مطالعه پاتولوژیک پنومونی بینابینی درگوسفندان کشتاری استان تهران

دکتر فرهنگ ساسانی[۱]*، دکتر امیرعلی رئیسی[۲]، دکتر مهدی مقدم[۳]

چکیده

از ۱۱۰ نمونه ریه‌های مبتلا به ضایعه پنومونی در کشتارگاه های استان تهران (زیاران، میثم و راک) در سنین مختلف، ۲۷ ریه دارای آثار پاتولوژیک شبیه به پنومونی بینابینی جمع آوری شد و مورد بررسی آسیب شناسی، باکتری شناسی، انگل شناسی و قارچ شناسی قرار گرفت و در انتها نتایج زیر بدست آمد: اغلب ضایعات ماکروسکوپیک در لوبهای قدامی- شکمی ایجاد شده بود. ۹ مورد از ریه های مورد بررسی (۳۳/۳ درصد) از نظر میکروب شناسی مثبت بودند که از این تعداد، ۳ مورد (۱۱/۱ درصد) E.coli، ۲ مورد (۷/٤ درصد) کلستریدیوم، ۲ مورد پاستورلا همولیتیکا (۷/٤ درصد) و از ۲ مورد (۷/٤ درصد) مایکوپلاسما جدا گردید. ریه های مشکوک، همگی ضایعات پنومونی بینابینی مزمن را نشان دادند و در برخی موارد برنکو پنومونی چرکی (۵۱/۸ درصد) نیز علاوه بر آن مشاهده گردید. ضمناً در هیچکدام از نمونه‌ها ضایعه قارچی و انگلی دیده نشد.

واژگان کلیدی: *پنومونی بینابینی، آسیب شناسی، باکتری شناسی،گوسفند*

مقدمه

پنومونی بینابینی در گوسفند(Chronic Enzootic Pneumonia or atypical pneumonia) یک نوع ویژه از پنومونی‌ها است که در آن جراحت و روند التهابی در هر یک از سه لایه دیواره آلوئولی (اندوتلیوم، غشای پایه و اپیتلیوم آلوئولی) و بافت همبند برونشیولی مجاور اتفاق می‌افتد. گوسفندان مبتلا اغلب بدون علت واضحی می‌میرند (۱۹ و۱٤). بعضی از حیوانات مبتلا از گله جدا شده و ترشحات چرکی از بینی داشته و یا سرفه می‌کنند و تب دارند. تاکی پنه و رال تنفسی در قفسه سینه شنیده می‌شود. در کالبد گشایی تراکم کانونهای قرمز تیره و نواحی آبی- خاکستری در لبهای قدامی- شکمی

۱. گروه پاتولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران،تهران،ایران

۲. دستیار دوره تخصصی رادیولوژی دامپزشکی، دانشکده تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات،تهران،ایران

۳. دامپزشک خصوصی

Interestitial pneumonia in slaughtered sheep of Tehran Province

Sasani. F[1], Raisi. A[2], Moghadam.M[3]

1-*Department of Pathology , Faculty of Veterinary Medicine, Tehran university , Tehran , Iran.*
2 -Resident of Radiology, Faculty of Specialised Veterinary Sciences, Islamic Azad University , Science & Research Branch, Tehran, Iran
3- Doctor of Veterinary Medicine

From 110 pneumonic lungs in Tehran's slaughter-houses (Zyaran, Meisam, Rak) with variable ranges of age, 27 lungs showed interstitial pneumonia. These cases were studied by histopathological, bacteriological, parasitological and mycological tests. Most of lesions in lungs, were in cranio-venteral lubes. From 9 samples (33.3%) that were positive for bacteria, three (11.1%) by E.coli, 2 (7.4%) by clostridium, 2 (7.4%) by pasteurella hemolytica and 2 (7.4%) by mycoplasma were infected.
All the lungs had chronic interstitial Pneumonia and in some cases (51.8%) purulent bronco- Pneumonia also existed. There were no any fungal or parasitic lesions in the samples.

Key words: *Interstitial Pneumonia, Pathology, Bacteriology,Sheep*

دیده می‌شود که بیانگر لبولهای نکروتیک می‌باشد. اما عمده اثرات اقتصادی پنومونی بخصوص در بره‌ها کاهش وزن‌گیری و به شکل مزمن آن لاغری می‌باشد(٦). عوامل عفونی، محیطی و مدیریتی در ایجاد ضایعه نقش دارند و ضایعات پیشرفته بیشتر بصورت برونشیت هیپرپلاستیک، آتلکتازی، فیبروز آلوئولی و برونشیولی و نیز هیپرپلازی لنفوئیدی اطراف مجاری هوایی به شکلCuffing Pneumonia مشخص می‌شود(١٤).

