

רבדים של חיידקים פתוגניים במערכות צינור ברפתות חלב בישראל וחשיבותם כגורמי תחלואה בפרות ואנשים

נחום שפיגל ויובל גוטליב

ביה"ס לרפואה וטרינרית, פקולטה לחקלאות, אוניברסיטה העברית

מזג האוויר החם השורר באזורנו ברוב חודשי השנה גורם לעקת חום כבדה ברפתות החלב בישראל. במטרה למזער את הנוקים הנגרמים כתוצאה מעקת החום פותחו במשך השנים מערכות צינור מסוגים שונים אשר כולן מבוססות על העיקרון של הרטבת הפרה באמצעות מתזי מים שונים ואידוי המים ע"י תנועת אוויר חזקה על גוף הפרה באמצעות מאווררים. מערכות אלה מורכבות ברוב רפתות החלב בארץ בחצר ההמתנה ולאורך האבוסים ומפעלות במשך רוב חודשי השנה. בעבודות רבות שנעשו בארץ ובעולם הוכח שמערכות הצינור מקטינות את השפעתה השלילית של עקת החום על תנובת החלב ופוריות הפרה. עם זאת ניתן היה להתרשם שהשימוש הרב באמצעי צינור אלה הביא לעליה במצבי תחלואה שונים שחלקם אף לא היו קיימים לפני כן, מצבי תחלואה כגון דלקת עור כיבית ודרמטופילוזיס. במספר מחקרים נמצא שמערכות מים ומרכיביהן השונים כגון מתזים במקלחות ביתיות עשויות להוות תשתית מצוינת להתהוות של מרבצי חיידקים במבנים הידועים כביופילמים (biofilms). מרבצים אלה התגלו כעשירים בחיידקים ממינים רבים כולל חיידקים פתוגניים העשויים לסכן את בריאות האדם והפרות הנחשפות למתזי המים. מטרת המחקר היתה לבדוק לראשונה את המצאות מרבצי חיידקים במערכות צינור של רפתות חלב ולאפיין את חברת החיידקים במרבצים אלה.

במסגרת עבודת המחקר נדגמו 40 מתזים ממערכות צינור בשמונה רפתות חלב ברחבי הארץ. בחינה ראשונית בשיטות מיקרוסקופיות ותרביות הדגימה המצאות מרבצים עשירים של חיידקים חיים במתזים. במהלך המחקר פותחה שיטה להסרת מרבצי החיידקים מתוך המתזים ללא זיהום חיצוני ולהפקת הדנ"א המיקרוביאלי. תוצרי PCR של הגן 16S rRNA V1-V3 מכל דגימה של המתזים רוצפו בשיטה של ריצוף עמוק (Roche 454) וחברת החיידקים במרבצים תוארה ונחקרה בשיטות מטאגנומיות וסטטיסטיות. לאחר ניקוי ובקרת איכות של הרצפים נשארו 113,493 רצפים מתאימים לאנאליזה מטאגנומית אשר הניבו עושר מיקרוביאלי של 9,374 יחידות טקסונומיות תפעוליות (OTUs). ממוצע של 465 ± 268 OTUs לדוגמא ממתז. בדגימות המתזים נמצאו חיידקים מ-26 מערכות שונות אך 76% מהרצפים שויכו לשלש מערכות בלבד; פרוטאובקטריה, אקטינובקטריה ופירמיקוטיס. בסה"כ העושר המיקרוביאלי הזה משתייך ל-26 מערכות שונות המשתייכות ל-49 מחלקות ו-731 סוגים שונים של חיידקים. מספר סוגים של חיידקים כגון מיקובקטריום, קורינובקטריום וקלוסטרודיום נמצאו בכל הדוגמאות מכל הרפתות (חיידקי הליבה), עם זאת חברת החיידקים במתזים התאפיינה בעושר ומיגוון שהיה אופייני לרפת אך שונה במובהק בין רפתות שונות. בניתוח פילוגנטי של הרצפים לא נמצאה קרבה לפתוגניים קורינובקטריום פסאודוטיוברקולוזיס, מיקובקטריום פאראטיוברקולוזיס או דרמטופילוס קונגולנסיס המחוללים את המחלות דלקת עור כיבית, בת שחפת ודרמטופילוזיס, בהתאמה. לפיכך על פי תוצאות מחקר זה לא ניתן לאשש את ההשערה שמרבצי חיידקים במערכות צינור רפתות עשויים להיות מאגרים ומקור להדבקה בחיידקים אלה. ברם, בניתוח הפילוגנטי של הרצפים השייכים לסוג מיקובקטריום התגלה שרוב המתזים מהווים מקור אפשרי למינים הידועים כגורמי תחלואה באדם.

