

دراسة جراثومية و نسجية لحالات الاصابة بذات الرئة اللانمطي في الحملان

زهراء مصطفى الجمعة*، محمد علي حمد**

*فرع الطب الباطني والوقائي، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

**فرع الاحياء المجهرية- كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

Corresponding Author e .mail ; mahmah1073@gmail.com

الخلاصة :

استهدفت الدراسة الحالية عزل وتشخيص المايكوبلازما من حالات ذات الرئة في حملان التسمين في مدينة الموصل باستخدام الطرائق التقليدية مثل الزرع والاختبارات الكيموحيوية. تم جمع (180) عينة تنفسية مختلفة تمثلت بمسحات انفية و رغامية و عينات رئات لحملان مصابة بذات الرئة .

تفاوتت نتائج العزل بطريقة الزرع بين أنواع العينات المختلفة، إذ كانت مسحات الأنف الأكثر كفاءةً في الكشف عن المايكوبلازما إذ بلغت نسبة العينات الموجبة لها (58%) تلتها مسحات الرغامي بنسبة عزل (55.3%)، ثم عينات الرئات المصابة بذات الرئة بنسبة (35)%

عزلت المايكوبلازما بأعلى نسبة من اقل الأفات العيانية الظاهرة على الرئات المصابة بذات الرئة وهي تتخذ غشاء الجنب مع وجود الالتصاقات (٧٦.٩%) ، ثم من العينات التي كان توسع القصبات ووجود النضحة المخاطية فيها (٥٢.٣%) .

أوضحت نتائج الدراسة النسيجية وجود أنواع ودرجات مختلفة من ذات الرئة تمثلت بذات الرئة القصيبية النخرية وذات الرئة القصيبية التكيفية وذات الرئة القصيبية القححية فضلا عن ذات الرئة الخلالية المزمنة، وان جراثيم المايكوبلازما قد عزلت من أكثر من نوع من أنواع ذات الرئة وبخاصة ذات الرئة الخلالية المزمن .

المقدمة

تعد تربية الأغنام من الركائز المهمة لاقتصاد البلدان المتقدمة والنامية، وتشكل احد اهم جوانب الثروة الحيوانية من الناحية الاقتصادية إذ يعتمد عليها في انتاج اللحوم والحليب. تتواجد في قطرنا أعداد كبيرة من القطعان، وقد ادت زيادة الطلب على اللحوم الى الاهتمام بالثروة الحيوانية وتقليل ما امكن من فرص اصابتها بمختلف الأمراض لاسيما المعدية منها، ومن اهم هذه الامراض الاصابة بذات الرئة Pneumonia (١)(٢)

تعتبر ذات الرئة في الاغنام من الأمراض المهمة والواسعة الانتشار في كثير من بلدان العالم، وذلك لأنه يصيب جميع الأعمار مؤديا الى حدوث خسائر اقتصادية كبيرة، فقد أشارت بعض الدراسات الى ان نسبة الاصابة بالامراض التنفسية قد تصل الى (٦٩.٣٤%) من مجموع مختلف الامراض التي تصيب الضأن، وتشكل حالات ذات الرئة نسبة (٧٥%) من هذه الامراض التنفسية، وتعتبر حملان التسمين اكثر حساسية للاصابة بهذا المرض نظرا لما يسببه من نسب اصابة وهلاكات عالية جدا خصوصا اذا ما تزامنت مع الظروف البيئية غير الجيدة، فضلا عن الانخفاض الملحوظ في وزن الحيوان المصاب وسرعة انتشار المرض بين قطعان الحيوانات مؤديا بذلك الى ارتفاع تكاليف التربية والجهد المبذول في العلاج والسيطرة على هذا المرض (٣)(٤)

تتجم الإصابات التنفسية بين قطعان الحيوانات عن غزو واسع لأنواع مختلفة من الكائنات المجهرية والتي تشمل العديد من الجراثيم Bacteria، الفايروسات Viruses، الخمائر Yeasts، فضلا عن المايكوبلازما (5) وتعد المايكوبلازما Mycoplasma مسببا شائعا للعديد من إصابات الجهاز التنفسي العلوي والسفلي وخاصة لدى الحملان الصغيرة (6)

المواد وطرائق العمل

١- جمع العينات :

جمعت العينات للمدة من تشرين الاول ٢٠١٣ - ولغاية شهر نيسان ٢٠١٤ من مناطق مختلفة من مدينة الموصل، تراوحت اعمار الحيوانات من عمر يوم واحد - الى عمر ستة اشهر ولكلا الجنسين. اما عينات الرئات المصابة بذات الرئة جمعت من مجزرة الموصل ومحلات القصابة من مناطق مختلفة من مدينة الموصل. تم جمع (١٨٠) عينة تنفسية مختلفة وكانت كالاتي:-

١- (٦٠) مسحة انفية مأخوذة من حملان كانت تعاني سريريا من علامات ذات الرئة،

٢- (٦٠) مسحة رغامي اخذت ايضا من الحملان المصابة ذاتها، وذلك بادخال المسحات القطنية الى داخل التجويف الانفي وبداية الرغامي ثم وضعت المسحات القطنية داخل انابيب زجاجية حاوية على المرق الخاص بتنمية المايكوبلازما .

٣- (٦٠) عينة رئة ظهرت عليها افات وعلامات الاصابة بذات الرئة، اذ اخذت العينات من مكان الافة الظاهرة عليها وزرعت في المرق الخاص بتنمية المايكوبلازما ونقلت العينات الى مختبر البحوث الجرثومية التابع لفرع الاحياء المجهرية في كلية الطب البيطري، اذ وضعت العينات في الحاضنة بدرجة حرارة ٣٧ م.

٢- الاوساط الزرعية

حضرت حسب تعليمات الشركة المجهزة وعقمت بالموصدة بدرجة حرارة ١٢١ م وضغط ١٥ باوند \ انج² ولمدة ١٥ دقيقة.