ویروسهای متعددی از بیماری تنفسی گوسفند و پنومونی در بره های کشتاری جدا شده که در بررسی های مختلف بطور عمده ویروس PI-3 و آدنوویروسها ومایکوپلاسماها درگیر بوده اند. در صورتی که نقش دیگر ویروسها از قبیل ویروس سینسیتیال تنفسی، هرپس ویروسها و رئوویروسها زیاد مشخص نمی‌باشد. این ویروسها با اثرات تخریبی روی اپیتلیال تنفسی و سیستم موکوسی- مژکی زمینه را برای حضور، رشد و تکثیر عوامل باکتریایی فراهم می‌کنند(١٦ ،١٤ ، ١٣، ٤). پنومونی بینابینی در گوسفند در اکثر کشورهای پرورش دهنده گوسفند، از جمله مجارستان(١٧)، لهستان(٨)، سوئد(١٥)، فرانسه (١٠)، لوئیزیانای آمریکا(٧)، استرالیا (١٨) و نیجریه (١١) به صورت یک مشکل مورد توجه است. تشخیص این بیماری بر اساس علائم بالینی، هیستوپاتولوژی، کشت باکتریایی،کشت سلولی ویروسها و غیره صورت می‌گیرد.(١٦ ،١٣، ٣، ١).

مواد و روش کار

در بازرسی پس از کشتار در کشتارگاه های استان تهران (زیاران، میثم و راک)، ١١٠ نمونه ریه گوسفند که دارای علائم ظاهری پنومونی از جمله تغییر رنگ و قوام بودند، ٢٧ نمونه مورد بررسی قرار گرفتند. قطعه ای از نمونه ریه در کیسه نایلونی قرار داده شده و پس از شماره گذاری به آزمایشگاه باکتری شناسی ارسال شد. آزمایشات میکروب شناسی در مردآباد (بیمارستان آموزشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران) انجام شد و روش کار جدا سازی باکتری و مایکوپلاسما به قرار زیر بوده است:

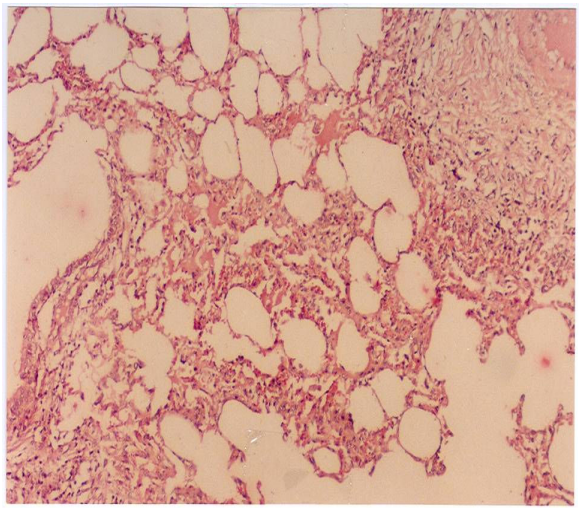
نمونه های باکتری شناسی از بافت ریه جدا و پس از قرار دادن در داخل لوله های حاوی محیط کشت مایع، بلافاصله به آزمایشگاه منتقل و در دو محیط آگار خوندار و محیط مک کانکی کشت داده می‌شدند. یکی از محیط های کشت آگار خوندار در انکوباتور ٣٧ درجه و دیگری در جار بی هوازی قرار داده می‌شد. ضمناً نمونه‌ها در محیط های مایع نوترینت براث و بیوگلیکولات هم قرار می‌گرفت. در صورت عدم رشد باکتری پس از ٤٨ ساعت، از محیط های مایع روی محیط های جامد دوباره انتقال داده و رشد پرگنه بررسی می‌گردید. اگر پس از ٢٤ ساعت باکتری رشد می‌کرد و پرگنه تشکیل می‌شد، توسط تست های کاتالاز، اکسیداز و کوآگولاز بررسی می‌شد و اگر پرگنه تشکیل نمی‌گردید، محیط به مدت ٢٤ ساعت دیگر در انکوباتور ٣٧ درجه گذاشته می‌شد و در صورت عدم رشد باکتری نتیجه منفی اعلام می‌گردید.در محیط مک کانکی اگر باکتری گرم منفی کشت داده می‌شد و نهایتاً برای نمونه روی محیط های تفریقی از قبیل TSI، اوره، سیمون سیترات و SIM برده می‌شد و تشخیص نهائی اعلام می‌گردید. در روش کشت مایکو پلاسما ابتدا نمونه‌ها در کنار شعله با پنس استریل از محیط ترانسپورت تامپون خارج شده و در مرحله بعدی در محیط P.P.L.O Broth کشت داده می‌شد. ابتدا به مدت ٤٨ ساعت در یخچال ٤ درجه قرار می‌گرفت و سپس به مدت ٤٨ ساعت در جار CO_2 قرار داده می‌شد. آنگاه مقداری از آن با پیپت استریل به روی محیط P.P.L.O.Agar کشت داده و به مدت ٤٨ ساعت دیگر در مجاورت جار CO_2 در اتو کلاو ٣٧ درجه منتقل می‌شد و سپس با بزرگنمایی ٤٠ میکروسکوپ بررسی شد. نمونه های مثبت گزارش می‌گردید، اما اگر نمونه‌ها رشد نمی‌کرد، مجدداً به مدت ٤٨ ساعت دیگر در مجاورت CO_2 در انکوباتور ٣٧ درجه قرار داده می‌شد و اگر باز هم باکتری رشد نمی‌کرد پاسخ منفی اعلام می‌گردید.

