المقاومة الحيوية والمحتوى البلازميدي في الأنماط المصلية لجراثيم السالمونيلا المعزولة من الحليب الخام

خلود خضير نزال
فرع الصحة العامة البيطرية
كلية الطب البيطري- جامعة بغداد

نجم هادي نجم
فرع الصحة العامة البيطرية
كلية الطب البيطري- جامعة بغداد

محمد عبد الاخوة حسن
فرع الأمراض– كلية الطب
جامعة بغداد

الخلاصة

استغرقت الدراسة ثمانية شهور لغرض الوقوف على مصادر تلوث الحليب الخام بجراثيم السالمونيلا وتحديد أنماطها المصلية فضلاً عن معرفة أسباب مقاومتها للمضادات الحيوية ودراسة المحتوى البلازميدي لتلك الأنماط. اشتملت الدراسة على جمع 600 عينة من الحليب الخام تضمنت 300 عينة من الحاويات المعدنية (سعة 50 كغم) لمربي الحيوانات في قرية الذهب الأبيض و300 عينة أخرى من حوض الميزان (سعة 2 طن) من مركز جمع الحليب لنفس القرية فضلاً عن ذلك فقد أخذت 200 مسحه قطنية لاربعة أماكن (50 مسحه لكل موضع) وكانت تشمل حلم الضرع وأيادي الحلابين والسطوح الداخلية للحاويات المعدنية والفضلات المترسبة في قعر حوض الميزان.

تشير النتائج إلى ان النسبة المئوية لتلوث الحليب الخام بجراثيم السالمونيلا في حليب الحاويات المعدنية كانت 5% بينما كانت 7% في عينات حليب حوض الميزان وكانت النسبة المئوية لعزل السالمونيلا من المسحات القطنية هي 25% موزعة بين حلمات الضرع والحاويات المعدنية وأيادي الحلابين فضلاً عن الفضلات المترسبة في قعر حوض الميزان وبنسب 10% و 30% و 8% و 52% على التوالي.وشخصت سبعة انماط مصلية من مجموع 30 عزلة من عزلات السالمونيلا وكان اكثرها تكراراً *S. typhimurium* ويليه *S. anatum* حيث شكلت كل منها نسبة 40% و26.67% على التوالي. وكانت الانماط المصلية المعزولة الاخرى هي كل من *S . kottbus* بنسبة 13.33% وكل من *S. dublin* و *S. infantis* بنسبة 6.67% واما كلاً من *S. java* و *S. typhi* فقد شخصت عزلة واحدة لكل نمط مصلي أي بنسبة 3.33% لكل منهما.

كانت الغالبية العظمى لعزلات السالمونيلا مقاومة لاثنين من المضادات الحيوية حيث كانت النسبة المئوية لعزلات السالمونيلا التي قاومت Sulphamethazol هي 36.66% وجاء المضاد الحيوي Tetracyclineبالدرجة الثانية حيث كانت نسبة المقاومة له هي 16.66% يليه المضاد

الحيوي Streptomycin حيث كانت نسبة المقاومة له (10%) بينما كانت النسبة المئوية لمقاومة كل من Chloramphenicol و Kanamycin و Ampicillin هي 3.33%.وبعد إجراء استخلاص الدنا البلازميدي لـ 10 عزلات والتي اشتملت على الأنماط المصلية السبعة وجد ان سبعة عزلات منها تحتوي على بلازميد منفرد كبير قدر حجمه 50–70 كيلو قاعدة وخلت ثلاث عزلات من احتوائها على الدنا البلازميدي.

Antibiotic Resistance And Plasmid Contents Of Salmonella Serotypes Isolated From Raw Milk

Khilud K.Nazal, Najim H.Najim
Dept. of veterinary Public Health
College of Vet.Med.– Baghdad University

Mohammed A. Hassem
Dept.of pathology – college of medicine - Baghdad University

SUMMARY

This study lasted for eight months .The main objectives of the study were to identify the main sources of raw milk pollution with Salmonella with a special emphasis on determination of their serotypes. The relationship between their resistance to antibiotics and their plasmide contents were also studied.