לסיכום, עבודה חלוצית זו הדגימה לראשונה את המצאותם של מרבצי חיידקים במערכות צינור ברפתות חלב בישראל. מרבצים אלה כוללים מיני חיידקים העלולים לגרום לתחלואה באדם ובפרות. כמו כן, מרבצים אלה עלולים להוות תשתית למרבצי חיידקים פתוגניים במידה ולא תשמר האיכות המיקרוביאלית של המים המזינים את מערכות הצינור ברפתות.

Possible association of biofilms in the cooling systems of dairy herds with animal and human diseases

Nahum Y. Shpigel & Yuval Gottlieb

The Koret School of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Hebrew University of Jerusalem

Worldwide dairy farms are located in humid and hot climate and cows suffer from heat stress negatively affecting feed intake, milk yield, reproduction and welfare. In high humidity areas like Israel, cooling systems are based on repeated soak wetting of the animal hair coat followed by forced ventilation to evaporate and extract heat from the body surface. Most commonly in Israel, automated systems of low pressure sprinklers and fans are fitted in the holding area of the milking parlor and in the feeding areas. Although the economic and welfare benefit of dairy cooling systems are well documented, these systems might also be a source of potential herd health problems. Water systems and showerheads are known to support the development of microbial biofilms which can be a source infection by pathogenic microorganisms. The aims of this study were to investigate the presence of microbial biofilms in dairy cooling systems, to analyze the population of these biofilms using culture-independent, metagenomic techniques with special focus on specific pathogens such as *Dermatophilus congolensis* and *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Biofilm samples were collected in 8 dairy farms from 40 sprinkler fitted in the holding area of the milking parlor. The microbial constituents were identify by deep sequencing of the 16S rRNA gene. A total of 113,493 good quality reads corresponding to 9,374 OTUs were obtained from all samples. The mean richness of samples was 465 ± 268 OTUs which were classified to 26 different phyla, although 76% of the reads belonged to only 3 phyla: proteobacteria, actinobacteria and firmicutes. The most prevalent OTUs which were shared by all sampling farms were Paracoccus, Methyloversatilis, Brevundimonas, Porphyrobacter, Gp4, Mycobacterium, Hyphomicrobium, Corynebacterium and Clostridium. OTUs of the genus *Dermatophilus* were not found in the samples and none of the OTUs were closely related to *Mycobacterium avium paratuberculosis* or *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Although cutaneous dermatophilosis and pseudotuberculosis are highly prevalent in Israeli dairy farms and have been associated with hot weather and moist conditions, we could not conclude that the bacterial biofilms in cooling systems serve as a source of cow's infection with these pathogens. Other known potential, albeit rare, human pathogens such as *Mycobacterium phocaicum*, *M. austroafricanum* and *Corynebacterium tuberculostearicum* were found to be closely related with OTUs found in this study. This work demonstrates that dairy cooling systems can serve as live microbial biofilm source while using high quality chlorinated drinking water. Many of these organisms are potential human and livestock pathogens. In spite of the surging prices and scarcity of water in our region, we should cautiously consider the use of brackish, recycled or of low microbiology level water in dairy cooling systems, and be aware of accidental use of contaminated water due to backflow of other water system dysfunction.