Ogata, M., J. Watabe, and K. Koshimizu. (1974). Classification of Acholeplasma isolated from horses. Jap. J. of vet. Sci. 36 : 43.

Watabe, J., and M. Ogata. (1979). Studies on classification of Acholeplasma isolated from horses, cattle and abattoir sewage. Jap. J. Vet. Sci. 41 : 91 -17.

Windsor, G. D. (1973). The isolation of mycoplasma from horses. Vet. Rec. 93 : 593.

ISOLATION OF MYCOPLASMAS FROM EQUINE IN BAGHDAD AREA

Abdul S.Al-Safar and Abdul J.N.Al-Shammari, Microbiology Dept. College of Veterinary Medicine, Al-Ameriyah, Baghdad, Iraq

SUMMARY

Out of 225 specimences taken from nasal, Vaginal, eye swabs, milk synovial fluid and from internal organsof horses. Twelve isolates were recovered as follows 9 isolates from nasal swabs, 3 isolates from vaginal swabs. No mycopleasma isolates were recovered from milk and internal organs. All isolates have been tested for thier reversion to bacterial form. These isolates were purified and biochemical characterized. Six isolates were fermented glucose, two isolates were diaminted arginine and non of these isolates did reduced tetrazolium. Six of these isolates were resistant to digitonin while the rest were sensitive.

Fabricant, J., and E. A. Ferundt. (1967). Importance of extension and standardization of laboratory tests for the identification and classification of mycoplasma. Annal. N. Y. Acad. Sci. 143 : 50.

Freundt, E. A. (1982). Laboratory methods used in diagnosis of CBPP, ccpp. and CRD. Symposium on contagious pleuropneumon ia in cattle, Sheep and goats, and the CRD in chicken. Khartoum, Sudan 1982. Sponsored by the federation of arab councils for scientific reserch.

Ito, S. (1960). Equine mycoplasmas. by R. M. Lemcke. Cited in " The mycoplasmas 1979 (J. G. Tully, and R. F. Whitcomb, eds). Volume. II, Page 177 - 189. Academic press, N. Y.

Kirchhoff, H. (1978 a). Acholeplasma equifetale and Acholeplasma hippikon, two new species from aborted horse foetuses. Int. J. Syst. Bacteriol. 28 : 76 - 81.

Kirchhoff, H. (1978 b). Mycoplasma equigenitalium, anew species from the cervix region of mare. Int. J. Syst. Bacteriol. 28 : 496 - 502.

Kirchhoff, H., E. Deegen, R. Zeller, and W. Floer. (1972). Nachweis von mycoplasma in Luftsack und pharynx von pferden mit akuten Erkankungen der Respiration sorgane. Deutche Tierartzliche Wochenschrift. 79 : 465.

Kirchhoff, H., R. Zeller, and W. Floer. (1974). Neue P spezies der Fam. Acholeplasmataceae und der Fam. Mykoplasmataceae bei pferden. Zentralblatt fur veterinarmedizin B. 21 : 207.

Krabisch, P., M. Kirchhoff, and J. F. V. Lepel. (1973). Isolation of mycoplasma from genital mucosa of mares. Deutche Tierartzliche Wochenschrift. 21 : 493 - 495. Cited in Vet. bull., (1974). 44. Abst. No : 980.

Leach, R. H. (1973). Further studies on classification of bovine strains of mycoplasmatales, with proposals for new species, A. Modicum and M. Alkalescens. J. Gen. Microbiol. 75 : 135.

البايوكيميائية بالنسبة لانواع المايكوبلازما المختلفة المعزولة من الخيول ومع هذا فقد اعطت العتر المعزولة من جنس المايكوبلازما نتائج بايوكيميائية مشابهة الى M. equiphrangis الموصوفة من قبل (1975) Allam & Lemche. وبصورة عامة لا يمكن ان نجزم بالنوع ما لم تكن هناك دراسة تقوم بتحديد انواع الاجناس المعزولة باستعمال طرق سيرولوجية .