Six hundred raw milk samples collected randomly at weekly intervals where the first (300) samples were from the individual milk cans (50 Kg each) at the producers homes in Abu-Ghraib village while the second (300) samples were collected from the scale bulk tanks (2 tons) inside the milk reception and collection center at the same village.

In addition to that (200) swabs were taken from four different location (50 swabs for each) namely: the teats, milkers hands, the inner surface of the milk cans and the sedimemts that were precipitated at the bottom of the scale bulk tank.Data revealed that 5% of the milk cans and 7% of the scale bulk tank were contaminated with Salmonella besides the percentage of the Salmonella isolates from different swabs location were as 10% , 30% , 8% and 52% out of the teats, inner surface of milk cans, milker's hands and sediments of the bulk tanks respectively .

Seven serotypes of Salmonella were identified from both milk samples and swabs including *S. typhimurium* 40 %, *S. anatum* 26.67%, *S. Kottbus* 13.33 %, *S. infantis* 6.67%, *S. dublin*6.67%, *S. java* 3.33% and *S. typhi* 3.33%.

Antibiotic sensitivity test for different antibiotics revealed that most Salmonella isolates were resistant to two antibiotics where (36.66%)of the

isolates were resistant to Sulphamethazol, (16.66%)were resistant to tetracycline , (10%) were resistant to Streptomycin and (3.33%) were resistant to each of Chloramphenicol , Kanamycin and Ampicillin.

The extraction of the DNA-plsmide revealed that seven out of ten isolates contained large, individual plasmids size of (50-70) Killo Base (KB) while the others three isolate were free from such plamid.

المقدمة

يعد الحليب الخام ومشتقاته من الأغذية المسببة للثورات المرضية بداء السالمونيلا والذي يعتبر من اخطر الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان وتلعب جراثيم السالمونيلا دوراً هاماً في أحداث حالات التسمم الغذائي في أنحاء مختلفة من العالم والذي يعكس الصورة الصحية الرديئة أثناء الإنتاج والتداول (1).ازدادت في السنين الأخيرة مقاومة أنماط جراثيم السالمونيلا للكثير من المضادات الحيوية الأساسية المستخدمة في العلاج ولا سيما الأنماط المعزولة من الحيوانات الأليفة وفي مناطق مختلفة من العالم حيث يمكن لتلك المقاومة ان تنتقل إلى الإنسان مع تناول الحليب وأدت صفة المقاومة إلى زيادة ضراوة السالمونيلا والعدوى (2 ،3 ،4).

وقد أظهرت العديد من الدراسات ان للبلازميدات دوراً كبيراً في مقاومة السالمونيلا للمضادات الحيوية (5 ،6). ووجد أن للبلازميدات القدرة على التضاعف الذاتي ويتم توارثها بثبات عادة من جيل لآخر وتكون بأشكال وأحجام متباينة (7). كما إنها تحمل جينات تشفير إلى فعاليات خلوية مختلفة تسهم في زيادة ضراوة البكتريا الحاملة لها مع زيادة كفاءة البكتريا المرضية (8 ،9). ويمكن للبلازميد أن يحمل جينات مسؤولة عن المقاومة لواحد او اكثر من المضادات الحيوية المختلفة ، وتصنف مثل هذه البلازميدات على أنها بلازميدات المقاومة (9).أن مقاومة البكتريا الامعائية السالبة لصبغة كرام للمضادات الحيوية تكون بسبب (R-Factor plasmid) الذي يكون شائع في هذه البكتريا والذي يحمل جينات تشفير المقاومة المتعددة للمضادات الحيوية (10). انصبت أهداف هذه الدراسة إلي معرفة مدى انتشار ووجود الأنماط المختلفة من السالمونيلا في الحليب الخام ومصادر تلوثه بالإضافة إلى دراسة المحتوى البلازميدي لعزلات الأنماط المصلية التي أبدت مقاومة لبعض المضادات الحيوية.

