الجمهورية العربية السورية
جـــــــامعة حمـــــــاة
كليـــــة الطـــــب البيطري
قســـــــم الأحيـاء الدقيقة

# عزل الوتدية السلية الكاذبة وتحديدها عند الأغنام والماعز في محافظة حماة

رسالة أعدت لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية إختصاص الأحياء الدقيقة

إعداد الطبيب البيطري
محمد خلف الفتو

بإشراف
الدكتور أشرف الصالح
مدرس الجراثيم ـ قسم الأحياء الدقيقة
كلية الطب البيطري – جامعة حماة

1444هـ-2023

**الأستاذ الدكتور عميد كلية الطب البيطري**

بعد الاطلاع على الأطروحة المعدلة من رسالة الماجستير المقدمة من قبل المرشح لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية لطالب الدراسات العليا محمد خلف الفتو في قسم الأحياء الدقيقة – اختصاص (أحياء دقيقة) بعنوان:

## " عزل الوتدية السلية الكاذبة وتحديدها عند الأغنام والماعز في محافظة حماة "

نفيدكم بأن الأطروحة بشكلها الحالي قد استوفت التعديلات التي أشارت لها لجنة الحكم والمناقشة التي عقدت يوم الأحد بتاريخ لمناقشة الرسالة، ونعتبر أن الرسالة بهذه الصورة جاهزة للطباعة بشكلها النهائي.

يرجى التكرم بالاطلاع

| عضـــــو | عضـــــو | رئيس اللجنة |
|---|---|---|
| أ. د. سامر ابراهيم | د. أشرف الصالح | أ. د. عبد الكريم قلب اللوز |

**رئيس قسم الأحياء الدقيقة**

**أ. د. عبد الكريم الخالد**

مصدق

**عميد كلية الطب البيطري**

**أ.د. عبد الكريم قلب اللوز**

**الأستاذ الدكتور عميد كلية الطب البيطري**

نحيطكم علماً بتدقيق رسالة الماجستير لطالب الدراسات العليا محمد خلف الفتو من طلاب كلية الطب البيطري في جامعة حماة والتي أُوعدت لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية اختصاص الأحياء الدقيقة، والموسومة بعنوان:

**عزل الوتدية السلية الكاذبة وتحديدها عند الأغنام والماعز في محافظة حماة**

وتم التأكد من خلوها من الأخطاء الإملائية والنحوية، وهي صالحة للنشر.

المدقق اللغوي

ختام العزي

# شهادة

أشــهد بأن العمل الموصــوف في هذه الرســالة هو نتيجة بحث قام به المرشــح الطالب الطبيب البيطري محمد خلف الفتو تحت إشــراف الدكتور أشــرف الصــالح من كلية الطب البيطري في جامعة حماة وأي رجوع إلى بحث أخرفي هذا الموضوع موثق في النص.

| المرشح | المشرف العلمي |
| --- | --- |
| محمد خلف الفتو | د. أشرف الصالح |

## Certificate

It is hereby Certificated that the work described in the present thesis is resulted of the author's own investigation st. Mohammad Al Fatto
. under supervision of the Dr. Ashraf ALSALEH at the Faculty of Veterinary Medicine, Hama university, and any reference to other researches work has been acknowledge in the text.

| Canditate | Supervisors of the study |
| --- | --- |
| Mohammad Al Fatto | Dr. Ashraf ALSALEH |

Date / / 2023

# تصريح

أصرح بأن البحث والذي هو بعنوان:

**(عزل الوتدية السلية الكاذبة وتحديدها عند الأغنام والماعز في محافظة حماة)**

لم يسبق أن قبل للحصول على أي شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على شهادة أخرى.

المرشح

**محمد خلف الفتو**

التاريخ / /2023

# DECLARATION

It is hereby declared that this work

**Isolation and Identification of *Corynebacterium Pseudotuperculosis* of Sheep and Goats in Hama Governorate**

Has not been accepted already for any degree, nor is being submitted concurrently for any other degree

**Canditate**

Mohammad Al Fatto

Date / / 2023

# كلمة شكر

أخص بالشكر الجزيل جامعة حماة متمثلة بالأستاذ الدكتور رئيس الجامعة.
وهنا أعبر عن عميق امتناني إلى صاحب الفضل الأكبر بعد الله عز وجل في إنجاز هذه الرسالة الدكتور **أشرف الصالح** الذي غمرني بعنايته وعلمه وإرشاداته الثمينة فكان المثل الأعلى الذي يحتذى به.

والأستاذ الدكتور **سامر إبراهيم** نائب رئيس الجامعة الذي لم يأل جهداً في مد يد العون وتخصيص جزء مهم من وقته وعلمه الثمينين من أجل إنجاح هذا العمل.

أشكر إدارة كلية الطب البيطري متمثلة بعميدها الأستاذ الدكتور **عبد الكريم قلب اللوز** صاحب الأيدي البيضاء أدامه الله ذخراً لطلبة العلم والعمل

كما أشكر قسم الأحياء الدقيقة بجميع منتسبيه

والشكر الجزيل لرفاق الدرب طلاب الدراسات العليا عامر وحمام وإبراهيم ومنذر ومرهف.

