12		عزلة 15		عزلة 18		عزلة 34			
النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد	النسبة	العدد		
00	0	100	2	00	0	50	2	60	3	00	0	33	4	13	2	22	4	50	17	Ampicillin 10	1
00	0	100	2	100	2	100	4	100	5	100	5	100	12	100	15	100	18	100	34	Amikacin 30	2
00	0	100	2	50	1	75	3	60	3	60	3	25	3	13	2	50	9	15	5	Clarithromycin 15	3
00	0	100	2	50	1	00	0	60	3	20	1	83	10	73	11	56	10	74	25	Gentamycin 10	4
00	0	50	1	00	0	25	1	80	4	20	1	25	3	13	2	5	1	53	18	Amoxicillin 25	5
100	2	100	2	100	2	100	4	100	5	80	4	100	12	93	14	83	15	88	30	Ciprofloxacin 5	6
100	2	100	2	100	2	75	3	80	4	80	4	100	18	87	13	100	18	94	32	Cefotaxime 30	7
100	2	100	2	100	2	100	4	80	4	100	5	83	10	73	11	100	18	100	34	Amoxicillin +Clavulanic acid 30	8
100	2	100	2	50	1	75	3	40	2	60	3	91	11	17	2	83	15	97	33	Trimethoprim +Sulfamethoxazol 25	9
50	1	100	2	100	2	100	4	60	3	40	2	83	10	40	6	67	12	74	25	Chloramphenicol 30	10
100	2	100	2	50	1	75	3	80	4	100	5	83	10	80	12	89	16	88	30	Norfloxacine 10	11
00	0	100	2	00	0	50	2	00	0	00	0	75	9	13	2	00	0	24	8	Tetracycline 30	12

وشخصت جرثومة *Klebsiella spp.* بنسبة 18.7 % وجودها في المسحات الفموية للكلاب لا يتفق مع ما ذكره (6) حيث ذكر عزل هذه الجرثومة من الماعز والبط والماشية والخنازير والطيور فقط. إضافة إلى عزل وتشخيص جرثومة المتقلبات *Proteus mirabilis* بنسبة 9.3% التي تصيب الجهاز البولي للكلاب وقد وجد في هذه الدراسة إصابتها للفم خلال عزلها من عينات المسحات الفموية، حيث إن الموطن الطبيعي لهذه الجرثومة هو في فضلات الحيوانات و في البيئة، وقد يعود سبب وجودها في الفم إلى انتقال هذه الجراثيم مع الفضلات إلى فم الحيوان واستيطانها بسبب قلة الاستجابة المناعية للحيوان و أشارت الدراسات إلى إن هذه الجرثومة تصيب الإذن الخارجية أيضا (12). أظهرت الدراسة وجود جرثومة *Staphylococcus epidermidis* بنسبة 2.5 % بالإضافة إلى *Micrococcus* بنسبتها 6.25%. أما جرثومة *Staphylococcus aureus* فكانت نسبة عزلها 21.8 % من عينات المسحات الفموية للكلاب المريضة وقد ظهرت مستعمرات هذه الجرثومة ببيضاء اللون وغير حاوية على صبغة (8) ومحللة للدم من نوع بيتا، تستوطن المناطق الجلدية للكلاب وتسبب الالتهابات في حالة حدوث ضعف في الصحة العامة للحيوان يمكن انتقالها إلى داخل الفم مسببة الالتهابات الحادة (13). شخصت *Pseudomonas aeruginosa* بنسبة 3.1 % من عينات المسحات الفموية للكلاب المريضة (14)، أما بالنسبة إلى تشخيصها فقد ظهرت بشكل مستعمرات متوسطة إلى كبيرة الحجم شاحبة اللون مخاطية غير مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط اكار الماكونكي مع تلون الوسط باللون الأخضر المزرق بسبب إفرازها لصبغة *Pyocin* وأظهرت تحللا للدم على وسط اكار الدم نوع بيتا (15). و ظهرت عزلات جرثومة *Bacillus subtilis* بنسبة 6.2 % من عينات المسحات الفموية في الكلاب المصابة و أظهرت نموًا على وسط اكار الدم غير محللة للدم ولم تظهر نموا على وسط اكار الماكونكي، مستعمراتها دائرية ذات حافات مشرشرة ومعمّمة حبيبية لون سطحها كريم إلى بني موجبة لصبغة كرام، هوائية أو لا هوائية اختيارية تنتشر هذه الجرثومة في البيئة بشكل واسع و تسبب التلوث (16).