المواد وطرائق العمل

على مدى ثمانية اشهر تم خلالها جمع وفحص 600 عينة من الحليب الخام كان منها 300 عينة من الحاويات المعدنية لمربي الحيوانات في قرية الذهب الابيض بينما كانت 300 عينة اخرى من

حوض الميزان (سعة 2 طن) لمركز جمع الحليب لنفس القرية في ابي غريب فضلاً عن ذلك فقد اخذت 200 مسحة قطنية وبمعدل 50 مسحة لكل من حلم الضرع والحاويات المعدنية وايادي الحلابين والفضلات المترسبة على قعر حوض الميزان، ثم غمرت هذه المسحات في أنابيب اختبار حاوية على 5 مل من ماء الببتون ثم نقلت كافة العينات مبردة إلى المختبر. سحب 1مل من كل عينة حليب ونقل إلى قناني تحتوي على 10 مل من الببتون المعقم وحضنت كل من عينات الحليب والمسحات بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة وبعد انتهاء مدة الحضن نقل 1 مل من دارئ ماء الببتون المزروع إلى قنينة أخرى حاوية على 10مل من مرق السلينيت وحضنت بدرجة 43°م ولمدة 48 ساعة وأخذت بعدها مسحة بواسطة انشوطة معدنية على طبق بتري يحتوي على وسط الأخضر اللماع (Brilliant Green Agar) وأخرى على وسط (Bismuth Sulfite Agar) ، ثم اختيرت المستعمرات النموذجية التي نمت على كلا الوسطين واستنبتت على وسط الماكونكي الصلب وحضنت بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة والتقطت المستعمرات غير المخمرة للاكتوز وخضعت للاختبارات الكيموحيوية ثم أرسلت العزلات النموذجية للسالمونيلا إلى المركز الوطني للسالمونيلا على وسط السكر الثلاثي والحديد (TSI) لغرض تعيين النمط المصلي النهائي للعزلات.

اجري اختبار مقاومة جرثومة السالمونيلا للمضادات الحيوية بطريقة التخفيف (Agar dilution method) حيث حضر وسط مولر هنتن في دوارق وبرد بعد تعقيمه لدرجة 50°م ثم أضيفت إليه محاليل المضادات الحيوية والتي حضرت كما هو مذكور من قبل (11) وذلك بإذابة وزن معين من كل مضاد حيوي في 100 مل من الماء المقطر ثم تعقيم المحلول باستخدام مرشحات دقيقة (Millipore flitters) ثم أضيفت لكل دورق أحد المضادات الحيوية وبتركيز معين ونشرت في اطباق معقمة وتركت لتتصلب ثم حضنت بدرجة حرارة 37 °م لمدة 24 ساعة للتأكد من عدم تلوثها ثم زرعت بالعزلات البكتيرية المراد اختبار مقاومتها للمضادات الحيوية على هذه الأوساط بطريقة (Patching and Picking) مع وجود سيطرة موجبة وسالبة على كل طبق حيث استخدمت السلالات المختبرية المقاومة للمضادات الحيوية المختلفة كنموذج سيطرة وحضنت الأطباق بدرجة حرارة 37°م ولمدة 24 ساعة (12).

عملية استخلاص الدنا اللاكروموسومي من جراثيم السالمونيلا:-

بعد إجراء اختبار مقاومة جرثومة السالمونيلا لبعض المضادات الحيوية أعيد زرعها على مولر هنتن بعد إضافة المضاد الحيوي الذي أبدت مقاومتها له وذلك لغرض الاحتفاظ بالبلازميد المسؤول عن تلك المقاومة وبعد انتهاء مدة الحضن 24 ساعة عند درجة حرارة 37°م.