**محمد خلف الفتو**

## الإهداء

- ❖ إلى المعلم الأول إلى نبي الرحمة إلى الحبيب المصطفى صل الله علية وسلم
- ❖ إلى والدي ووالدتي حفظهم الله
- ❖ إلى إخوتي واخواتي الأحبة ممن غمرني بالحب والعطاء
- ❖ إلى شريكة حياتي ورفيقة دربي زوجتي
- ❖ إإلى زهرة فؤادي وفلذة كبدي إبنتي
- ❖ إلى ينبوع العطاء الذي لا يعرف معنا النضوب أو الجفاف أستاذي
- ❖ إلى الأصدقاء الصادقين ممن عايشونا جهدنا وفرحنا وتعبنا
- ❖ إلى كلية الطب البيطري
- ❖ إلى قسم الأحياء الدقيقة
- ❖ إلى كل ما هو نقي وشريف في عالمنا

أهدي إليهم عملي المتواضع

محمد خلف الفتو

## فهرس المحتويات


| العنوان | الصفحة |
|---|---|
| **الفصل الأول – المقدمة** | |
| **1. المقدمة** | **2** |
| **1. 1. أهداف الدراسة** | **4** |
| **الفصل الثاني – الدراسة المرجعية** | |
| **2. 1. الوتدية السلية الكاذبة** | **6** |
| **2. 1. 1. تصنيف الوتدية السلية الكاذبة** | **6** |
| **2. 1. 2. الخواص الشكلية والتلوينية لجراثيم الوتدية السلية الكاذبة** | **6** |
| **2. 1. 3. الخواص المزرعية** | **7** |
| **2. 1. 4. الخواص الكيمياحيوية** | **7** |
| **2. 2. التهاب العقد اللمفاوية التجبني** | **8** |
| **2. 3. الإمراضية** | **9** |
| **2. 4. الوبائية** | **10** |
| **2. 4. 1. الانتقال والمقاومة** | **10** |
| **2. 4. 2. الإنتشار** | **12** |
| **2. 5. التشخيص** | **13** |
| **2. 5. 1. التشخيص الحقلي** | **13** |
| **2. 5. 2. التشخيص المخبري** | **14** |
| **2. 5. 3. التشخيص المصلي** | **15** |
| **2. 5. 4. التشخيص الجزيئي** | **15** |
| **2. 6. التحكم والمعالجة** | **16** |
| **2. 7. المسببات الجرثومية الأخرى للخراجات** | **19** |
| **الفصل الثالث – المواد وطرائق العمل** | |
| **3. مواد البحث وطرائقه** | **22** |
| **3. 1. المواد** | **22** |
| **3. 1. 1. العينات** | **22** |
| **3. 1. 2. الأجهزة والأدوات** | **22** |

| | |
|---|---|
| 3. 1. 3. الأوساط المزرعية المستخدمة | 24 |
| 3. 1. 4. المحاليل والمواد والكواشف المستخدمة | 25 |
| 3. 1. 4. 1. المحاليل المستخدمة | 25 |
| 3. 1. 4. 2. الكواشف المستخدمة | 25 |
| 3. 2. طرائق العمل | 26 |
| 3. 2. 1. تحضير المحاليل المستخدمة | 26 |
| 3. 2. 2. تحضير الأوساط المزرعية | 26 |
| 3. 2. 3. طريقة جمع العينات | 28 |
| 3. 2. 4. عزل وتحديد هوية الوتدية السلية الكاذبة | 28 |
| 3. 2. 4. 1. اجراءات زرع العينات ودراسة الخواص المزرعية والشكلية للوتدية السلية الكاذبة: | 28 |
| 3. 2. 4. 2. دراسة الخواص الكيمياحيوية للوتدية السلية الكاذبة | 29 |
| 3. 2. 5. التعرف الأولي على بعض الجراثيم المسببة للخراجات | 32 |
| 3. 2. 5. 1. تحديد هوية بعض الأنواع الجرثومية المسببة للخراجات | 32 |
| 3. 2. 5. 1. 1. عزل وتحديد هوية المكورات العنقودية الذهبية | 32 |
| 3. 2. 5. 1. 2. عزل تحديد هوية الاشريكية القولونية: | 34 |
| 3. 2. 6. اختبار الحساسية للمضادات الحيوية | 37 |
| الفصل الرابع – النتائج | |
| 4. النتائج | 40 |
| 4. 1. المشاهدات الحقلية | 40 |
| 4. 2. الفحص الإكلينيكي للقطعان المصابة | 40 |
| 4. 3. نتائج عزل الوتدية السلية الكاذبة | 42 |
| 4. 4. نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية | 48 |
| الفصل الخامس – المناقشة | |
| 5. المناقشة | 51 |
| الفصل السادس – الاستنتاجات والتوصيات | |
| 6. 1. الاستنتاجات | 57 |
| 6. 2. التوصيات | 58 |
| الفصل السابع – الملخص | |

| | |
|---|---|
| 7. 1. الملخص العرب | 60 |
| 7. 2. الملخص الإنكليزي | 61 |
| الفصل الثامن – المراجع | |
| 8. 1. المراجع العربية | 63 |
| 8. 2. المراجع الأجنبية | 63 |