در روش کار قارچ شناسی، قسمتهایی از بافت که دارای ضایعه بودند را داخل هاون استریل با سرم فیزیولوژی مخلوط و آنرا همگن نموده، سپس جهت آزمایش میکروسکوپی مستقیم قطره ای از آن را روی لام گذاشته و پس از اضافه کردن KOH/DMSO با بزرگنمایی ٢٠ و ٤٠

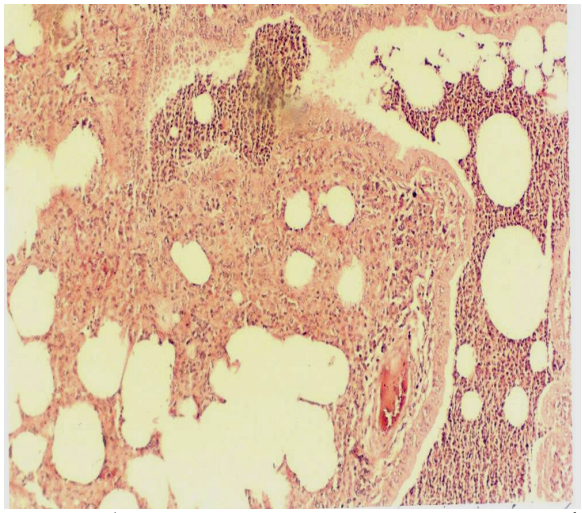
برای وجود عناصر قارچی مورد مطالعه قرار می‌گرفت. برای کشت، ۰/۱ سی سی از نمونه را در داخل پلیت محتوی محیط سابورو+ کلرامفنیکل (SC) بصورت خطی کشت داده و در حرارت ۲۸ درجه سانتیگراد به مدت یک هفته نگهداری می‌گردید. پس از بازرسی ظاهری ریه قطعه ای از نمونه ریه در ظروف شماره گذاری شده حاوی محلول فرمالین ٪۱۰ به آزمایشگاه آسیب شناسی ارسال می‌شد. بمنظور بررسی آسیب شناسی، هر نمونه با روش هماتوکسیلین و ائوزین (H&E) رنگ آمیزی می‌شدند. از بین آنها ۲۷ نمونه ریه که دارای آثار پاتولوژیک با ضایعه مشابه به پنومونی بینابینی بودند مورد بررسی قرار گرفتند(۳، ۲، ۱). ضمناً از نظر ضایعات انگلی به روش هیستوپاتولوژی جستجو برای مطالعه، تخم، لارو و یا انگل بالغ صورت می‌گرفت.