● تشخيص عينات الإدرار من الكلاب المريضة

أظهرت الدراسة إن أعلى نسبة عزل للجراثيم من الإدرار هي *E. coli* واتفقت مع (17) عند عزلها من إدرار بعض الحيوانات (18) ونسبة عزلها في هذه الدراسة هي 53.1 % من إدرار الكلاب المريضة قد يعود السبب إلى الانتشار الواسع لهذه الجرثومة في البيئة، وتطور مقاومتها بحدوث الطفرات الوراثية وانتقال البلازميدات، تعد من النيبتات الطبيعية الموجودة في أمعاء الحيوان ويسهل انتقالها إلى المجرى البولي خصوصاً عند حدوث ضعف في المقاومة المناعية و عزلت *P.aeruginosa* بنسبة 3.1 % أحدثت إصابات مهمة للجهاز البولي واتفق وجود هذه الجرثومة مع دراسة (19)، ووجدت *Staphylococcus aureus* نسبتها 28.1 % (17)، أظهرت تحللا من نوع بيتا على وسط اكار الدم وصفاتها مشابهة للجراثيم المعزولة من الإنسان إلا أن المستعمرات عديمة اللون تعتبر هذه السلالة من الأنواع الممرضة محللة للدم، لأنها تفرز إنزيم البيتا هيموليسين بكميات كبيرة، وعزلت *S.saprophyticus* بنسبة 7.8 % وجرثومة *S. epidermidis* بنسبة 6.25 % وقد يعود السبب في أمراضية هذه الجراثيم إلى وجود المحفظة في عزلات المكورات العنقودية التي تمنع الطهو البكتيري (Bacterial Opsonization) ومن ثم يوقف عملية البلعمة (phagocytosis) (20). كما بينت الدراسة عزل *P. mirabilis* بنسبة 23.4 % وجرثومة *P. vulgaris* نسبتها 7.8 %، توجد في المياه الآسنة والمواد المتفسخة تستوطن القناة الهضمية للكلاب، تسبب الإسهال كذلك التهاب الأذن، أنواع جراثيم المتقلبات المعزولة مثلت نسبة 31.2 % من إدرار الكلاب المصابة بالإضافة إلى *Klebsiella spp.* بنسبة 18.7 % حيث ذكر (18) إنها من الأجناس الشائعة التي تصيب المجرى البولي، وتزداد ضرورتها عند وجود إصابات جرثومية أخرى، وقد عزلت جرثومة *A. pyogens* بنسبة 3.1 % وقد يعود إلى اختلاط الكلب مع حيوانات الماشية في الحقل. وأخيرا أظهرت النتائج على وجود اختلافات غير معنوية بمستوى $P > 0.06$ بين مجاميع الذكور والإناث عند عزل الجراثيم الموجبة والسالبة لصبغة كرام.

حساسية العزلات الجرثومية المعزولة من الكلاب المصابة بالأمراض السرطانية حيال المضادات الحيوية

أظهر جنس *Pseudomonas aeruginosa* مقاومة للمضادات الحيوية الاميسيلين والاميكاسين والجنتاميسين والاموكسسلين و التتراسايكلين حيث أن البلازميدات تُشفر لانتاج إنزيم β -lactamases الموجودة في الخلية الجرثومية نفسها (22)، بينما أظهرت حساسية عالية للمضاد الحيوي Ciprafloxacin (وهو من مجموعة quinolones) وحساسة للمضاد الحيوي الكلوروفينكول. تستعمل مجموعة quinolones بصورة واسعة في معالجة الإصابات الجرثومية عند الكلاب (22) و يستخدم المضاد الحيوي Ciprafloxacin بحذر شديد، لأنه يسبب ضررا على نمو الغضاريف في الأجنة غير الناضجة لدى الحيوانات الحوامل، وآلية عمله في تثبيط تصنيع البروتين داخل الخلية الجرثومية وبالتالي يؤدي إلى قتلها. و أظهر المضاد الحيوي Cefotaxime فعالية عالية حيال العزلات الجرثومية من عينات الإدرار، وفعالية متوسطة للجراثيم المعزولة من المسحات الفموية و إن مقاومة الجراثيم لهذا المضاد قد تعود إلى إنزيمات البيتا لاكتاميز واسعة الطيف β - extended spectrum lactamases وبالمقابل فان حساسية الجراثيم لهذا المضاد قد يعود لكونه من الأجيال الجديدة لمجموعة السيفالوسبورينات والتي تستخدم حاليا بنجاح في معالجة مختلف الإصابات الجرثومية. بينت النتائج ان الجراثيم الموجبة لصبغة كرام المعزولة من المسحات الفموية قد أظهرت تحسناً