أجريت الخطوات التالية حسب (12) :

1. جمعت المستعمرات النامية للسالمونيلا على نصف طبق زرعي ونقلت إلى أنبوب ابندورف الحاوي على 0.4مل من دارئ TES :(Tris-HCl-EDTA, Sodium chloride)
(50ملي مولار Tris-HCl + 5 ملي مولار Na_2 EDTA + 50ملي مولار NaCl).
2. نبذ العالق الزرعي بسرعة (10.000) دورة/دقيقة ولمدة 5 دقائق ثم تم التخلص من الطبقة الرائقة.
3. أضيفت (100) مايكرولتر من محلول A (Solution I) المبرد بواسطة الثلج المجروش ورج أنبوب ابندورف بقوة .
(يتكون محلول A من 50 ملي مولار Glucose + 50 ملي مولار EDTA (pH 8) +
25 ملي مولار Tris-Cl في 100 ماء مقطر).
4. أضيف بعد ذلك 200 مايكرولتر من محلول B (Solution II) والمحضر حديثاً ثم اغلق أنبوب ابندورف ورج جيداً.
(يتكون محلول B من NaOH (No.2) + Sodium dedocyle sulfate (1%))
5. أضيف 150 مايكروليتر من محلول C (Solution III) المبرد بواسطة الثلج المجروش ثم اغلق الأنبوب جيداً ثم خلطت محتوياته بواسطة الخلاط المنضدي .
يتكون محلول C من 60 مل من Potassium acetate (5M) + 11.5 مل من
Glacial acetic acid + 28.5 مل من H_2O
6. نبذ العالق الزرعي بسرعة 12.000 دورة/دقيقة ولمدة 5 دقائق ثم نقلت الطبقة العليا الرائقة إلى أنبوب ابندورف جديد.
7. أضيف حجم مساوي من محلول فينول :كلوروفورم إلى الرائق السابق ونبذ العالق بسرعة 12.000 دورة/دقيقة ولمدة دقيقتان ونقلت الطبقة العليا إلى أنبوب ابندورف جديد.
8. أضيف ضعف الحجم من الكحول الاثيلي بدرجة حرارة الغرفة وخلط المحتوى جيداً.
9. نبذ العالق الزرعي بسرعة 12.000 دورة/دقيقة ولمدة 5 دقائق.
10. تم التخلص من الطبقة الرائقة بواسطة السحب بدقة بالماصة الدقيقة حيث تم إمالة الأنبوب لحين التخلص من آخر قطرة من الرائق.
11. أضيف 50 مايكروليتر من محلول TE إلى الراسب وحفظ بدرجة حرارة 20 ºم.
(حضر محلول TE بمزج 50 ملي مولار منTris-HCl +20 ملي مولار من Na_2 EDTA)

الترحيل الكهربائي للدنا البلازميدي في هلام الاكاروز:-

1. أذيب 0.7 غرام من الاكاروز في 100 مليلتر من دارئ TBE (ris-Borate EDTA buffer) بالحضن في حمام مائي بدرجة 100°م وبرد بعد ذلك إلى درجة حرارة 50°م. حضر الدارئ حسب (12).
2. أضيف 10 مايكرولتر من محلول 50 ملغم/مليلتر من صبغة بروميد الاثيديوم ومزج جيداً.
3. حضرت صفيحة إسناد الاكاروز وأحيطت حافاتها بشريط لاصق لمنع تسرب الهلام الذائب بعد صبه فيها. ثم غمس مشط تكوين الحفر قرب إحدى نهايتي الصفيحة وترك لمدة 30 دقيقة ليتصلب بوضع أفقي .
4. رفع مشط تكوين الحفر من الاكاروز المتصلب ورفع الشريط اللاصق ثم ثبتت الصفيحة على مساندها في وحدة الترحيل الأفقية ثم غطي هلام الاكاروز بارتفاع 1 مليلتر بالدارئ TBE .
5. أضيف أنموذج الدنا في حفر الهلام بحجم 25 مايكرولتر بعد مزجه مع 10 مايكرولتر من صبغة البروموفينول الأزرق.
6. ضبط جهاز الترحيل الكهربائي على فرق جهد 100 فولت ولمدة 2-3 ساعة.
7. فحص الهلام كل 30 دقيقة تحت الأشعة فوق البنفسجية لملاحظة حركة الدنا المستخلص (13).