## فهرس الجداول


| رقم الجدول | عنوان الجدول | الصفحة |
|---|---|---|
| 1 | بعض أنواع الوتديات مع العائل والمرض الذي تسببه | 6 |
| 2 | تصنيف الوتديات بواسطة الاختبارات الكيميا حيوية | 14 |
| 3 | عدد الحيوانات المصابة وعدد العينات | 22 |
| 4 | الأجهزة المستخدمة في معاملة العينات وفي الزرع الجرثومي | 22 |
| 5 | الأدوات المستخدمة في معاملة العينات وفي الزرع الجرثومي | 23 |
| 6 | مجموعة المضادات الحيوية المستخدمة في البحث | 23 |
| 7 | الأوساط المستخدمة في معاملة العينة عند الزرع | 24 |
| 8 | المحاليل المستخدمة في الدراسة | 25 |
| 9 | الكواشف المستخدمة في الدراسة | 25 |
| 10 | الاختبارات الكيمياحيوية للوتدية السلية الكاذبة | 31 |
| 11 | المضادات الحيوية المستخدمة في اختبار حساسية الوتدية السلية الكاذبة وأقطار التثبيط القياسية. | 38 |
| 12 | عدد ونسبة الحيوانات المشتبهة إصابتها بالتهاب العقد اللمفاوية التجبني وعدد الخراجات وتوضعها ونسبتها المئوية عند الأغنام والماعز المصابة | 40 |
| 13 | الجراثيم المعزولة من الخراجات عند الأغنام والماعز ومن الحيوانات المذبوحة في المسلخ ونسبة العزل لكل منها | 43 |
| 14 | عدد ونسبة عزولات الجراثيم المختلفة التي تم عزلها من العينات | 44 |
| 15 | عدد ونسبة عزولات الوتدية السلية الكاذبة في الأغنام والماعز الكبيرة والصغيرة ومن ذبائح المسلخ. | 44 |
| 16 | حساسية عزولات الوتدية السلية الكاذبة للمضادات الحيوية ونسبتها المئوية | 48 |

## فهرس الصور


| رقم الصورة | عنوان الصور | الصفحة |
|---|---|---|
| 1 | خراجات مختلفة عند الأغنام والماعز | 41 |
| 2 | خراج لعقدة لمفاوية مأخوذة من أغنام بعد الذبح في المسلخ | 42 |
| 3 | خواص الوتدية السلية الكاذبة المعزولة | 45 |
| 4 | الخواص المميزة للمكورات العنقودية الذهبية | 46 |
| 5 | الخواص المميزة للاشريكية القولونية | 47 |
| 6 | اختبار حساسية المضادات الحيوية على طبق موللر هنيتون الدموي بعد التحضين 24 ساعة على الدرجة 37 م°. | 49 |


## فهرس المخططات


| رقم المخطط | عنوان المخطط | الصفحة |
|---|---|---|
| 1 | مخطط لتصنيف العصيات إيجابية الغرام | 31 |
| 2 | مخطط تصنيف المكورات إيجابية الغرام | 33 |
| 3 | مخطط تصنيف عصيات سلبية الغرام | 36 |
| 4 | نتائج اختبار تحسس عزولات الوتدية السلية الكاذبة للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة. | 49 |

**فهرس الاختصارات**

| الاختصار | الاسم الانكليزي | الاسم العربي |
|---|---|---|
| **CLA** | **Caseous Lymphadenitis** | **التهاب العقد اللمفاوية التجبني** |
| **PLD** | **Phospholipase D** | **الفوسفولييباز د** |
| **PCR** | **Polymerase Chain Reaction** | **تفاعل البوليميراز المتسلسل** |
| **MR** | **Methyl Red** | **أحمر الميثيل** |
| **VP** | **Voges-proskauer** | **فوكس–بروسكاور** |
| **In** | **Indol** | **أندول** |
| **C** | **Citrate** | **السترات** |
| **HLY** | **Hemolysin** | **التحلل الدموي** |
| **CAT** | **Catalase** | **الكاتالاز** |
| **OXID** | **Oxidase** | **الأوكسيداز** |
| **GEL** | **Gelatin** | **الجيلاتين** |
| **MOT** | **Motility** | **الحركة** |
| **LAC** | **Lactose** | **لاكتوز** |
| **FRU** | **Fructose** | **فركتوز** |
| **MAL** | **Maltose** | **مالتوز** |
| **MAN** | **Mannose** | **مانوز** |
| **XLY** | **Xylose** | **إكزيلوز** |
| **SUC** | **Sucrose** | **سكروز** |
| **S** | **Sensitive** | **حساس** |
| **I** | **Intermediate** | **متوسط الحساسية** |
| **R** | **Resistance** | **مقاومة** |