١. وسط مرق نقيع المخ والقلب	Brain Heart Infusion Broth (Himedia)
٢. وسط اكار نقيع المخ والقلب	Brain Heart Infusion Agar (Himedia)
٣. وسط مرق المايكوبلازما الاساس	Mycoplasma Broth Base (Himedia)
٤. وسط اكار المايكوبلازما	Mycoplasma Agar Base (Himedia)

٣- الصبغات والمحاليل Stains and Solutions

أ- الصبغات Stains :

- صبغة كرام
 - صبغة كيمزا Giemsa stain
 - صبغة دينيس المحورة Modified Denies stain
- ب- محاليل الاضافة Adding Solutions :

- محلول الميثيلين الازرق (١%) Methylene blue solution ١%
- محلول الفينول الاحمر (٠.٤%) Phenol red solution 0.4%
- محلول الكلوكوز (٥٠%) Glucose solution 50%
- محلول خلات الثاليوم (١٠%) Thallium acetate solution 10%
- محلول البنسلين (١٠%) Penicillin solution ١٠%
- محلول [2-(p-iodophenyl)-3-nitrophenyl-5-phenyl tetrazolium chloride]
- محلول تليورات البوتاسيوم ١% Potassium tellurite 1%
- محلول الفورمالين المنظم المتعادل Buffer Neutral Formalin بتركيز ١٠%
- محلول هيدروكسيد الصوديوم NaOH (١ عياري)

٤- الاختبارات التشخيصية لجرثومة المايكوبلازما

اجريت الاختبارات حسب ما ورد في (٧,٨,٩)

زرع العينات:

• مسحات الانف والرغامي

زرعت عينات الرئات المصابة والمسحات الماخوذة من الحملان التي كانت تعاني سريريا من علامات ذات الرئة في الوسط المحضر من الامصال المختلفة وحضنت القناني بدرجة حرارة ٣٧ م وتم متابعة حدوث تغير بلون الوسط ثنائي الطور منذ اليوم الخامس وبعدها يوميا، تم اهمال القناني التي حدث فيها تغير لون الوسط خلال الايام الاولى للتحضين وتم متابعة القناني التي بدأ فيها تغير لون بعد اليوم الخامس من الحضن الى ان اصبح لون الوسط ثنائي الطور اخضر اللون للطور السائل واصفر اللون للطور الصلب نتيجة تغير الاس الهيدروجيني للوسط، الناتج عن نمو وتكاثر المايكوبلازما. فيما عدت الزروع التي لم يتغير لون الوسط فيها الى نهاية فترة التحضين التي امتدت الى ٤ اسابيع بانها سالبة.

• الرئات المصابة

اخذت قطعة من الرئات المصابة من مكان الافة بطريقة معقمة كما في السابق، وسحنت باستخدام هاون خزفي معقم وباضافة القليل من المرق المغذي، لقمح المعلق الناتج من العملية السابقة في المرق الخاص بتنمية المايكوبلازما (PPLO broth) المضاف له المكملات Supplements وحضنت بدرجة حرارة ٣٧ م لمدة ٤ - ١٤ يوم، بعدها زرعت على وسط (PPLO agar) وحضنت لمدة ٧ - ١٤ يوم بدرجة حرارة ٣٧ م داخل ناقوس الشمعة مع توفير الرطوبة اللازمة (8,9)

٥- الاختبارات الشكلية: وتشمل

١- الفحص المجهرى المباشر Microscopic appearance

• حضرت مسحات من المرق المغذي الخاص بتنمية المايكوبلازما والمزروع بالعينات بعد فترة التحضين، صبغت المسحات بصبغة كيمزا وصبغة كرام وفحصت السلايدات تحت العدسة الزيتية لملاحظة وجود خلايا المايكوبلازما المتعددة الاشكال .

٢- الشكل المستعمري Colony appearance

درست الصفات الشكلية وخصائص المستعمرات من خلال نموها على وسط Mycoplasma Agar Glucose medium بعد فترة التحضين وباستخدام المجهر التشريحي Dissecting Microscope .

٣- صبغة دينيس Dienes Stain

٦- الاختبارات الكيمياءحياتية Biochemical Tests

- اختبار تخمر الكربوهيدرات
- اختبار اختزال التترازوليوم
- اختبار القدرة على تحليل كريات الدم الحمراء
- اختبار انتاج الكاتاليز

٧- التقنيات النسيجية والتقطيع النسيجي

١- تحضير المقاطع النسيجية :

حضرت المقاطع النسيجية من عينات الرئات المحفوظة في محلول الفورمالين المتعادل بتركيز ١٠% باتباع الخطوات

المذكورة في (١٠) والتي تشمل :-

- أ- عملية التثبيت Fixation .
- ب- عملية الغسل Washing .
- ت- عملية الانكاز Dehydration .
- ث- عملية الترويق Clearing .
- ج- عملية التشريب والطمرب Infiltration and Embedding .
- ح- عملية التشذيب والتقطيع Trimming and Sectioning .

٢- صبغ المقاطع النسيجية :

تم اعتماد طريقة (11) في تصبغ المقاطع النسيجية المحضرة بصبغة الهيماتوكسيلين والايوسين .

❖ التحليل الاحصائي :

اجري التحليل الاحصائي لمقارنة العينات باعتماد اختبار (Z) للصفات الحدية.(12)

النتائج

١- نتائج النمو الجرثومي والتشخيص باستخدام الطرائق التقليدية

• الشكل المستعمري على الاوساط الصلبة

تبين من خلال دراسة الصفات الشكلية وخصائص المستعمرات نمو المايكوبلازما على وسط (PPLO) Medium ظهورها

بشكل مستعمرات صغيرة الحجم كروية الشكل ذات مركز محاط بهالة بيضاء الى عديمة اللون شبيهة بمظهر البيضة المقالية Fried Egg appearance (الشكل ١) .

• الفحص المجهرى باستخدام الصبغات

تميزت العينات الموجبة لصبغة كيمزا بظهور خلايا جرثومة المايكوبلازما Mycoplasma cells صغيرة الحجم ذات لون

بنفسجي باشكال مختلفة Pleomorphic تراوحت بين الكروية والعصوية والخيطية والمتفرعة (الشكل ٢).

• التصبغ بصبغة دينيس

اجري التصبغ بطريقتين وكالاتي:-

أ- اختبار القابلية على اختزال صبغة الميثيلين الازرق (الشكل ٣).