النتائج

أثبتت النتائج المدونة في جدول 1 ان عدد العينات التي عزلت منها جراثيم السالمونيلا كان 86 عينة من اصل 800 عينة وبنسبة 10.75% حيث اشتملت على 36 عينة من اصل 600 عينة من الحليب الخام أي كانت النسبة المئوية لتلوث الحليب الخام هي 6% كان 7% منها من حليب حوض الميزان و 5% منها من حليب الحاويات المعدنية في حين أظهرت 50 مسحة قطنية إيجابيتها لعزل جراثيم السالمونيلا من اصل 200 مسحة أي كانت النسبة المئوية لتلوثها هي 25% والتي اشتملت على 10% من حلمات الضرع و 30% من الحاويات المعدنية و 8% من أيادي الحلابين و 52% من الفضلات المترسبة على قعر حوض الميزان.

جدول(1): أعداد العينات الملوثة بالسالمونيلا ونسبها المئوية في كل من الحليب الخام والمسحات القطنية

مصادر العينات	الحليب الخام		المسحات القطنية				المجموع
	حوض الميزان	الحاويات المعدنية	ايادي الحلابين	حلمات الضرع	البراز المترسب على المشبك	الحاويات المعدنية	
عدد العينات المفحوصة	300	300	50	50	50	50	800
عدد العينات الملوثة	21	15	4	5	26	15	86
النسبة المئوية	%7	%5	%8	%10	%52	%30	%10.75
النسبة المئوية	%6		%25				

اختيرت 30 عزلة من عزلات السالمونيلا من اصل 86 عزلة واجري التشخيص النهائي لها في المعهد الوطني للسالمونيلا في مدينة بغداد وعزلت سبعة أنماط مصلية مختلفة كما هو مبين في جدول 2 حيث كان أكثرها تكراراً هو *S. typhimurium* ويليه *S. anatum* حيث شكلت كل منها نسبة 40% و 26.67% على التوالي وكانت الانماط المصلية المعزولة الاخرى هي كل من *S. kottbus* بنسبة 13.33% وكل من *S. dublin* و *S. infantis* بنسبة 6.67% وكل من *S.typhi* و *S. java* بنسبة 3.33% وقد أظهرت كل من عينات الحليب الخام والمسحات القطنية تفاوتاً في نسب التلوث وعدد الأنماط المصلية المعزولة وأنواعها كما هو مبين في جدول 2.

حيث اجري التنميط المصلي لـ7عزلات من حليب حوض الميزان و عزلت 6 أنماط مصلية مختلفة بينما اجري التنميط المصلي لـ6 عزلات من حليب الحاويات المعدنية و شخصت 3 أنماط مصلية مختلفة و كذلك الحال بالنسبة للمسحات القطنية حيث شخصت 3 أنماط

مصلية من أيادي الحلابين و نمطين مصلية من حلمات الضرع و ثلاثة أنماط مصلية لكل من الحاويات المعدنية و الفضلات المترسبة على قعر الحوض .

جدول (2): أعداد و أنواع الأنماط المصلية المعزولة و نسبها المئوية لجرثومة السالمونيلا من عينات الحليب الخام و المسحات القطنية.

نـوع النمط المصلي	الحليب الخـام		المسحات القطنية				مجموع تكرار العزل	النسبة المئوية
	حوض الميزان	الحاويات المعدنية	أيادي الحلابين	حلمات الضرع	البراز المترسب على المشبك	الحاويات المعدنية		
S.typhimurium	2	4	1	1	3	1	12	40
S.anatum	1	1	2	1	2	1	8	26.67
S.kottbus	1	1	–	–	–	2	4	13.33
S.dublin	–	–	–	–	2	–	2	6.67
S.infantis	1	–	1	–	–	–	2	6.67
S.typhi	1	–	–	–	–	–	1	3.33
S.java	1	–	–	–	–	–	1	3.33
عدد العزلات التي خضعت للتنميط	7	6	4	2	7	4	30	
عدد الأنماط المصلية المعزولة	6	3	3	2	3	3	7	