يعتبر عزل جراثيم المايكوبلازما من الخيول هذا هو الاول من نوعه في العراق، وبالامكان اجراء دراسات اخرى للعتر المعزولة لتوصيفها سيرولوجيا ومن دراسة امراضيتها وملاحظة تأثيرها على الحالة الصحية للخيول.

References

Al- Aubaidi, J. M., and J. Fabricant. (1968). Techics for the isolation of mycoplasma from cattle. Cornell Vet. 58: 555.

Al- Aubaidi, J. M., and J. Fabricant. (1971a) Characterization and classification of bovine my mycoplasme. Cornell Vet. 61, 490 - 518.

Al- Aubaidi, J. M., and J. Fabricant. (1971 b). Methods for purification of mixed cultures of mycoplasma. Cornell Vet. 61: 559 - 572.

Allam, N. M., D. G. Powell, B. E. Andrews, and R. M. Lemcke. (1973). The isolation of myooplasma species from horses. Vet. Vet. Rec. 39: 402.

Allame, N. M., and R. M. Lemcke. (1975). Mycoplasma isolated from the respiratory tract of horses. J. Hyg. Camb. 47: 385 - 407.

Al- Shammari, A. J. N., and J. M. AL- Aubaidi 1977. Occurrence of Caprine and ovine Mycoplasmas in Iraq. Iraqi Med. J. 25:38 - 44.

Beller, K. (1944). Equine mycoplasmas. by R. M. Lemcke. Cited in "The mycoplasmas. 1979 "(J. G. Tully, and R. F. Whitcomb, eds). Volume. II, Page 177 -189. Acadmic Press, N. Y.

الخارجية باتجاه البلعوم والقصبة الهوائية، وان المسحات المأخوذة من الانف لا تعطي الصورة الحقيقية لانتشار هذه الكائنات في الخيول. في حين تأتي نتائجنا مطابقة الى النتائج التي توصلت لها (1973) Allam er al. حيث عزلت (9) عتر من المايكوبلازما من مجموع (280) مسحة انفية لخيول مريضة واخرى سليمة ظاهريا، وكانت اغلب العتر المعزولة هي من جنس المايكوبلازما، بينما وجد (1974) Ogata et al. انه من مجموع (110) عترة من المايكوبلازما كانت هناك (102) عترة تمثل جنس الاكولي بلازما، ويأتي هذا مطابقا لما توصلنا اليه من حيث الجنس، حيث ظهر ان (6) من العتر المعزولة خلال هذه الدراسة هي من جنس الاكولي بلازما، في حين هنالك (2) عترة فقط من جنس المايكوبلازما.

لقد اظهرت نتائج الاختبارات البايوكمياوية وكما موضح في الجدول رقم (3) ان (6) من العتر المعزولة في هذه الدراسة قد خمرت سكر الكلوكوز في نفس الوقت لم تكن لها القدرة على نزع الامينيات من الارجنين، بينما اظهرت العترتين الاخرى قابلية على نزع الامينيات من الارجنين ولم تستطيع تخمير سكر الكلوكوز هذا ولم تظهر اى من العتر المعزولة قابلية على اختزال التترازوليوم. ام في اختبار الحساسية للدجتونين فكانت جميع العتر مقاومة ما عدا عترتين كانت حساسة لهذا الفحص.

ان اغلب انواع الاكولي بلازما تخمر سكر الكلوكوز، وليس لها القابلية على نزع امينات من الارجنين (Allam & Lemche 1975) و (Watabe & Ogata 1978) كذلك فان انواع جنس الاكولي بلازما تكون مقاومة للدجتونين ولكن في نفس الوقت اغلب انواع الاكولي بلازما لها القدرة على اختزال التترازوليوم ما عدا بعض عتر A. laidlawii وكذلك كل من A. quifetale ، A. hippikon (Kirchhoff 1978)

وبصورة عامة في اختبار اختزال التترازوليوم وكما اوضحه Al- Aubaidi and Fabricant (1971)، فانه يجب استعمال اكثر من وسط زرعي لهذا الاختبار ، وأحسنهم هو وسط مرق نقيع لحم الارانب (Rabbit meat infusion broth) اما بالنسبة للعتر الحساسة لفحص الديجوتونين والتي تمثل جنس المايكوبلازما فلا يمكن مقارنتها وذلك لتنوع نتائج الاختبارات

باربع محاولات، استخدم في كل محاولة نوع واحد او اكثر من اوساط المرق الزرعية .