ب- التصبغ بصبغة دينيس باعتماد طريقة (٨,٩)

لوحظ احتفاظ مستعمرات المايكوبلازما النامية على وسط PPLO agar بصبغة دينيس (الشكل ٤).

• الاختبارات الكيمياءحياتية

اجريت الاختبارات الكيمياءحياتية بعد اجراء الاختبارات الشكلية لتأكيد تشخيص المايكوبلازما، أذ تضمنت هذه الاختبارات:-

أ – اختبار اختزال التترازوليوم Tetrazolium Reduction Test

اظهرت النتائج قدرة مستعمرات المايكوبلازما على اختزال مادة التترازوليوم ، اذ ظهرت مستعمراتها بلون احمر بعد اضافة كاشف التترازوليوم (الشكل ٥).

ب – اختبار تخمر الكربوهيدرات

اظهرت النتيجة الموجبة لهذا الفحص عند الزرع على الوسط ثنائي الطور تحول الطور الصلب الى اللون الاصفر اما الطور السائل فيظهر بلون اخضر او اخضر مصفر (MB-GD) (الشكلان ٦,٧).

٢- نتائج عزل المايكوبلازما بطريقة الزرع من العينات المختلفة .

عزلت المايكوبلازما من ثلاثة انواع من العينات شملت مسحات انفية ، ومسحات رغامي، فضلا عن عينات رئات لحملان مصابة بذات الرئة، وعند تشخيص الاصابة باستخدام طرائق الزرع والعزل ، كانت النسبة المئوية للعزل الجرثومي هي (٥٨%) من مسحات الانف ، (٥٥.٣%) من مسحات الرغامي ، بينما كانت بنسبة (٣٥%) من عينات الرئات المصابة (الجدول ١) .

الجدول (١) : نتائج عزل المايكوبلازما بطريقة الزرع من العينات المستخدمة في الدراسة

نوع العينة	عدد العينات الكلي	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية
المسحات الانفية	٦٠	٣٥	٥٨
مسحات الرغامي	٦٠	٣٣	٥٥.٣
الرئات مصابة	٦٠	٢١	٣٥
المجموع	١٨٠	٨٩	٤٩.٤

٣- التغيرات المرضية العيانية والنسجية على الرئات المصابة:

أ- التغيرات المرضية العيانية:

اوضحت نتائج الفحص العياني وجود تغيرات مرضية عيانية تمثلت بظهور مناطق من التصلد الاحمر او مايسمى بالتكبد الاحمر Red Hepatization (الشكل ٨) ، اذ توزعت الافات على الفصوص القمية والاجزاء الامامية للفصوص الحجابية واحيطت

هذه الافات بمناطق نفاخية وانخماصات في الاجزاء المجاورة للقصبات والاوعية الدموية ، وظهرت مناطق احتقان بورية . كما لوحظ تتخن في جدران الحويصلات مابين الفصيصات، مع تتخن في غشاء الجنب الحشوي وتحول لونه الى الرمادي نتيجة لترسب الليفين بشكل طبقة بيضاء على الجنبية مع بروز الحويصلات بين الفصوص الرئوية، ووجود احتقان مع تتخن في مخاطية القصبات مع ملاحظة التصاق غشاء الجنب بالاضلاع (الشكل ٩) .

اما بالنسبة للقصبات الهوائية فقد اظهرت بعض النماذج وجود توسع في القصبات الهوائية Bronchiectasis (الشكل ١٠) وعند فتح الممرات الهوائية لوحظ احتواؤها على سوائل رغوية مع وجود نضح التهابي متجمع في تجويف القصبات والقصيبيات فضلا عن النفاخ الرئوي Pulmonary Emphysema في بعض المناطق والانخماصات الظاهرة على المناطق الاخرى.

وقد تباينت نسب الافات الرئوية العيانية مع نسب عزل المايكوبلازما منها (الجدول: ٢)، اذ كانت الافة البارزة في اغلب العينات الرئوية هي احتقان الرئتين بنسبة (٨٣%)، اما الافات الاخرى فقد شملت نفاخاً رئوياً مع انخماصات رئوية (٥٨%) ، توسع القصبات الهوائية مع وجود نضحة مخاطية في القصبات (٣٥%) ، التكدب الاحمر (٣٠%) ، وتخن غشاء الجنب مع وجود التصاقات بين غشاء الجنب والاضلاع (٢١.٦%) ، اما من حيث عزل المايكوبلازما من هذه الافات الرئوية فقد كانت اعلى نسبة عزل فيها من تتخن غشاء الجنب مع وجود الالتصاقات (٧٦.٩%) ، ثم من العينات التي كانت ظاهرة عليها توسع القصبات ووجود النضحة المخاطية فيها (٥٢.٣%) ، وتليها العينات التي كانت تظهر التكدب الاحمر وايضا العينات التي ظهر عليها النفاخ الرئوي والانخماصات الرئوية بنسب متقاربة (٤٤.٤% ، ٤٢.٨%) ، بينما كانت اقل نسبة عزل من العينات التي كانت تعاني فقط من الاحتقان الرئوي (٨%) (الجدول ٢).

جدول (٢) : انواع الافات الرئوية العيانية ونسب عزل المايكوبلازما منها .

نوع الافة	عدد الرئات المصابة	النسبة المئوية	عدد العينات التي اعطت نتيجة موجبة لعزل المايكوبلازما	النسبة المئوية
تتخن غشاء الجنب مع وجود الالتصاقات بين غشاء الجنب والاضلاع	١٣	٢١.٦%	١٠	٧٦.٩%
توسع القصبات الهوائية مع وجود نضحة مخاطية في القصبات	٢١	٣٥%	١١	٥٢.٣%
التكدب الاحمر	١٨	٣٠%	٨	٤٤.٤%
نفاخ رئوي مع انخماصات رئوية	٣٥	٥٨%	١٥	٤٢.٨%
احتقان الرئتين	٥٠	٨٣.٣%	٤	٨%