# المقدمة والأهداف

# Introduction & Objectives

**1.المقدمة Introduction:**

تعد الثروة الحيوانية من أهم القطاعات الاقتصادية في سورية والتي يعتمد عليه الكثير من الافراد في معيشتهم، وتعد محافظة حماة من أكثر المحافظات السورية التي تتركز فيها الثروة الحيوانية. وتعد تربية الأغنام والماعز من أهم مصادر الثروة الحيوانية في سورية عامة وفي محافظة حماة خاصة، وتكمن هذه الأهمية في أنها تشكل مصدراً رئيسياً للغذاء بلحومها وحليبها وصوفها وجلودها كما أن تربية الأغنام والماعز ذات تكاليف منخفضة وذلك من خلال أعتمادها على التربية السرحية ونظام تغذية على بقايا المحاصيل الزراعية والنباتات والأعشاب البرية (Mathur and Dubey, 1994).

هناك العديد من المعوقات والمشاكل التي تعترض تربية الأغنام والماعز وتعد إصابتها بالأمراض الناجمة عن المسببات المرضية المختلفة ولا سيما الجرثومية من أكثر التحديات التي تسبب خسائر إقتصادية كبيرة تتمثل بنفوق الحيوانات وإنخفاض نسبة الإنتاج وصعوبة السيطرة على بعض الأمراض، كما أن تكاليف معالجتها العالية تزيد من الخسائر الاقتصادية (Jones and Collins, 1986).

إن التهاب العقد اللمفاوية التجبني (Caseous Lymphadenitis) هو أحد الأمراض الجرثومية التي تصيب قطعان الأغنام والماعز، يسبب هذا المرض المعدي والمزمن ظهور خراجات في العقد اللمفاوية السطحية والحشوية عند الحيوانات المصابة وينتقل هذا المرض إلى الحيوان السليم بشكل خاص بواسطة مقص جز الصوف الملوث بالعامل المسبب أو عن طريق الرعي في مراعي ملوثة وتحتوي على نباتات شوكية أو أي عامل يمكن أن يسبب جروح وخدوش في جلد الحيوان تهيئ دخول الجراثيم (Lavin *et al*., 2004) .

من السهل أن يصبح هذا المرض مستوطن في قطيع ما أو منطقة ما ويعود ذلك لعدة أسباب: أولها قدرة العامل المسبب على التواجد في البيئة لفترة طويلة لأن الخراجات السطحية والتي من الممكن أن تنفجر في المرعى مسببة تلوثه لفترة ليست بالقصيرة، بالإضافة إلى عدم الكشف عن المرض إلا بعد ظهور أعراضه المختلفة وصعوبة القضاء على المسبب لضعف استجابته العلاجية. تم الإبلاغ عن التهاب العقد اللمفاوية التجبني في العديد من البلدان، مثل البرازيل ونيوزلندا والولايات المتحدة وأستراليا وجنوب افريقيا وكندا ومصر والسودان والجزائر والاردن والسعودية والعراق وإيران

وماليزيا والهند بما في ذلك سورية ( Paton *et al.*, 2003; Connor, 2000; Wan-Choul *et al.*, 2015; Kumaresan *et al.*, 2018).

تعد جراثيم الوتدية السلية الكاذبة *Corynebacterium.psedotubercolosis* مسبب التهاب العقد اللمفية التجبني وهي عصيات إيجابية الغرام غير متحركة، غير متبوغة، يوجد انتفاخ بأحدى نهاياتها يعطيها شكل الهراوة والتي تنتظم باشكال متعددة، هذه الجراثيم قادرة على البقاء حية لفترة طويلة في الطبيعة بسبب بنية جدارها الخلوي، تعزل بزرعها على الاغار الدموي بالتللوريت وتظهر على شكل مستعمرات بيضاء كريمية محاطة بهالة تحلل دموي كامل وضيق بعد التحضين لفترة 72 ساعة، وهي ايجابية الكاتالاز وتخمر مجموعة من السكاكر دون اطلاق غاز مثل: الغلوكوز ومالتوز ولا تخمر اللاكتوز ولا السكروز،(Quinn *et al.*, 2005).

يتم تشخيص الوتدية السلية الكاذبة حقلياً عن طريق ملاحظة خراجات موجودة في العقد اللمفاوية السطحية تكون قاسية أو يخرج منها قيح مخضر (Brown and Olander, 1987). بينما في الشكل الحشوي لا يدلنا على الاشتباه بالإصابة سوى تدني الحالة الصحية للحيوان وانخفاض الإنتاج (متلازمة النعجة الهزيلة). أما مخبرياً فيتم التشخيص من خلال الزرع الجرثومي والذي يتم على منبت الآغار الدموي المضاف له تيللوريت البوتاسيوم، أن التصنيف الدقيق لجراثيم الوتديات يعتمد على إجراء الاختبارات الكيمياحيوية وبشكل خاص قدرتها على تخمير السكاكر المختلفة (Quinn *et al.,* 2011).