ومما تقدم يظهر ان العتر المعزولة قد نمت على اوساط زراعية معينة دون غيرها، وهذا بالطبع ليس دليلا قاطعا على ان العتر المعزولة تفضل النمو على هذا الوسط الزرعي دون غيره، لأن ذلك يعتمد على عوامل عديدة منها طبيعة العينة، ومكان اخذ المسحة. ولكننا لاحظنا ان وسط المرق الزرعي (هايفلك المحور) لا يصلح للعزل الابتدائي للمايكوبلازما من الخيول، وذلك لان نسبة حدوث التلوث فيه عالية، لقلة محتوياته من مثبطات نمو البكتريا والفطريات.

اما بالنسبة لعينات المهبل فقد استعمل نوعين من اوساط المرق الزرعية وهما وسط المرق الزرعي رقم (II) و وسط المرق الزرعي رقم (IV) وذلك لعزل المايكوبلازما من مسحات مهبلية، هذا وقد تم عزل (3) عتر من هذه الكائنات.

ومن خلال محاولة عزل المايكوبلازما من الخيول لاحظنا ان هذه الكائنات قد عزلت من خيول ظهرت عليها اعراض تنفسية واضحة ومن حالات اخرى سليمة ظاهريا. فقد كانت (4) عتر من مجموع العتر المعزولة من مسحات الانف قد اخذت من خيول ظهرت عليها اعراض واضحة تراوحت من الرشح الى التهاب القناة التنفسية المصحوب بارتفاع درجة الحرارة والطرح الانفي القيحي، كما عزلت عترة واحدة من فرس مصابة بمرض السراجة مصحوبة باعراض تنفسية وطرح انفي تقيحي، ومن هذا نستطيع القول ان المايكوبلازما في الخيول هي كائنات انتهازية تظهر ونستطيع عزلها عند اصابة الحيوان باي مرض من شأنه ان يقلل مقاومته ويضعف قابليته المناعية. اما في حالة العتر المعزولة من مسحات المهبل فقد كانت مأخوذة من افراس سليمة ظاهريا ولم يكن هنالك اي علامة مرضية او باثولوجية واضحة على المهبل ولكن لا يفوتنا ان نذكر بان هذه الافراس مستخدمة لغرض السباق ولم يسبق لها ان استخدمت لاغراض التسفيد والولادة.

يرجع قلة عدد العتر المعزولة الى مكان اخذ المسحة، فقد جمعت مسحات البحث من الغشاء المبطن للانف في حين ذكر (1973) Windser. ان نسبة عزل المايكوبلازما من الجهاز التنفسي للخيول تزداد كلما ابتعدنا عن فتحة الانف

جدول رقم (3) يوضح نتائج الاختبارات البايوكيمياوية للعتر المعزولة

رقم العينة	مصدر العينة	اختبار الكلوكوز	اختبار الارجنين	اختبار التترازوليوم	اختبار الدجتونين
SFV1	مسحة مهبل	+	–	–	م*
SFV2	مسحة مهبل	+	–	–	ح**
SFN1	مسحة انف	+	–	–	م
SFN2	مسحة انف	–	+	–	م
SFN3	مسحة انف	+	–	–	م
SFN4	مسحة انف	–	+	–	م
SFN5	مسحة انف	+	–	–	م
SFV3	مسحة مهبل	+	–	–	ح

* م = مقاومة للدجتونين.