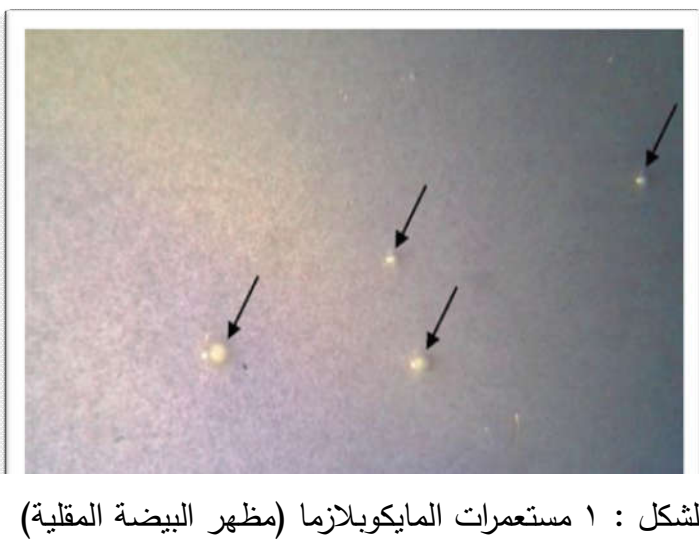
ب- التغيرات النسجية

اظهرت نتائج الفحص النسجي المرضي وجود تغيرات نسجية تمثلت بالافات الرئوية في مختلف مراحل تطور المرض واشتملت على ذات الرئة القصيبية بانواع متعددة، منها ذات الرئة القصيبية النخرية Necrotizing Bronchopneumonia، وذات الرئة القصيبية التكيفية Cuffing Bronchopneumonia، وذات الرئة القصيبية الفيحية Suppurative Bronchopneumonia، فضلا عن ذات الرئة الخلالية المزمنة Chronic Interstitial Pneumonia، حيث لوحظ وجود التهاب القصبات والقصيبات النخري Necrotizing Bronchiolitis والذي تميز بوجود نخر في الظهارة المبطنة للطبقة المخاطية للقصبة الهوائية مع زيادة النضح المخاطي يصاحبها تثخن في جدار الاسناخ لارتشاحها بالخلايا الالتهابية وحيدة النواة ومتعددة النوى . فضلا عن احتقان في الاوعية الدموية بين الاسناخ الرئوية وفرط التنسج اللمفاني.

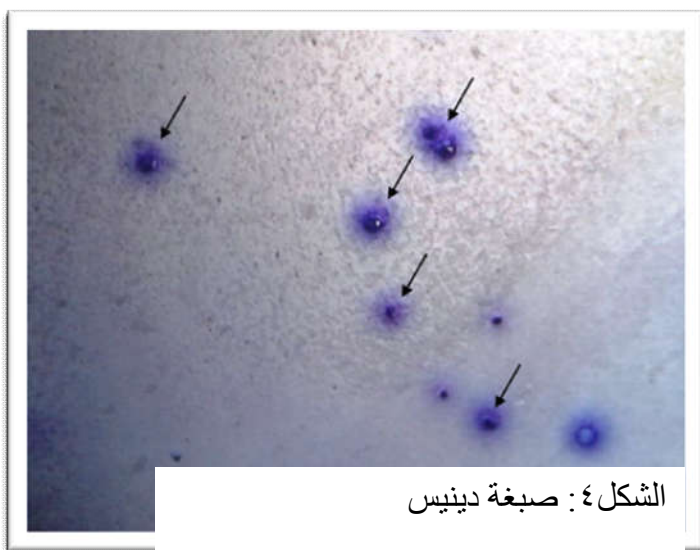
كما واطهرت بعض المقاطع وجود تليف بين القصيبات الرئوية وفرط تنسج، مع نخر الخلايا السنخية ووجود وذمة في النسيج الخلالي مصحوبة بتثخن الحويصلات الرئوية نتيجة لتكاثر النسيج الحبيبي مع اختفاء معالم النسيج الرئوي . اما بالنسبة للقصبات الهوائية فقد لوحظ وجود توسع في القصبات مع نخر الخلايا الظهارية المبطنة للطبقة المخاطية و فرط تنسج البعض منها والغدد المخاطية للطبقة تحت المخاطية ، فضلا عن تزجج الالياف العضلية الملساء مع ظهور تنكس ونخر في الغضاريف . كما لوحظ وجود توسع في الغدد المخاطية للقصيبات وانخماص الاسناخ الرئوية المجاورة للقصبات والقصيبات الهوائية، وقد شوهد في بعض النماذج وجود النخر القيسي بهيئة خراجات في متن الرئة مع ارتشاح الخلايا الالتهابية وحيدة النواة، فضلا عن النفاخ السنخي الخلالي Alviolar Interstitial Emphysema (الاشكال ١١، ١٢، ١٣).