نتایج

با بررسی هیستوپاتولوژی از ۱۱۰ نمونه ریه، آثار پاتولوژیک با ضایعه پنومونی بینابینی در ۲۷ مورد دیده شد. ضایعات پاتولوژیک مشاهده شده عبارت بودند از التهاب و تورم برونشیولها و بافتهای اطراف آنها به همراه هیپرتروفی و هیپرپلازی اپیتلیوم آلوئولی و برونشیولی که بیشتر در نواحی قدامی- شکمی ریه‌ها ممشاهده می‌شدند. همچنین سلولهای تک هسته ای در دیواره آلوئولی منتشر بودند و سلولهای آماسی بیشتر از نوع نوتروفیل‌ها در داخل برونشیولها نیز دیده می‌شد(شکل۱و۲). نفوذ سلولهای آماسی در فضای بینابینی باعث اتساع آن و کوچکتر شدن فضای داخل آلوئولها گردیده بود که مشخص کننده پنومونی بینابینی می‌باشد. لازم به ذکر است که در بررسی قارچ شناسی و انگل شناسی هیچگونه عامل پاتوژن مشاهده نگردید. در بررسی باکتری شناسی این ۲۷ نمونه، از ۳ مورد (۱۱/۱ درصد) اشرشیا کلی (اشرشیا کلای)، ۲ مورد (۷/٤ درصد) کلستریدیوم، ۲ مورد پاستورلا همولیتیکا (۷/٤ درصد) و از ۲ مورد (۷/٤ درصد) مایکوپلاسما جدا گردید که باعث ایجاد برونکوپنومونی چرکی در ۵۱/۸ درصد موارد شده بود(شکل۱). ضمناً گونه مایکوپلاسماهای جدا شده در مرحله تعیین و تشخیص می‌باشد.



نگاره۱: افزایش بافت و سلولهای آماسی در فضای بینابینی و کاهش حجم داخل آلوئولهاو بروز یک کانون فیبروزه (گوشه تصویر بالا و سمت راست)



نگاره ۲: ضخیم شدن فضای بینابینی و تنگ شدن فضای داخل آلوئولها، نفوذ چرک در داخل آلوئولهاو برونشیولها (برونکوپنومونی چرکی) به همراه هیپرپلازی بافت پوششی جدار برونشیول ها

بحث

این مطالعه نشان داد که طیف نسبتاً وسیعی از باکتریها از جمله پاستورلا همولیتیکا، مایکوپلاسما، اشرشیا کلی (کلای) و کلستریدیوم نیز در بروز پنومونی بینابینی در گوسفندان در ناحیه مورد بررسی نقش دارند. در شرایط خاص کمپلکس های چند عاملی بیماری نیز می‌توانند ضایعات ریوی گوسفند را ایجاد نمایند که از آن جمله پنومونی های ملایم تا خفیف است که بندرت باعث مرگ می‌شوند. همچنین در بروز این شکل پنومونی عوامل مشترکی از قبیل عوامل محیطی و مدیریتی نیز دخالت دارند(۱۹، ۱٤، ۹، ۵).

در بعضی نمونه‌ها ضایعات پنومونی بینابینی در اثر حضور باکتری‌ها و هجوم سلول های آماسی چند هسته ای به برونکو پنومونی چرکی تبدیل می‌شوند که در این بررسی در ۵۱/۸ درصد موارد مبتلا به پنومونی بینابینی، این ضایعه مشاهده گردید. لازم به ذکر است که در بعضی موارد ممکن است این نوع پنومونی بینابینی در گوسفند تبدیل به برونکو پنومونی چرکی گردد (۱٤).

حضور باکتریها به هنگام مطالعات بالینی و کالبد گشایی و حتی هیستوپاتولوژی نقش عوامل اولیه را ممکن است

بپوشانند که در تشخیص و درمان باید مورد توجه قرار گیرد (۱٤، ۱۲، ۱)در تمامی موارد پنومونی بینابینی این مطالعه، وجود ضایعاتی از قبیل هیپرپلازی عضلات صاف جدار آلوئولها، هیپرپلازی بافت لنفاوی در فضا های بینابینی و بخصوص هیپرپلازی لنفوفولیکولار می‌باشد که غالباً بیانگر ضایعات بیماری مدی در گوسفند است. طبق یک بررسی انجام شده توسط ساسانی و همکاران، در ایران از مجموع ۱۱۰ نمونه ریه با ضایعات خفیف بیماری مدی تنها ۱۲ مورد (۱۰/۹ درصد) در بررسی سرولوژی با تست آزمایش الایزای غیر مستقیم (Indirect ELISA) مثبت ارزیابی شدند. این در حالی است که از مجموع ۱۵ نمونه ریه با ضایعات شدید بیماری مدی ۱۰ مورد (٦٦/۷ درصد) در بررسی سرولوژی با تست آزمایش الایزای غیر مستقیم (Indirect ELISA) مثبت ارزیابی شدند. این مطلب علاوه بر اینکه امکان حضور عامل بیماری مدی (ویروس MV) را در زمره عوامل ایجاد پنومونی بینابینی پیشرونده در ایران نشان می‌دهد، بیانگر هماهنگی و ارتباط نزدیک بین نتایج هیستوپاتولوژی و سرولوژی در بررسی بیماری های تنفسی بخصوص بنومونی بینابینی می‌باشد(۲). باکتری اشرشیا کلی (E.coli) فرصت طلب می‌تواند بعنوان فاکتور پیشرونده در تبدیل پنومونی ویروسی به نوع چرکی و کمپلکس برونکو پنومونی مطرح باشد(۱٤، ۱۲).