تشير النتائج الموضحة في الجدول (3) إلى نتائج اختبار حساسية و مقاومة عزلات السالمونيلا للمضادات الحيوية حيث اعتبر نمو البكتريا دليلاً على مقاومتها للمضاد الحيوي المضاف للوسط الزرعي بينما عدم نموها دليلاً على حساسيتها للمضاد الحيوي المضاف للوسط الزرعي . يتضح من الجدول نفسه ان النسبة المئوية لعزلات السالمونيلا التي قاومت Sulphamethazol كانت 36.66% و جاء المضاد الحيوي Tetracycline بالدرجة الثانية حيث كانت نسبة المقاومة له هي 16.66% يليه المضاد الحيوي Sterptomycine حيث كانت نسبة المقاومة له هي 10%.

بينما كانت النسبة المئوية لمقاومة كل من Ampicilline , Kanamycine , Chloramphenicol هي 3.33% وأبدت جميع عزلات السالمونيلا حساسيتها 100% لكل من Carbencilline و Colistine.

جدول(3): النسبة المئوية لحساسية و مقاومة عزلات السالمونيلا للمضادات الحيوية بطريقة التخفيف

المضاد الحيوي	رمزه	عدد العتر المفحوصة	عدد العتر الحساسة	النسبة المئوية %	عدد العتر المقاومة	النسبة المئوية %
Chloramphenicol	C	30	29	96.67	1	3.33
Carbencillin	PY	30	30	100	0	0
Streptomycin	S	30	27	90	3	10
Kanamycin	K	30	29	96.67	1	3.33
Ampicillin	AP	30	29	96.67	1	3.33
Tetracycline	T	30	25	83.34	5	16.66
Colistin	CL	30	30	100	0	0
Sulphamethazol	SM	30	19	63.34	11	36.66

استخلاص الدنا البلازميدي (DNA-Plasmide) من الانماط المصلية للسالمونيلا و المقاومة للمضادات الحيوية:-

أجريت طريقة التحليل القاعدي (Alkalin analysis) لتحليل بكتريا السالمونيلا و الموصوفة بأنها الطريقة المثلى لعزل الدنا البلازميدي لسلالات السالمونيلا ذي الأوزان الجزيئية الصغيرة و الكبيرة في آن واحد (14) و التي أجريت لعشرة عزلات شملت الأنماط المصلية السبعة التي عزلت من الحليب الخام و قد اخذ بنظر الاعتبار العزلات الأكثر مقاومة للمضادات الحيوية و الموضحة نتائجه في الجدول 4.

وعند التحري عن المحتوى البلازميدي في هذه العزلات أظهرت احتواء سبعة عزلات على بلازميد منفرد كبير قدر حجمه الجزيئي 50-70كيلو قاعدة K.Bباستخدام البلازميدات المستخلصة من سلالة ايشريشيا القولون (B_{41}) كدليل للمقارنة . وقد خلت ثلاث عزلات من هذه العزلات و هي الأكثر حساسية للمضادات الحيوية (عزلة رقم 7و 8 و 10) .

جدول (4): الانماط المصلية المقاومة للمضادات الحيوية للعزلات التي اجري لها استخلاص الدنا البلازميدي

نوع النمط المصلي	عدد العزلات	رقم العزلة	نوع المضاد الحيوي الذي أبدت له المقاومة
S.typhimurium	3	1 2 3	Ampicillin , Chloramphenicol Streptomycine Sulphamethazol , Tetracycline, Streptomycin
S.anatum	2	4 5	Streptomycin , Sulphamethazol Tetracycline , Sulphamethazol
S.Kottbus	1	6	Tetracycline , Kanamycin
S.dublin	1	7	Tetracycline
S.infantis	1	8	--
S.typhi	1	9	Sulphamethazol
S.java	1	10	Tetracycline