** ح = حساسة للدجتونين.

المناقشة

تم عزل (12) عترة من المايكوبلازما من مجموع (225) عينة اخذت من الخيول وقد اخذت العينات على شكل مسحات من الانف والمهبل والعين وعينات من الحليب وعينات من بعض الاعضاء الداخلية والسوائل الجسمية وذلك من خيول مريضة واخرى سليمة ظاهريا.

اجرى فحص الارتداد الى الشكل البكتيري حسب طريقة (Leach 1973) على جميع العتر المعزولة ، فاظهرت نموا مايكوبلازميا لا علاقة له بجراثيم البكتريا، هذا وفقدت (4) من مجموع العتر المعزولة اثناء اعادة عزلها بعد الحفظ في المجمدة على درجة (20 –) درجة مئوية.

استعمل في محاولة العزل الابتدائي للمايكوبلازما من الخيول خمسة انواع من اوساط المرق الزراعية، وجرت عملية عزل المايكوبلازما من مسحات الانف

التنفسية المصحوب بارتفاع درجة الحرارة، وعترة واحدة عزلت من فرس مصابة بمرض السراجة (Epizootic lymphangitis) اما العتر الاربعة الباقية فقد كانت سليمة ظاهريا.

لم نستطيع عزل كائنات المايكوبلازما من عينتي حليب جمعت من افراس مصابة بالتهاب الضرع، وكذلك لم نستطيع عزل المايكوبلازما من ثلاثة مسحات اخذت من خيول مصابة بالتهاب ملتحمة العين، وايضا لم تعزل المايكوبلازما من الاعضاء الداخلية والسائل الزلالي والسائل حول القلب لثلاثة امهار نفقت واجرى عليها الفحص التشريحي بالرغم من استعمالنا لجميع انواع اوساط المرق الزرعية السالفة الذكر. (جدول رقم 2)

لقد نميت جميع العتر المعزولة على نوع واحد من الاوساط الزرعية وهو الوسط الزرعي رقم II، هذا وقد تم تنقية جميع العتر المعزولة حسب طريقة التقاط المستعمرة الواحد ولثلاثة مرات متتالية واظهرت هذه العتر درجة من النقاوة حيث ان كل عينة كانت متكونة من مجموعة متجانسة من مستعمرات المايكوبلازما تبعا لحجمها وشكلها، ولم تظهر اى عترة من العتر المعزولة قابلية الاتداد الى الشكل البكتيري وهذا يعني ان العتر المعزولة تعود الى صنف المولیکیوتس وليس لها علاقة بجراثيم البكتريا.

الصفات البايوكيمياوية :

الجدول رقم (3) يوضح الصفات البايوكيمياوية حيث خمرت ستة من العتر المعزولة سكر الكلوكوز وهذه العتر هي (SFV1) و (SEV2) و (SFV3) والتي تمثل عتر معزولة من مسحات المهبل وكذلك (SFN1) و (SFN3) و (SFN5) والتي تمثل عتر معزولة من مسحات اخذت من الانف. واظهرت عترتين من المايكوبلازما المعزولة قابليتها على نزع الامينات من الارجنين وهذه العتر هي (SFN2) و (SFN4) والتي تمثل عتر معزولة من مسحات الانف، كما اعطت جميع العتر المعزولة نتيجة سالبة في اختبار اختزال التترازوليوم وذلك بالطريقتين الهوائية واللاهوائية واظهرت نتائج فحص الدجتونين ان عترتين فقط من االعتر المعزولة كانت حساسة للدجتونين وهذه العتر هي (SFV2) و (SFV3) وقد تراوحت دائرة منع النمو من (3.5-5) مليمتر، في حين كانت بقية العتر المعزولة مقاومة لهذا الفحص.