فهرست منابع

۱. ایرانمنش، ک.(۱۳۷٤) بررسی پاتولوژیک (ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک) و باکتریولوژیک و مایکوپلاسمایی ضایعات ریوی گوسفند در شمال استان خراسان. پایان نامه دوره دکتری عمومی دامپزشکی. شماره پایان نامه ۱۰۳.

۲. رجبی مقدم بیدختی، م.(۱۳۸۳) مطالعه اتیوپاتولوژی ضایعات کشتارگاهی بیماری مدی گوسفند در شهرستان مشهد. پایان نامه دوره دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه تهران. شماره پایان نامه ۲۹٦۸.

۳. ساسانی، ف.(۱۳۸۳) اصول کالبدگشایی و نمونه برداری. انتشارات دانشگاه تهران. چاپ اول. صفحات ۱۷ و ۲۰.

٤. کیوانفر، هـ(۱۳۷٦) ویروس شناسی دامپزشکی(بخش بیماریها). تالیف: ف.ج.فنر و همکاران. انتشارات دانشگاه تهران. صفحات ۲۰۷- ۲۰٤)

5.Adehan, R.K; Ajuwape, A.T.P; Adetosoye, A.I; Alaka, O.O, (2005). Characterization of Mycoplasmas isolated from pneumonic lungs of sheep and goats, Small Ruminant Reasearch , Article in Press, Corrected Proof, Abst.

6.Alley, M.R, (1991). Pneumonia in sheep. Vet Annual (31), black well scientific

publications, Pp: 51- 58.
7.Brako, E.E; Fulton, R.W; Nicholson, S; Ambborski, G.F, (1984). Prevalence of BHV-1, BVD, PI-3, GRSV, BL, BTV antibodies in sheep. American Journal of Veterinary Research ,45 (4), Pp: 813- 816.
8.Deptula, W; Stosik, M, (1992). Chosen parameters of nonspecific and specific immunity in sheep naturally infected with parainfleunza-3, Adenovirus-5 and syncytial virus, Med.Vet, 48 (11). Pp: 499-501.
9.Gharagozlou, M.J., Tabatabayi, A. H., Forci, M., (1986). Pathology of ovine subacute to chronic pneumonia associated with mycoplasma arginini in Iran; Studies and Researches in Veterinary Medicine. 1(1) Pp: 25-31.
10Giauuffret, A; Russo, P., (1974). Study of a virus isolated from a pneumonic lesion in a lamb, recueil de. Med.Vet, 150 (9), Pp: 801-806.
11.Ibu, J; Obi, T.U., (1993). Parainfluenza type 3 virus infection of sheep in northern Nigeria. Bulletin of Animal Health and Production in Africa, Abst. 41(3), Pp: 169-171.
12.Jubb, K.V.F; Kennedy P.C, (1993). Pathology of domestic animals. Vol. (2). Academy Press, I.N.C. 3rd Edition. Pp: 453, 571-575, 587-589, 597-692, 632-66.
13.Martin, W.B; Aitken, I.D, (2000). Diseases of sheep, 3rd edition, black well publishing, Pp: 176- 180, 194.
14.McGavin, M. D., Carlton, W. W., Zachary, J.F. (2001). Thomson's Special Veterinary Pathology. 3th. Ed. Mosby.P p: 175-176, 422.
15.Mollerberg. L; Jacobsson, S.O, (1972). Chlamydia infections in sheep. Sv.Vet, 24 (10), Pp: 321- 329.
16.Pugh, D.G, (2002). Sheep & Goat medicine. 1st Edition, W.B. Saunders Company, Pp: 14.
17.Sizov, I; Zirkov, I; (1988). A serological survey of lambs and sheep for viruses of respiratory tract, Vet.Sb. 86 (5), Abst. Pp: 37- 39
18.Sullivan, N.D., (1973). A proliferative Interstitial pneumonia of sheep, associated with mycoplasma Infection. Aust. Vet. J.49, Pp: 63-67.
19.Sullivan, N.D., (1973). A proliferative interstitial pneumonia of sheep. Aust. Vet. J. 51, Pp: 65-67.