عاليا للمضاد الحيوي Clarithromycin وتحسنا اقل للجراثيم الموجبة لصبغة كرام المعزولة من عينات الادرار عدا جنس *Actinomyces pyogenes* هذا المضاد يؤثر على عملية تكوين بروتين الخلية الجرثومية (23) .
 وبينت الدراسة أن الجراثيم المعزولة من عينات الإدرار والمسحات الفموية حساسة للمضاد الحيوي (Trimethoprim + Sulfamethoxazol) عدا جراثيم المسبقيات β -H. S. group B و β -H. S. group G و *P.aerugenosa* و *P.mirabilis* .
 اظهر المضاد الحيوي Gentamycin فعالية عالية ضد *A. pyogenes* والعائلة المعوية وهذا قد يكون سببه آلية فعل الجنتاميسين الذي يعود لمجموعة Aminoglycosides إذ أن مركز التأثير Action site للجنتاميسين هو الريبوسومات (24). أظهرت الدراسة نتيجة مقارنة لما وجدته (25) من أن بعض عزلات المكورات السالبة لإنزيم Dihydrofolic acid reductase (DHF) الذي يحول dihydro folic acid إلى Tetrahydro (THF) لوحده يعمل على تثبيط إنزيم folic acid فيؤدي إلى تثبيط تخليق الأحماض النووية . و الترابيميثوبريم والسلفايد هما مثبطان لنمو البكتريا (Bacteriostatic)، أما المضاد الحيوي Sulfamethoxazol فإنه قاتل للخلية الجرثومية bacteriocidal ، ولذلك يعمل هذان المضادان الحيويان بطريقة التآزر synergism حيث تمتص السلفا من جدار الأمعاء بسرعة وتوزع في أنسجة الجسم و يكون تأثيره على الكلى والمجاري البولية بشكل أسرع من القناة التنفسية ويستخدم ترابيميثوبريم لوحده في حالات إصابات المجاري البولية غير المعقدة ولكن هذا الدواء يمتلك التأثيرات الجانبية من الحساسية والسمية في جسم المريض لا سيما عند مرضى السرطان (26).