على الرغم من إمكانية التشخيص المصلي والجزيئي والذي يعد طريقة فعالة ودقيقة وسريعة لتشخيص الإصابة بالوتدية السلية الكاذبة إلا أنه يبقى التشخيص بدراسة الخواص الشكلية والتلوينية والمزرعية والكيمياحيوية معتمد ودقيق النتائج ( Quinn *et al.,* 2011; huerta, 2013; Baird and Fontaine, 2007; Guimaraes *et al.,* 2011).

على الرغم من أن عزولات الوتدية السلية الكاذبة حساسة لمعظم المضادات الحيوية في المختبر إلا أنه عادة ما يكون العلاج غير فعال في الخراجات المزمنة بسبب تغليف الجراثيم بمكونات الخراج، وعموما المعالجة طويلة الأمد وقد تستمر عدة أسابيع باستخدام المضادات الحيوية (Glenn and Karen, 2005).

### 1. 1. أهداف الدراسة Objectives:

تكتسب هذه الدراسة أهميتها لكونها تسلط الضوء على التهاب العقد اللمفاوية التجبني كمرض معدي يسبب خسائر إقتصادية فادحة تتجلى بانخفاض إنتاج اللحوم بتدني جودة الذبيحة وإتلاف الأجزاء المصابة وإنخفاض قيمة الصوف والجلد في الحيوانات المصابة وضعف الكفاءة التناسلية ومن جهة أخرى تعد هذه الدراسة مهمة إذ لا توجد أي دراسة حقلية أو مخبرية موثقة – على حد علمنا– عن هذا المرض أو عن الوتدية السلية الكاذبة في سورية بشكل مباشر باستثناء دراسة عامة عن مسببات الخراجات السطحية أجريت من قبل (الحوالة،2011).

بناءً على ما تقدم فإن هذه الدراسة تهدف إلى:

1. عزل جراثيم الوتدية السلية الكاذبة من عينات الأغنام والماعز.
2. تحديد هوية جراثيم الوتدية السلية الكاذبة بالأعتماد على الإختبارات الكيمياحيوية.
3. دراسة حساسية جراثيم الوتدية السلية الكاذبة المعزولة اتجاه بعض المضادات الحيوية الشائعة الإستخدام.

# الدراسة المرجعية

# Literature review

### 2. 1. الوتدية السلية الكاذبة *pseudotuberculosis* Corynebacterium:

#### 2. 1. 1. تصنيف الوتدية السلية الكاذبة:

تم عزل الوتدية السلية الكاذبة من الرعام البقري في عام 1888 م من قبل نوكارد، وفي عام 1894 م، كان بريز أول من وصف هذه الجراثيم، وتم تسمية هذه الجراثيم آنذاك بالوتدية الغنمية *Corynebacterium ovis* عام 1923م، ثم تغير اسمها للوتدية السلية الكاذبة *C.pseudotuberculosis* عام 1948 م ( Merchant and Packer, 1967; Jones and Collins, 1986; Brown and Olander, 1987).

تنتمي الوتدية السلية الكاذبة إلى صف الشعيات *Actinobacteria*

تحت صف الشعيات *Actinobacterida*

رتبة الشعيات *Actinomycetales*

تحت رتبة الوتديات *Corynebacterinea*

عائلة الوتديات *Corynebacteriaceae*

جنس الوتدية *Corynebacterium* وينتمي لجنس الوتدية عدة أنواع أهمها: الوتدية السلية الكاذبة والوتدية البقرية والوتدية الكلوية والوتدية الخناقية (Stackebrandt *et al.*, 1997).

**جدول (1) بعض أنواع الوتديات مع العائل والمرض الذي تسببه:**

| النوع | العائل | المرض |
|---|---|---|
| **الوتدية البقرية *C.bovis*** | الابقار | إمراضيتها غير مؤكدة |
| **الوتدية السلية الكاذبة *C. pseudotuberculosis*** | اغنام وماعز | التهاب العقد اللمفاوية التجبني |
| **الوتدية الكلوية *C. renale*** | ابقار | التهاب مثانة |
| **الوتدية الخناقية *C. diphtheria*** | بشر | خناق |

#### 2. 1. 2. الخواص الشكلية والتلوينية لجراثيم الوتدية السلية الكاذبة:

الوتديات هي عصيات إيجابية الغرام، غير متحركة، غير متبوغة، تتميز بوجود إنتفاخات غير منتظمة في إحدى النهايات مما يعطيها شكل الهراوة، تنتظم بأشكال متعددة (شكل الأحرف

الصينية)، او تأخذ المظهر المكور. لها القدرة على البقاء حية في الظروف الطبيعية والسيئة بفضل بنية وتركيب جدارها الخلوي، هي جراثيم لاحيهوائية مخيرة أبعادها بين 0.5–0.8 ميكرون و–0.3 0.1 ميكرون (Dorella, 2009; Collett *et al.,* 1994). تنتمي الوتديات إلى مجموعة من الكائنات الحية داخل الخلوية المعروفة باسم مجموعة CMNR، والتي تحتوي على أجناس:

*Corynebacterium* الوتديات

*Mycobacterium* *المتفطرات*

*Nocardia* النوكاردية

*Rhodococcus* الرودوكوكس

التي تتميز بوجود طبقة كثيفة خارج جدار الخلية الجرثومية التي تتألف من الدهون (Quinn *et al.*, 2002; Dorella *et al.*, 2006).