تم عزل (9) عتر من كائنات المايكوبلازما من مجموع (158) مسحة اخذت من انف الخيول كما موضح في الجدول رقم (2) وقد كانت (5) عتر منها من خيول ظهرت عليها اعراض تنفسية كالرشح Rhinitis, والتهاب القناة

جدول رقم (2) يوضح نتائج العزل الابتدائي لكائنات المايكوبلازما من الخيول

مصدر العينة	العدد الاجمالي للعينات	نتائج العزل الموجبة	نتائج العزل السالبة	الملاحظات
مسحة من الانف	158	9	149	فقدت (4) عتر عند اعادة زرعها بعد الحفظ
مسحة من المهبل	47	3	44	
مسحة من العين	3	0	3	
عينة حليب	2	0	2	
عينة من السائل الزلالي	3	0	3	
عينة من السائل حول القلب	3	0	3	
عينة من رئة مهر	3	0	3	
عينة من كبد مهر	3	0	3	
عينة من طحال مهر	3	0	3	
المجموع	225	12	213	

محاولة نوع او اكثر من انواع المرق الزرعي المذكورة سابقا وكما موضح في الجدول رقم (1)

جدول رقم (1) يوضح العتر المعزولة على انواع الاوساط الزرعية المستعملة

رقم العينة	انواع الاوساط الزرعية				
	الوسط الزرعي رقم II	الوسط الزرعي رقم CP	الوسط الزرعي رقم IIC	الوسط الزرعي رقم IV	الوسط الزرعي Modified Hayflick
SFVI	+	لت	لت	+	لت
SFV2	+	لت	لت	+	لت
SFN1	+	+	+	–	–
SFN2	+	لت	+	لت	لت
SFN3	لت	+	لت	لت	لت
SFN4	لت	+	–	لت	–
SFN5	لت	+	–	لت	–
SFV3	+	لت	+	لت	لت

لت = لم تستعمل.

العبيدي (Al – Aubaidi 1971 b) يحتوي الوسط رقم IV على 0.2 بالمائة من محلول الحامض النووي بالاضافة الى محتويات وسط رقم II

(Al– Aubaidi & Fabricant 1968)

وحضر وسط هايفلك المحورحسب طريقة فرويندت (Freundt 1982)

طرق توصيف العزلات:

استعملت الطرق المعروفة في توصيف العزلات بالطرق الكيماحيوية (Al– Aubaidi & Fabricant 1971، Al– Shammari & Al– Aubaidi 1977) والتي تشمل تخمر الكلوكوز واختزال التترازوليوم ونزع الامينات من الارجنين واختبار الحساسية للدجيتونين. كما فحصت العزلات لظاهرة الارتداد للشكل البكتيري (Leach 1973)

جمع النماذج:

تم جمع العينات من الخيول الموجوده في اسطبلات نادي الفروسية العراقي في بغداد وكلية الشرطة والكلية العسكرية وكذلك من الخيول التي جلبت الى المستشفى التعليمي في كلية الطب البيطري واظهرت بعض الخيول اعراض مرضية من الناحية السريرية بينما كانت العينات الاخرى من خيول سليمة ظاهريا. أخذت العينات بصورة معقمة وذلك باستعمال مسحات من الانف والمهبل والعين ومن الحليب الاعضاء الداخلية لامهار اجرى لها فحص تشريحي.

تنقية المستعمرات:

تمت عملية تنقية المستعمرات بطريقة التقاط المستعمرة الواحدة لثلاث مرات متتالية (3 X cloning) والتي تعتمد على شكل وحجم مستعمرات المايكوبلازما (Al– Aubaidi and Fabricant ، 1971 b)

النتائج

تم عزل (12) عترة من المايكوبلازما من مجموع (225) اخذت على شكل مسحات من الانف والمهبل والعين، وعينتين من الحليب وبعض النماذج اخذت من الاعضاء الداخلية والسوائل الجسمية لثلاثة امهار بعد نفوقها لاسباب مختلفة.