المصادر

1. المقدادي ، كاظم (2003) . " رسالة العراق " منظمة الصحة العالمية آثار اليورانيوم المنضب : العدد 82 تشرين الأول / أكتوبر .
2. Rehana , V. and Samina , A . (1991) . Altered Lymphocyte Sub populations in Children Suffering from Recurrent Multiple Infections Journal of Islamic Academy of Sciences 4 : 1 45 - 49 .
3. AL - Sadi , H . I . ; AL - Darraji , A . K . Makkawi , T . A . and AL - Naimi , R . S . (1984) . A survey of animal neoplasms in Iraq . Iraq J Vet . Med 8 : 99 - 108 .
4. الشيلخي ، سعاد عبد الكريم ، (1988) . " دراسة عن الأورام التي تحدث طبيعيا في الأنواع المستأنسة من منطقة بغداد " . رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري - جامعة بغداد
5. التكريتي ، علوان . (1993) . " الجراثيم الممرضة ومداواة امراضيتها " الطبعة الأولى ، دار ابن النفيس ، سوريا . صفحة 281 - 421 .
6. Buxton , A. and Fraser . (1977). Animal Microbiology, Blackwell Scientific Publications . London , ed : 1 V : 1 , : 93 - 100 .
7. Jawetz .; Melnick .; Adelberg s .; Geo , F. B. ; Janet , S. B. And Stephen , A.M. (2001). Medical Microbiology. 22th ed . P 221 - 223.
8. Quinn , P. J. ; Carter , M. E. ; Markey , B. and Carter , G. R. (2004) . Clinical Veterinary Microbiology . ACIP catalogue record for this book is available from the British Library . Printed in Spain by Grafos . S.A. Arte Sobre Paper
9. Funke , G. and Bernard , K. A. (2003) . Coryneform gram - positive rod, In: Manual of Clinical Microbiology, 8th . ed . Murray , P. R. ASM press.
10. المالكي ، علي جواد جابر (2005) . " عزل وتشخيص بعض المسببات الجرثومية الهوائية للإصابات التنفسية في العجول الرضيعة " ، رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري - جامعة بغداد
11. Copper mann , S. M. (1982) . Cherchezle chien house hold pets as reservoirs of persistent or recurrent Streptococcal sore throats in children N. Y S. Med J 82 : 1685 - 1687 .
12. Le Minor, L. and Popoff , M. Y . (1987) . International Journal of systematic Bacteriology . 37 . 465 .
13. Faller , A. and Schleifer , K. H. (1981). Modified oxidase & benzidine test for separation of Staphylococci for Micrococci . Journal of Clinical Microbiology . 13 : 1031 - 1035 .
14. Abi - said , D . ; Chatzinikolaou , I . ; Bodey , G.P. ; et al . (2000) . Recent experience in *Pseudomonas aerugenosa* bacteria in Cancer patient. Retrospective analysis of 245 episodes. Arch Intern Med ; 160 :501-9
15. Pollack .M. (2000) . *Pseudomonase aeruginosa* , in mandell , Douglas and Bennetts principle and practice of infectious diseases 5th ed . Churchill Livingstone

16. Turnbull, P. C. B. and Kramer , J. H. (1991). Bacillus pp . 296 - 303 . In manual of Clinical Microbiology . 5th ed . Balows , A . (ed. In chief) . American Society for Microbiology. Washington D.C., USA.
17. اليساري ، عبد الكريم سلمان صكبان . (2005) . " التحري عن وجود جرثومة *Staphylococcus saprophyticus* في حالات إصابات الجهاز البولي في الإنسان وبعض الحيوانات " . رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري - جامعة بغداد
18. Guentzel , M . N . (1996) . Medical Microbiology . Sec . P. 26 .
19. الساعدي ، عماد محمد رشيد ، (1998) ، عزل وتنقية الكوليسين من الاشرشيا القولونية واستخدامه في الحيوانات المختبرية ، رسالة دكتوراه ، كلية الطب البيطري جامعة بغداد .
20. Petersson , Ph. K. ; Wilkinson , B. J. ; Kim , Y. ; Schmeling , D. and Quie , P. G. (1978) . Influence of in capsulation on Staphylococci absorption and phagocytes by human PMN leukocyte. Infect . immune . 19 ; 943 949 .
21. Chen , H. Y. (1995) . National Survey of Susceptibility to antimicrobial amongst Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* , J . Antimicrob . Chemother ., 35 , 521 - 34 .
22. Reilly , P. S. B. and Isaacs , J. P. (1983) . Adverse drug reaction of importance in Veterinary medicine . Veterinary Record. 112: 29 - 33.
23. Green wood , D . (1989) . Antimicrobial chemotherapy . Oxford University press Oxford
24. Moellering , R. C. (2000) . Anti - infective therapy . 5th ed . Churchill Livingstone .
25. القرشي ، جاسم حسين (2001) . " الدور المرضي للمكورات العنقودية السالبة لخميرة التجلط بعد العمليات الجراحية في الإنسان والحيوان .رسالة ماجستير - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد .
26. Uesugi, A. ; Oguri, T. and Igari , J. (1996).Antimicrobial Susceptibility of coagulase negative Staphylococci isolated from urine . Clinical laboratory , Juntendo University Hospital.
27. Snedecorand,Q.W.;Cochram,W.G.(1980).statistical method. Iowa s