المناقشة

أظهرت النتائج المدونة في الجدول (1) أن النسبة المئوية لعزل السالمونيلا من الحليب الخام لحوض الميزان كانت 7% بينما كانت من حليب الحاويات المعدنية هي 5% وقد يعود تفسير ذلك إلى سعة حوض الميزان (2 طن) و كذلك تعرضه للذباب كونه مكشوفاً للهواء (16). كذلك نلاحظ أن النسبة المئوية لعزل السالمونيلا من مسحات الفضلات المترسبة في قعر حوض الميزان كانت 52% و التي تعزز الاستنتاج بان فضلات الحيوانات هي المصدر الأول لتلوث الحليب الخام بالسالمونيلا من خلال تلوث السطح الخارجي للضرع و الحلمات وفتحاتها (17) وهذا بدوره يعطي تبريراً لكون النسبة المئوية لعزل السالمونيلا من فتحات الحلمات هي 10% كما أن عزل *S.typhi* من الحليب الخام يعطي مؤشراً على الصحة العامة و يشير إلى التلوث العرضي للحليب الخام من أيادي الحلابين الحاملين للجرثومة

لكونها نمطاً مصلياً خاصة بالإنسان (17) حيث عزلت السالمونيلا من مسحات أيادي الحلابين بنسبة 4% كما في الجدول (1).

يبين جدول رقم 2 بان هناك تبايناً في أنواع الأنماط المصلية المعزولة من الحليب الخام والمسحات القطنية التي جمعت حيث عزلت سبعة أنماط مصلية كان أكثرها تكراراً كل من *S.typhimurium* , *S.anatum* حيث شكلت كل منهما نسبة 40% و 26.67% من مجموع العزلات على التوالي و هذا يتفق مع نتائج (18و19).

أن *S.typhimurium* هي اكثر الأنماط شيوعاً في معظم بلدان العالم و هي من أهم مسببات التسمم الغذائي السالمونيلي عن طريق تلوث الحليب (20). وقد سبق وان عزلت معظم الأنماط المصلية الأخرى التي عزلت في هذه الدراسة من الحليب الخام من قبل باحثين آخرين (20و21و22) .يتضح من الجدول (3 و 4) إلى ازدياد المقاومة للمضادات الحيوية في جراثيم السالمونيلا المعزولة من الحليب الخام ومصادر تلوثه و هذا يتفق مع نتائج كل من (22و23) و الذي قد يكون نتيجة الاستخدام المفرط لهذه المضادات في الأعلاف لأغراض التسمين و الوقاية أو العلاج أو نتيجة انتقال عامل المقاومة من العتر المقاومة إلى العتر الحساسة كما أشار إلى ذلك العديد من الباحثين (24و25) . يمكن للبلازميد أن يحمل جينات تشفر المقاومة لواحد أو اكثر من المضادات الحيوية المختلفة و يصنف على انه بلازميد المقاومة الذي يكون شائعاً في البكتريا الامعائية السالبة لصبغة كرام (9و10) . وقد ازداد الاهتمام العالمي في السنوات الأخيرة بجراثيم السالمونيلا ذات المنشأ الحيواني لكون هذه الجراثيم تحمل بلازميدات المقاومة للمضادات الحيوية و كونها المسؤولة عن كثير من الثورات المرضية في الإنسان نتيجة تناول أغذية ذات المنشأ الحيواني كالحليب و مشتقاته و اللحوم (26).

المصادر

1. Watson, W.A.(1975). Salmonellosis and meat hygine-red meat Vet. Rec. 96:374.
2. Anderson, W.H; Wilson, C.R.And Remero (1979). "Relative productivity of five selective plating agars for the recovery of Salmonella from selected food types". J.Ass-offic. Annual Chain. 62:320-326.
3. Murray, C.J; Reteliff, R.M.Cameron, P.A. And Dixon, S.F. (1986). Drug resistance and anti-microbial agent aus.Vet. J. 63(9).286.
4. Centers for Disease Control and Prevention (1999). "Salmonellaosis" Illinois Morbid Mortal Weekly Rep.12:40.