**2. 1. 3. الخواص المزرعية:**

هي جراثيم حيهوائية أو لاحيهوائية مخيرة تنمو على البيئات العادية ببطء، وتنمو بشكل جيد عند درجة حرارة 37 مئوية وعند pH من 7 إلى 7.2 وتتراوح فترة الحضانة بين 48 و72 ساعة على الأوساط التي تحتوي على الدم أو المصل مثل آغار الدم وآغار نقيع القلب والدماغ وتنمو على الآغار الدموي بعد فترة حضانة من 24 إلى 48 ساعة بشكل مستعمرات بيضاء صغيرة الحجم مستديرة جافة وبعد فترة حضانة 72 ساعة هذه المستعمرات تزداد في الحجم وتصبح ذات لون كريمي محاطة بهالة تحلل دموي كامل وضيق. في الوسط السائل تنمو بشكل تعكر خفيف في الوسط وتشكل حلقة حول الأنبوب على السطح.
(Dorella, 2009; Alves *et al*., 2007).

**2. 1. 4. الخواص الكيمياحيوية:**

ومن خواص الوتدية السلية الكاذبة الكيمياحيوية قدرتها على تحلل الدم تحللاً كاملاً وضيق وإيجابية لاختبار الكاتلاز وسلبية لاختبار الأوكسيداز وترجع النترات إلى النتريت وإيجابية لاختبار حلمهة اليوريا وهي تخمر مجموعة من السكاكر دون اطلاق غاز مثل: الغلوكوز والمانوز والفركتوز والمالتوز، الغلاكتوز (متغير)، في حين لاتستطيع تخمير سكر (اللاكتوز والسكروز والاكزيلوز والاسكولين)، لا تميع الجيلاتين قد تكون هناك اختلافات بين النتائج في اختبارات الكيمياحيوية،

وخاصة في القدرة على التخمير، وذلك لأن هناك اختلافات بين الأنماط الحيوية ( Quinn *et al.* 2005; Mohan *et al.*, 2008).

تصنف هذه الجراثيم إلى قسمين حيويين:

*C. pseudotuberculosis ovis* المسؤولة عن إحداث المرض عند الأغنام والماعز و *C. pseudotuberculosis equi* والتي تسبب المرض في الخيول والماشية. ويتم التمييز بين هذين النوعين الحيويين عن طريق إرجاع النترات إلى نتريت حيث أن الوتدية السلية الكاذبة الخيلية (النمط الحيوي الخيلي) قادر على إرجاع النترات إلى نتريت في حين أن الوتدية السلية الكاذبة الغنمية (النمط الحيوي الغنمي) غير قادر على إرجاع النترات إلى نتريت ( Guimaraes *et al.*, 2011).

### 2. 2. التهاب العقد اللمفاوية التجبني Caseous Lymphadenitis:

هو مرض معد مزمن تسببه الوتدية السلية الكاذبة يصيب بشكل أساسي الأغنام والماعز حيث يمكن أن يسبب عندها خسائر اقتصادية كبيرة وقد يصيب الأبقار (Anderson *et al.*,1980) والخيول (Miers and Ley, 1980 ; Poonacha and Donahue, 1995) ونادراً ما يصاب الانسان (Goldberger *et al.*, 1981 ; House *et al.*,1986). وقد تم عزل الوتدية السلية الكاذبة عند حيوانات أخرى منها الجاموس والخنازير والغزلان واللاما والإبل وبعض حيوانات المختبر (Arsenault *et al.*, 2003 ; Dorella *et al.*, 2006; Williamson, 2001).

يظهر التهاب العقد اللمفاوية التجبني على شكلين:

- "**الشكل الخارجي السطحي**" الذي يميز الإصابة بالعدوى من خلال مشاهدة الخراجات، وتوجد الخراجات في الأنسجة تحت الجلدية والعقد اللمفاوية السطحية (النكفية، الفكية السفلية، العنقية، وامام الضرع)،
- "**الشكل الداخلي الحشوي**" الذي يتميز بتشكل خراجات في الأعضاء الداخلية مثل الرئة والكبد والكلى والرحم والطحال والأعضاء الداخلية (الشعب الهوائية). قد يحدث الشكلان في نفس الحيوان والشكل الداخلي هو تحت إكلينيكي ويرتبط عادة مع فقدان الوزن التدريجي وهي حالة تسمى "متلازمة النعجة الهزيلة" (Williamson, 2001).

وقد وجدت اختلافات في أماكن وجود الخراجات بين الأغنام والماعز، ويعتبر الشكل الحشوي أكثر شيوعاً بين الأغنام والشكل السطحي بين الماعز (Brown and Olander, 1987).