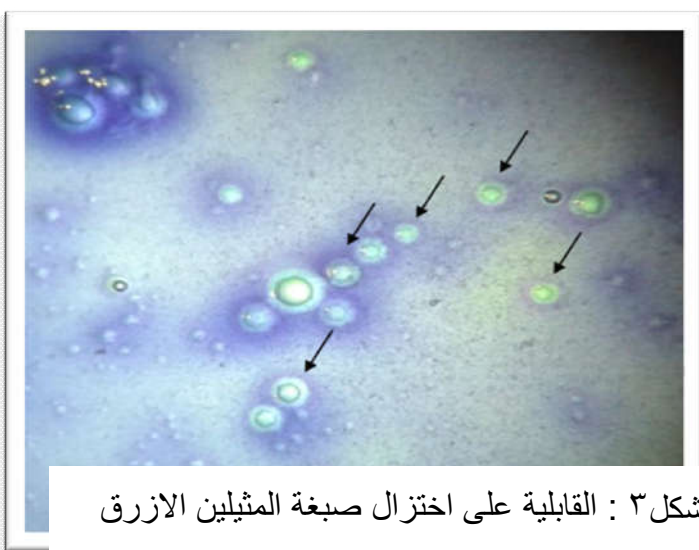
الشكل ٢: مسحة مصبوغة بصبغة كيمزا



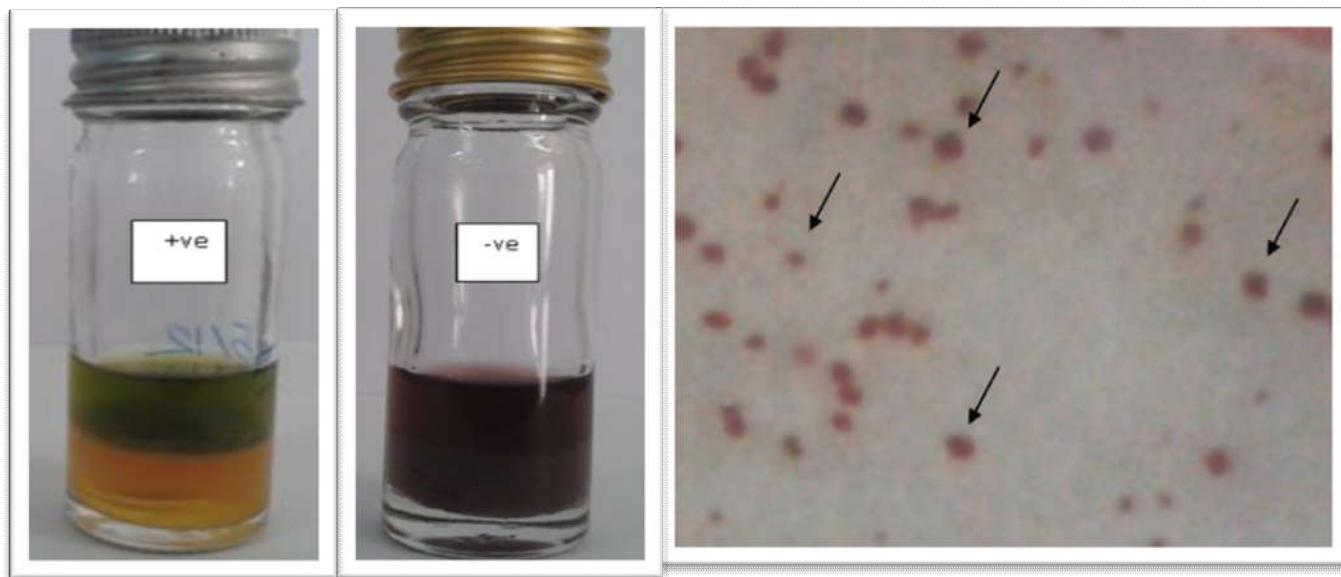
الشكل ١ : مستعمرات المايكوبلازما (مظهر البيضة المقلية)



الشكل ٤ : صبغة دينيس

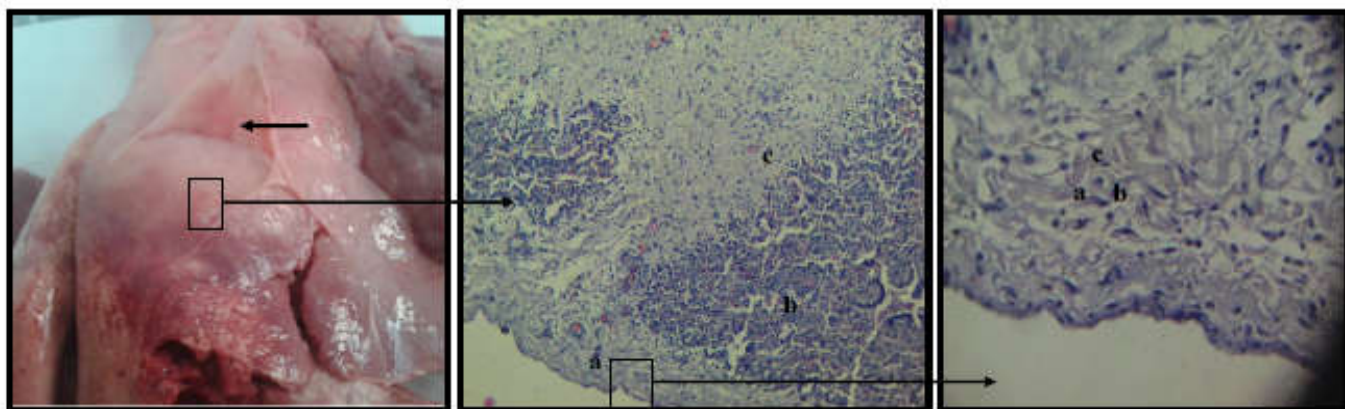


الشكل ٣ : القابلية على اختزال صبغة المثلين الازرق



الشكل ٥ : اختبار التترازوليوم

الشكل ٦، ٧: النتيجة الموجبة والسالبة لعزل
 المايكوبلازما Mycoplasma على وسط ثنائي الطور
 Methylene Blue Glucose Diphasic medium
 (MB_GD) medium



الشكل ٨:

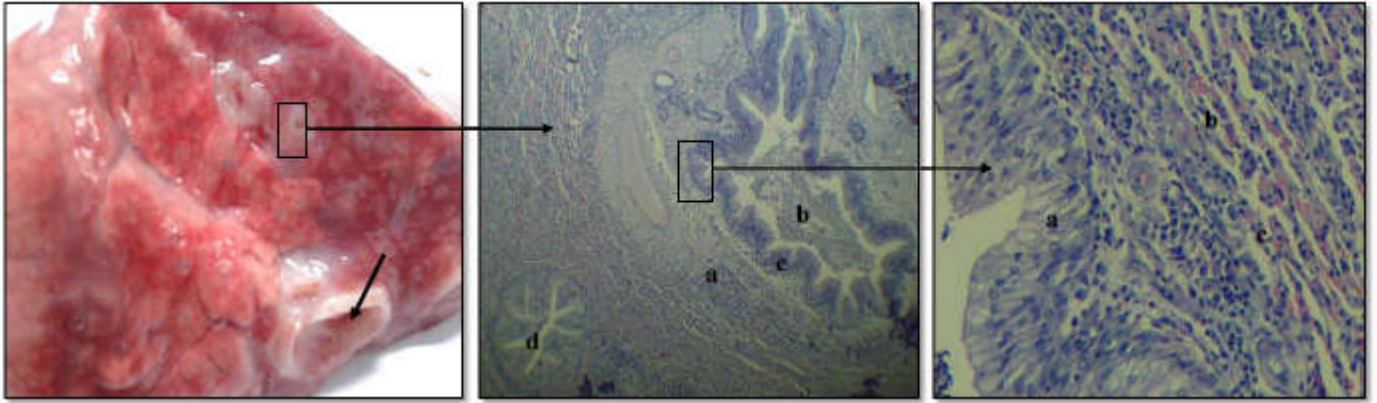
رئة حمل مصاب بذات الرئة يلاحظ وجود
 تشخ غشاء الجنب نتيجة ترسب الليفيين
 بشكل طبقة بيضاء على الجنب