5. Timoney, F.John (1978). The epidemiology and genetics of antibiotic resistance of Salmonella typhimurium isolated from diseased animals in New York J- infection disease. 137(1):67.
6. Blackburn, B.O.; Schater, L.K. and Swanson, M.R.(1984). Antibiotic resistance of members of the genus Salmonella isolated from chickens, turkeys, cattle and swine in USA dairy Oct.1981 through Sept.1982 Am. J. Vet. Res. 42:1945.
7. Sommers, D. and Sherratt,J. (1986). "Methods in enzymology Ed. M. P. deutscher, 182:317-328.
8. الزعاك: علي عبد الرحمن (1994). البايولوجي الجزيئي لضراوة البكتريا . وزارة التعليم العالي– جامعة بغداد– كلية العلوم.
9. Willetts, N. (1985). "Plasmids" Pp.16-19. In Scaife,J.; Leach, D. and Galizzi, A. (Eds.). "Genetics of bacteria" academic press, London.
10. Quiun, P. J.; Garter, M. E.; Markey, B. and Garter, G.R. (1998). "Salmonella" Clinical Veterinary Microbiology". 226-234.
11. Al-Zaag, A. (1987). "Cloning and molecular characterization of b-glucosidase of Citrobacter ferundii" Ph.D. Thesis University of Queens Land.
12. Maniatis, T. (1989). "Molecular cloning, Manual cold spring, harbor laboratory" Cold spring harbor. New York.
13. Sambrook, J. ; Fritsch, E.F. and Maniatis, T. (1989). "Molecular cloning: a laboratory Manual" Cold-spring Harbor Laboratory, Cold spring Harbor, New York.
14. Aznar, R. ; Amaro, C. and Alcaido, E. (1988). "Characterization of r-plasmids in environmental isolates of Salmonella: Host Rang and Stability" Current Microbial. 17:173-177.
15. Bertin, A. (1985). "F41 antigen as a virulence Factor in infant mouse of E.coli diarrhoea" journal of general Microb. 131:3037-3045.
16. Robertson, J.S. (1982). Bacterial food poisoning association of meat inspectors national seminar Birmingham University 4th –6th September 1981.
17. Deanna, A.G. (1999). "Salmonella cereal scare" information resource center. [February 26.12:32].
18. Al-Rajab, W.J.; Al-Dabbagh, W, Y. and S.M., Alahaw (1986). Occurrence of Salmonella in Iraqi milk products. J. Food. Prot. 49(4): 282-284.
19. الجبان: هديه خليل خضر (1988) تلوث منتجات الألبان المصنعة محلياً ببعض أنواع البكتريا المعوية المفرزة للسموم – رسالة ماجستير– علوم – أحياء مجهريه / جامعة الموصل.

20. Barrell, R. A.E. (1982). Isolation of Salmonella from human, food and environmental sources in the Manchester area: 1976-1980 J. Hyg. Camb. 88:403.
21. Watson, W. A. (1981). The Salmonella problem with particular reference to meat hygiene. Roy. Sec- Hlth. J. 101:163.
22. الخزعلي: هيفاء حسين علي (1990). أنماط السالمونيلا المعزولة من الحليب ومشتقاته وحساسيتها للمضادات الحياتية – رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري / جامعة الموصل.
23. علي: جليل حسين (1986). تلوث لحوم الأبقار المنتجة في مجزرة الدورة بجراثيم السالمونيلا وتأثيرها على الصحة العامة . رسالة ماجستير– الطب البيطري / جامعة بغداد.
24. Ikeda, Jack, S.; Dwight, C. Hirsh; Speneers, Jang; Evnst, L. Biberstier (1986). Characteristic of Salmonella isolation from animals at a veterinary medical tenching hospital Am.J.Vet.Res. 47(2): 232.
25. Hadad, J.J. and Jemel, A. (1990). Anti-microbial resistance among Salmonella from animals, Vet. Med. - J. Giza. 38(1):35-43.
26. Benenson, A.S. (1990). Salmonellosis control of communicable disease in man (15 thed) (Pp.381-385) Washington, D.C.: American Public Health Association.