يلاحظ تضخم العقد الليمفاوية عند الإصابة، وعند تطور العدوى للشكل المزمن، تظهر خراجات مغلفة مميزة تحتوي على مظهر "حلقة البصلة" في المقطع العرضي، محتواها تجبني أخضر في البداية وبعد ذلك معجوني القوام. يمكن للانتشار الدموي أن يؤدي إلى خراجات في الغدد الليمفاوية الداخلية دون حدوث آفات واضحة (Radostits *et al*., 2007 ; Smith, 2002).

وقد يترافق الشكل الحشوي للمرض بالتهاب الرئة وسوء الحالة الصحية وتكون غير مشخصة قبل النفوق (McVey *et al*., 2013). وفي بعض الحالات، تصبح الآفات منتشرة وعندما تزيد في العدد تتطور متلازمة النعجة الهزيلة، مما يؤدي إلى الوهن التدريجي والنفوق (Quinn *et al*., 2011).

**2. 3. الإمراضية:**

تبدأ إمراضية الوتدية السلية الكاذبة عند دخول الجراثيم إلى جسم الحيوان عن طريق جروح الجلد حيث تتكاثر وتبتلع من قبل البلاعم وتحاول البلاعم هضمها أثناء تنقلها إلا أن الوتدية السلية الكاذبة تتكاثر بداخلها وعندما تتكاثر بشكل كاف تتسبب بموت البلاعم وتهيء زيادة نفوذية الأعية الدموية أرضية أولية لنشر الإصابة إلى مكان أخر (عقد لمفاوية في منطقة أخرى) وتتطور الخراجات في العقد اللمفاوية بالطريقة الأولية أو الثانوية وأخيراً ينفجر الخراج ويخرج منه قيح سميك متجبن يحتوي عدد كبر من الجراثيم الحية وتنتقل العدوى بصورة مباشرة أثناء تلامس حيوان بأخر أو اثناء جز الصوف اما العدوى الثانوية فتحدث عند بقاء الجراثيم حية في البيئة المحيطة وربما يوضح هذا الامر العوامل الأولية لنشر الإصابة( Gezon *et al*., 1991; Gillespie and Hawkey, 2006; Goldman and Green, 2009).

وتعد المناعة الخلطية والخلوية مسؤولة عن تطور المرض حيث تقوم الخلايا البلعمية المناعية بترشيح وبلعمة عدد قليل من جراثيم الوتدية السلية الكاذبة القادرة على قتلها والتي تبقى حية حتى نضوج الخراج داخل الخلايا البلعمية وعموما تكون هذه الخلايا قادرة على التحكم بالمرض وتبقى حية حتى نضوج الخراج داخل الخلايا البلعمية وقد يتكرر الخراج في نفس الجانب عندما تكون الإصابة آفة نقيلة مما يهيئ إلى حدوث ما يعرف "بمتلازمة النعجة الهزيلة" التي ينتج عنها ضعف

تدريجي للحيوان ومن ثم النفوق وعموما فإن الأعراض والشكل الإمراضي لمرض التهاب العقد اللمفاوية التجبني قد يظهر بطريقة مزدوجة على شكل آفة مرتبطة بورم حبيبي وإصابة جرثومية مزمنة وليس بالضرورة ظهور الحالة بشكل دائم فأحياناً تكون الآفة موضعية في أنسجة محددة (Carter *et al.*, 1995; Mashhadi *et al.*, 2006).

تبقى جراثيم الوتدية السلية الكاذبة حية داخل الخلايا البلعمية حتى نضوج الخراج (Carter *et al.*, 1995) حيث تتمركز الجراثيم داخل البلاعم لتظهر طور حدة المرض التي تترافق بتغيرات حيوية داخل جدار الخلية الجرثومية على وجه الخصوص طبقة الدهون السطحية Corynomycolic Asid التي تعتبر المسؤلة عن بقاء الجراثيم حية داخل الخلايا البلعمية مع العلم أن هذه الدهون ليس لها دور في تسمم خنزير غينيا الذي يعد حساس جداً للوتدية السلية الكاذبة وسمومها، ويعتقد بأن هذه الدهون تشكل عامل ربط جرثومي صغير لسموم هذه الجراثيم، إلا انها ليست مميتة (Gezon *et al.*, 1991; Gillespie and Hawkey, 2006).

يعد الفوسفولبيد د PLD من صفات الفوعة الظاهرة لهذه الجراثيم وينتج بشكل جلي من جميع عزولات الوتدية السلية الكاذبة، وإن إنتاج الفوسفولبيد د في الطور المبكر من العدوى الظاهرة له تأثير عميق في تكاثر وبقاء الوتدية السلية الكاذبة حية في جسم الحيوان المضيف، وهذا بسبب تأثيره على البلاعم من خلال كبح الانجذاب الكيميائي وزوال الحبيبات وموت العدلات بنسبة عالية، أو تأثيرها على نفوذية المتممة، حيث يقوم الفوسفولبيد د على زيادة نفوذية الأوعية الدموية وتزيد من الميوعة داخل الأوعية الدموية المحيطية، ويتيح انتشار العدوى في منطقة الإصابة وإلى اللمف (Zavoshti *et al.*, 2012; Goldman and Green, 2009).