الشكل ٩ :

مقطع نسجي لرئة مصابة بوضوح وجود
 النسيج الحبيبي (اللياف غراوية + اوعية
 دموية حديثة التكوين) (b,a) مع
 انخماص في الاسناخ الرئوية (c)
 (هيماتوكسلين - ايوسين) بقوة تكبير X 420

الشكل ١٠ :

صورة مكبرة للصورة 13 توضح ترسب
 الاليف الغراوية (a) وتكاثر الارومات
 الليفية (b) مع ارتشاح الخلايا الالتهابية
 وحيدة النواة (c) (هيماتوكسلين - ايوسين)
 بقوة تكبير X 620 .



مقطع عرضي لرتة حمل مصاب بذات الرئة يبين ترسب اللبطين في الحويجرات مابين القصيصات مع وجود تليف في الحويجرات الرئوية وظهور توسع في القصيصات

الشكل ١١ :

التهاب القصيصات المزمن ، يوضح تتخن جدار القصيصات الهوائية لارتشاح الخلايا الالتهابية الوحيدة ومتعددة النوى (a) مع تجمع النضج الالتهابي في التجويف (b) وفرط تنسج ظهارة الطبقة المخاطية (c) فضلا عن تضيق تجويف البعض الاخر (d)

الشكل ١٢ :

صورة مكبرة للصورة 16 لاحظ تتخن جدار القصيصات الهوائية لارتشاح الخلايا الالتهابية الوحيدة ومتعددة النوى (a) مع احتقان الشعيرات الدموية في جدار الاسناخ (b) مع الانخماص (c).

الشكل ١٣ :

المناقشة

تناولت هذه الدراسة عزل وتشخيص المايكوبلازما من حالات ذات الرئة في حملان التسمين في مدينة الموصل لما لهذه الجرثومة من اهمية كبيرة في إحداث الأمراض التنفسية في الضان (13) ، والتي بدورها تؤدي الى أضرار إقتصادية متمثلة بالهلاكات وضعف النمو وقلة المردود الاقتصادي، لذا استخدمت انواع مختلفة من العينات تمثلت بمسحات أنفية ومسحات رغامية وعينات رئات مصابة لعزل هذه الجرثومة ، للتوصل الى افضل طريقة ممكن استخدامها في زرع وتنمية وعزل المايكوبلازما .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية تفاوت نسب العزل الجرثومي بين انواع العينات المختلفة، اذ عزلت المايكوبلازما من المسحات الانفية بأعلى نسبة (٥٨%) ثم من مسحات الرغامي (٥٥.٣%) بينما كان عزل المايكوبلازما باقل نسبة من عينات الرئات المصابة (٣٥%)، وهذه النتائج جاءت موافقة لما أشارت اليه الدراسات السابقة والتي تشير الى ان اعلى نسبة عزل تكون من المسحات الانفية، ففي دراسة (2) على الاغنام المصابة بذات الرئة كانت المسحات الانفية الماخوذة (٧٣) مسحة منها (١٨) مسحة موجبة لعزل المايكوبلازما اي بنسبة (٢٤.٦%) بينما اعطت عينتان رئويتان نتيجة موجبة لعزل المايكوبلازما من مجموع (٧٧) عينة رئوية مصابة وبنسبة (٢.٦%)، في حين لم تتفق هذه النسبة مع ماتوصل اليه باحثون في شمال الاردن حيث تم عزل المايكوبلازما من (٧) مسحات انفية من مجموع (٣١٠) مسحة انفية تم جمعها من اغنام وحملان كانت تعاني من علامات تنفسية بنسبة عزل (٢.٣%) (14) . نستدل من نتائج العزل في دراستنا والدراسات السابقة الى ان المسحات الانفية العميقة من الحيوانات الحية هي العينات المثالية لعزل

المايكوبلازما وتعطي نسب زرع موجبة تتراوح بين (٥٠ - ١٠٠%) مقارنة بالمسحات البلعومية (13)، وقد يعزى ذلك الى قلة المثبطات والعوامل الدفاعية المتعددة وبالتالي فان الانف والافرازات الانفية توفر البيئة المناسبة لنمو وتكاثر جراثيم المايكوبلازما. اما عند مقارنة نتائج عزل المايكوبلازما من عينات الرئات المصابة في هذه الدراسة مع الدراسات الاخرى فنلاحظ وجود تباين واضح في نسب العزل حيث كانت نسبة العزل من عينات الرئات في دراستنا بحدود (٣٥%) ، وهذه النسبة مقارنة لنسبة العزل من الرئات في دراسة تركية اجراها الباحثون (15) والتي بلغت (٣٧.٠٣%) ومقاربة ايضا لنسبة العزل التي سجلت في دراسة تركية اخرى اجريت في مدينة قونيا التركية (16) التي بلغت (٣٦%). بينما كانت مختلفة عن النسب المذكورة في دراسات كثيرة والتي كانت نسب العزل فيها اعلى من النسب المسجلة من قبلنا، ومنها الدراسة التي قام بها الباحث (17) والذي اشار الى عزلها بنسبة (٥٧%) من عينات الرئات وايضا اختلفت عن نتائج دراسة اجريت في جنوب النرويج من قبل (17) والتي اشارت الى نسبة عزل (٨٧%) من الرئات المصابة، وسجل الباحث (18) نسبة عزل (٧٣.٣٣%) للمايكوبلازما المرضية. بينما كانت نسب العزل المسجلة في بعض الدراسات اقل من نسبة العزل في دراستنا اذ اشار (٢) الى عزل المايكوبلازما بنسبة (٢.٦%)، وأشار الباحث (١٩) الى عزلها بنسبة (١٣.٥%) من رئات حملان واغنام مصابة ، في حين سجل (٢٠) نسبة عزل بلغت (٢٢.٩%) من الرئات المصابة. ان هذا التفاوت في نسب العزل للمايكوبلازما من العينات المختلفة وفي البحوث المشار اليها يعود الى الاختلاف في المقاييس الصحية، والموقع الجغرافي ، والاختلاف في درجات الحرارة والرطوبة وطريقة تربية الحيوان ، فضلا عن عوامل الاجهاد واختلاف التدابير الصحية والحالة المناعية للحيوانات المصابة . تباينت الافات الرئوية العينية التي شوهدت على عينات رئات الحملان قيد الدراسة والبالغ عددها (٦٠) رئة مصابة ، مع وجود تباين في نسب عزل المايكوبلازما من هذه الافات، حيث كانت الافة البارزة في اغلب العينات الرئوية هي احتقان الرئتين (٨٣.٣%) من الرئات، اما الافات الاخرى فقد اشتملت على نفاخ رئوي مع انخماصات رئوية (٥٨%) ، توسع القصبات الهوائية مع وجود نضحة مخاطية في القصبات (٣٥%) ، التكبد الاحمر (٣٠%) ، وتثخن غشاء الجنب مع وجود التصاقات بين غشاء الجنب والاضلاع (٢١.٦%)، وشوهدت هذه الافات على الاغلب في الفصوص القمية من الرئة وهذا يتفق مع ما اشارت اليه دراسة (21) والذي ذكر ان اغلب الافات كانت في الاجزاء العلوية من الرئة . وقد يعزى ذلك الى الموقع التشريحي للرئة اذ تدخل فروع القصبية الهوائية بدايةً في الفصوص الامامية فتكون هذه الفصوص اكثر عرضة للاصابة ثم بعد ذلك تنتقل الى بقية الفصوص (22).