واستعملت في محاولة العزل الابتدائي للمايكوبلازما خمسة انواع من الاوساط الزرعية، وجرت عملية جمع النماذج على اربعة محاولات، استعمل في كل

المقدمة

المايكوبلازما احياء مجهرية واسعة الانتشار، قد تكون موجودة بصورة طبيعية في الجهاز التنفسي العلوي لاغلب الحيوانات او عضو في الجسم الحيوان. شغلت مايكوبلازما الخيول جزء قليل من اهتمام الباحثين على مدى الاعوام الماضية باستثناء بعض البحوث او التقارير التي تلي حالات انية كأن تكون حالات اجهاض في الافراس او ماشابه ذلك. تم عزل المايكوبلازما من قبل Beller عام 1944 و Ito عام 1960 من الجهاز التناسلي والتنفسي للخيول ولم يذكر الاخير اية تسمية لعزلاته وانما ذكر بانها من النوع الذي لا يحتاج الى الستيرول في نموه. وفي سلسلة بحوث تمكنت Kirchhoff وجماعتها في الاعوام 1972 و 1980 و 1978 من عزل المايكوبلازما من البلعوم والتجويف البلعومي ومن عنق الرحم والاجنة المجهضة، ولقد اجرى لها توصيف بايوكيمياوي وسيرولوجي وقد ظهر انها A. laidlawii وتسجيل انواع جديدة مثل A. equifetale و A. hippikon و M. equigentialium و M. equipharyngis كما تمكنت Allam وجماعتها 1973 و Allam و Lemcke عام 1975 من عزل A. laidlawii و A. ocui واجناس اخرى من المايكوبلازما من خيول ظهرت عليها اعراض واختلاجات تنفسية واخرى سليمة ظاهريا. كذلك تمكن Windser عام 1973 من عزل المايكوبلازما من 21 حصان، اثنان منهم ظهرت عليه اعراض تنفسية اما البقية فكانت سليمة ظاهريا. وفي دراسة اخرى ذكر Krabisch وجماعته عام 1973 انهم تمكنوا من عزل 21 عترة من جنس المايكوبلازما من مجموع 404 مسحة اخذت من عنق الرحم للافراس.

المواد وطرق العمل

الاوساط الزراعية :

تم استخدام خمسة انواع من الاوساط الزراعية في العزل الابتدائي للمايكوبلازما وهي الوسط رقم II ورقم IV ورقم IIC و وسط CP و وسط هايفلك المحور. حضر الوسط رقم II حسب طريقة فايبركنت و فروينت (Fabricant and Freundt 1967) والوسط IIC يحتوي على نفس المكونات عدا ان مصل الخيول يبدل بمصل الخنازير. اما الوسط CP والذي حضر حسب ما ذكره

عزل المايكوبلازما من الخيول في منطقة بغداد *

عبد السلام عبد الرزاق الصفار وعبد الجبار ناصر الشمري، فرع الاحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة بغداد

الخلاصة

تم عزل (12) عترة من كائنات المايكوبلازما من مجموع (225)عينة اخذت من مسحات الانف والمهبل والعين وعينات من الحليب ومن بعض الاعضاء الداخلية والسوائل الجسمية من الخيول وكانت (9) عتر منها من مسحات الانف و (3) عتر من مسحات المهبل في حين لم تعزل المايكوبلازما من مسحات العين وعينات الحليب والاعضاء الداخلية والسوائل الجسمية . اعطت جميع العتر المعزولة نموا مايكوبلازميا واضحا في اختبار الارتداد الى الشكل البكتيري، ونقيت العتر المعزولة بطريقة التقاط المستعمرة الواحدة ولثلاث مرات متتالية ثم درست صفاتها البايوكيميائية كتخمر الكلوكوز ونزع الامينات من الارجنين واختزال كلوريد التترازوليوم وكذلك اختبار الحساسية للدختونين، فاظهرت (6) من العتر المعزولة قابليتها على تخمر الكلوكوز، وعترتين اظهرت قابلية على نزع الامينات من الارجنين في حين لم تختزل اى عترة مادة كلوريد التترازوليوم، وفي اختبار الحساسية للدجتونين كانت (6) من العتر المعزولة مقاومة لهذا الفحص في حين كانت العتر الاخرى حساسه .

---

* مستل من اطروحة الطالب عبد السلام عبد الرزاق الصفار كجزء من متطلبات نيل شهادة الماجستير في الاحياء المجهرية من كلية الطب البيطري، جامعة بغداد .