اشارت نتائج العديد من الدراسات السابقة الى وجود آفة او اكثر من الآفات الرئوية التي اتفقت مع نتائج هذه الدراسة، وتباينت مع ماتوصل اليه كل من (23,24). الى ان الآفات الرئوية تراوحت بين تصد الرئة بأعلى نسبة والنفاخ الرئوي باقل نسبة، وعند مقارنتها مع الآفات التي شوهدت في دراستنا ظهر الاختلاف في نسب الآفات المسجلة اذ كانت الافة الابرز هي احتقان الرئتين والنفاخ الرئوي والتي ذكرت باقل نسبة في الدراسات السابقة وهذا قد يعزى الى الاختلاف في العامل المسبب للمرض اذ ان بعض تلك الدراسات اجريت لعزل المسببات الجرثومية لذات الرئة من دون التحري او الكشف عن الاصابة بالمايكوبلازما . اما عند عزل المايكوبلازما من هذه الافات الرئوية فقد كانت العلاقة عكسية حيث عزلت باعلى نسبة عزل من اقل الافات المسجلة والتي شملت العزل من تثخن غشاء الجنب مع وجود الالتصاقات (٧٦.٩%) ، ثم من العينات التي كان توسع القصبات ووجود النضحة المخاطية فيها (٥٢.٣%) ، وتليها العينات التي كانت تظهر التكبد الاحمر وايضا العينات التي ظهر عليها النفاخ الرئوي والانخماصات الرئوية ظاهراً عليها بنسب متقاربة (٤٤.٤% ، ٤٢.٨%) على التوالي، بينما كانت باقل نسبة عزل من العينات التي كانت تعاني فقط من الاحتقان الرئوي (٨%).

كانت الغاية الرئيسية من ربط عزل المايكوبلازما مع نوع الافة هي ايجاد الافات الاكثر تكرارا مع الاصابة بالمايكوبلازما والتي قد تساعد في اعطاء فكرة اولية ان رئات الحيوانات التي تظهر عليها هذه الافات تكون مصابة بالمايكوبلازما وبالتالي حصر طرق التشخيص بالمايكوبلازما بدلا من محاولة عزل المسببات المتعددة لذات الرئة. ان اغلب الافات التي شوهدت تشير الى ان الاصابة كانت مزمنة وهذا يتفق مع جميع الدراسات السابقة التي تناولت حالات ذات الرئة وعزل المايكوبلازما منها (25)، وان عزل المايكوبلازما باعلى نسبة من افات التصاق الجنب هو أوضح دليل على ان الاصابة هي من النوع المزمن والتي حدثت بسبب ارتشاح النضحة الالتهابية بين غشاء الجنب والاضلاع الناتجة من تاثير عوامل الضراوة الخاصة بجرثومة المايكوبلازما والتي تعد المفتاح الاساسي لفوعة هذه الجرثومة.

شكر وتقدير

يتقدم الباحثان بالشكر والثناء لكلية الطب البيطري، جامعة الموصل لدعمها المادي والمعنوي لانجاز البحث.

BACTERIOLOGICAL AND HISTOLOGICAL STUDY FOR ATYPICAL PNEUMONIA IN FEEDLOT LAMBS

Zahraa Mustafa Al-Jumaa^{*}, Mohammad A. Hamad^{**}

Department of Medicine and Preventive, – College of Veterinary Medicine, University
of Mosul, Mosul, Iraq

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of
Mosul, Mosul, Iraq

ABSTRACT

The present study was performed for isolation and identification of the Mycoplasma in feedlot lambs that underwent pneumonia in Mosul city by using classical methods and PCR technique. an (180) different respiratory samples were collected as nasal, tracheal swabs and lung samples from infected lambs, to reach to the best method can be used for culturing and isolating the Mycoplasma. Primary results exhibited method of sample culturing represented by culture in Mycoplasma broth then culture in diphasic media and finally on the solid media that is the best method for obtaining a pure culture of Mycoplasma.

Evaluation the type of specimen in detecting of infection showed that the nasal and tracheal swabs were more convenient in the cases of Mycoplasma as compared with the other types of samples

as shown by the values (58, 55.3) % respectively given by culture method. lung samples was the least efficient specimen in determining the presence of infection ,The Mycoplasma which was isolated from different types of pneumonia especially chronic interstitial pneumonia exhibited the importance of this bacteria for inducing this type of pneumonia.

المصادر

- 1- Chiara, E., Flavio, S., Massimo, S. and Leonardo, D.S. (2007). Pneumonia of Lambs in the Abruzzo region of Italy: anatomopathological and histopathological studies and Localization of *Mycoplasma ovipneumoniae* . Veterinaria Italiana. 43(1): 149-155.
- 2- Maksimovic, Z., Christian, D., and Fifatbegovic, M. (2013). Presence of Mycoplasmas in Respiratory system of small ruminants managed under an extensive production system. Turk. J.Vet. Anim.Sci. 37: 352-354.
- 3- Al-Sultan, I. and Zubaidy, A.J. (1978). Chronic ovine pneumonia association with الكنانى ، انتصار رحيم. (2013). تقانات في علم الامراض النسجي. الطبعة الاولى.

مطبعة العلا. الموصل. العراق، ص: 69-75.

- Mycoplasma infection . Vet. Pathol. (15): 682.
- 4- Jana, C., Bhowmik M.K., and Sadhukan. T. (2005). Mycoplasmal pneumonia in sheep. West Bengal J. Anim. Fish.Sci. 68: 372-381.
 - 5- Yigezu, L., Tarikus. Ayelet, G. and Roger F.(2004). Respiratory Mycoplasmosis of small ruminant in Ethiopia . Ethiopian Vet. J. 8(2): 67-74.
 - 6- Pitcher, D.G. and Nicholas, R.A.J. (2005). Mycoplasma host specificity : Fact of fiction?. Rev. The Vet. J. 170: 300-306.
 - 7- Konemann, E.W., Allen, S.D. Janda, W.M., Schreck, Enberger P.C. and Winn, W.C. (1997). Color atlas and textbook of diagnostic microbiology (5th ed). Lippincot-Raven Publisher. Philadelphia. USA.pp:123-130.
 - 8- Songer, J.G. and Post K.W. (2005). Veterinary Microbiology Bacterial & fungal Agents of Animal Disease. Philadelphia, Elsevier Sanders. PP: 178-179, 58, 181-184.
 - 9- Quinn, P.J., Markey B.K., Leonard F.C., Fitz Patric E.S., Fanning S. and Hartigan P.J. (2011). Veterinary Microbiology & Microbial disease. 2nd ed, UK, WiLey-Blackwell, USA. PP: 67-69.

- 11- Luna , L.G. (1968). Manual of histological Staining Methods of the Armed Forces Institute Pathology. 3rd , ed. McGraw –Hill Co. New York, PP: 101-105 .
- 12- Weiss, N.A. (1999). Introductory static's. 5 ed. Addison Wesley Longman. Inc. USA.
- 13- Besser, T.E. Cassirer, E.F., Yamada, C., Potter K.A., Herndon C.N., Forreyt, W.J. and Sribumaran S., (2012a). Survival of bighorn sheep commingled with domestic sheep in the absence of *Mycoplasma ovipneumoniae*. J. Wild. Dis. 48: 168-172.
- 14- Momani, A., Halabab, M.A. Abo-Shehada, M.N. Miles, K. McAuliffe, L. and Nicholas, R.A.J. (2006). Isolation and Molecular identification of small Ruminant Mycoplasmas in Jordan. Small Ruminant Research. 65: 106-112.
- 15- Kilic, A., Kalender, H., eroksuz, H., Muz, A., and Tasdemir, B. (2013). Identification by culture, PCR and immunohistochemistry of Mycoplasmas and their molecular typing in sheep and lamb lungs with pneumonia in Eastern Turkey. Trop. Anim. Health Prod. 45: 1525-1531.
- 16- Güler, L. (1993). The isolation and identification of Mycoplasmas in sheep and goats with pneumonia and determination of antibiotic susceptibility (PhD thesis, University of Selcuk, Faculty of Veterinary Medicine).
- 17- Bakke, T. (1982). The occurrence of Mycoplasmas and Bacteria in lungs from sheep in Southern Norway. Acta Veterinaria Scandinavica. 23: 235–247.
- 18- Sheehan, M., Casidy, J.P., Brady, J., Ball, H., Doherty, M.L., Quinn, P.J., Nicholas, R.A.J. and Markey, B.K. (2007). An aetiopathological study of chronic bronchopneumonia in lambs in Ireland. The Vet. J. 173: 630–637.
- 19- Erken, N. (2004). The isolation and identification of Mycoplasma Species in sheep and lambs that indicates pneumonia in Samsun region (unpublished MSc thesis, Samsun Veterinary Control and Research Institute).
- 20- Timenetsky, J., Santos, L.M., Buzinhani, M. and Mettifogo, E. (2006). Detection of multiple Mycoplasma infection in cell cultures by PCR. Brazilian Journal of Medical and Biological Research. 39: 907–914.
- 21- Dassanayake, R.P., Shanthalingam S., Herndon C.N., Subramaniam R., Lawrence P.K., Bavananth asivam J., Cassirer E.F., Haldorson G.J., Foreyt W.J., Rurangirwa F.R., Knowles D.P., Besser T.E. and Srikumaran S.(2010): *Mycoplasma ovipneumoniae* can predispose bighorn sheep to fatal *Mannheimia haemolytica* pneumonia. Vet. Microbial. 145: 354-359.

22- Besser, T.E., Highland, M., Baker, K., Anderson N.J. and Ramsey, J.M. (2012b). Causes of pneumonia epizootics among bighorn sheep western united states 2008-2010.. Emerg. Inc. Dis. 18: 406-414.

٢٣- حمد، محمد علي. (2000). عزل وتشخيص المسببات الجرثومية لذات الرئة في حملان

التسمين. رسالة ماجستير. كلية الطب البيطري. جامعة الموصل. العراق.

٢٤- رحيمة، ماجد شيال. شمعون ، جورجيث، قاسم ، الهام عبد الغني. (2000). المسببات

الجرثومية والافات المرضية لذات الرئة في حملات التسمين. المجلة العراقية

للعلوم البيطرية، المجلد (13). العدد (1). الموصل. العراق.

25- Azizi, S., Tajbakhsh, E., Rezaei, A., Nekouei, S.H. and Namjoo, A.R. (2011). The role of *Mycoplasma ovipneumoniae* and *Mycoplasma arginini* in pneumonic lungs of slaughtered sheep. Revue Med. Vet. 162(6): 310–315.