### 2. 4. الوبائية:

### 2. 4. 1. الإنتقال والمقاومة:

تتميز جراثيم الوتدية السلية الكاذبة بقدرة عالية على البقاء على قيد الحياة لفترة طويلة في البيئة، حيث تبقى في التربة لمدة ثمانية أشهر وفي القش لمدة ثمانية أسابيع وفي الخشب لمدة شهر واحد ويساعدها على بقائها حية الظل والرطوبة ودرجات الحرارة المنخفضة (Augustine and Renshaw, 1986 ;). فقدرتها على البقاء لفترة طويلة تعتبر عامل رئيسي في حدوث العدوى مما يسهل إنتشار المرض في جميع أفراد القطيع (Gillespie and Hawkey, 2006).

إن تلوث البيئة المحيطة بالعامل المسبب وظروف التربية والايواء تلعب دور هام في تامين مدخل للعدوى لجسم الحيوان، الذي يتم بأحد الطرق التالية:

**عن طريق الجلد:** تدخل الجراثيم عن طريق الجروح والخدوش السطحية، بأدوات ملوثة مثل الإبر الغير معقمة التي قد تسبب عدوى مكان الحقن (Smith and Sherman, 2009). أو عن طريق إستخدام الأسوار الشائكة أو الأحواض ذات الحواف الحادة، ويمكن أن تسبب الجروح المختلفة مدخل للعامل المسبب، أو الرعي في المناطق ذات الغطاء النباتي الشوكي وبالتالي ظهور الآفات على جلد الحيوانات (Guimarães *et al.*, 2009). وتعد منطقة الراس والرقبة هي الأكثر عرضة للجروح والخدوش الناتجة عن المعالف أو المشارب أو الأبواب أو الاسلاك الشائكة في المرعى أو الجروح المتعلقة بالعادات السلوكية لدى الحيوان مثل حك الراس والرقبة على المعالف أو الاعمدة أو الجدران بسبب وجود طفيليات خارجية (Asghar *et al.*, 2009).

**عن طريق مخاطية الجهاز الهضمي:** من الممكن دخول العدوى إلى الحيوان عن طريق تناول الأعلاف أو الرعي على الأعشاب الملوثة بالقيح الناتج عن إنفجار الخراجات السطحية، أو البول في حال وجود خراج في الكلية، أو السعال، والإفرازات الأنفية الناجمة عن خراج الرئة أو الحليب عند وجود خراج بالضرع، مما يسبب إنتقال العدوى للمواليد الصغيرة (Dorella *et al*., 2006).

**عن طريق مخاطية الجهاز التنفسي:** وذلك بانتقال مسبب الخراج الرئوي للقشع مما يسبب عند سعال الحيوان قذف العامل المسبب للبيئة المحيطة أو من الممكن سعال الحيوان المصاب بوجه حيوانات أخرى التي بدورها تلتقط العدوى باستنشاق الرذاذ الحاوي على المسبب المرضي (Smith and Sherman, 2009).

**عن طريق الدم:** تنتقل جراثيم الوتدية السلية الكاذبة بعد تكاثرها في مكان الدخول عبر الدم إلى العقد اللمفاوية السطحية والداخلية وكذلك الأعضاء الداخلية مثل الكبد الرئة الكلى ومن الممكن وصولها للنخاع الشوكي (Smith and Sherman, 2009).

**عن طريق مفصليات الأرجل:** يمكن أن يتم نقل جراثيم الوتدية السلية الكاذبة عن طريق مفصليات الأرجل نقلاً ميكانيكياً عند الماشية في الفصول الدافئة وفترة إنتشار الحشرات (Yeruham *et al.*, 2004).

كما يحدث إنتقال العدوى بين الأغنام أو الماعز بشكل رئيس من خلال تلوث الجروح السطحية بالإفرازات القيحية للخراجات (إما بشكل مباشر أو غير مباشر). وكذلك ترتبط العدوى بتطبيق

الإجراءات التربوية الشائعة، مثل القص والخصي، أو وضع علامات الأذن، أو من خلال إصابات الحيوان عند اصطدامه بجسم ملوث ( Williamson, 2001; Billington *et al.*, 2002; Binns *et al.*, 2002).

**2. 4. 2. الانتشار:**

ينتشر التهاب العقد اللمفاوية التجبني CLA في جميع أنحاء العالم وقد كان تحديد نسبة الانتشار موضوع دراسة في العديد من الدراسات (Guimarães *et al.,* 2009). أظهرت دراسة أجريت في سوريا كانت تهدف للتقصي عن المسببات الجرثومية للخراجات السطحية عند الاغنام في المنطقة الشرقية أن نسبة عزل الوتدية السلية الكاذبة كانت 21.67% من إجمالي 300 عينة بالعزل الأولي والاعتماد على بعض الخواص الكيمياحيوية (الحوالة، 2011). وفي دراسة أجريت في تركيا كان معدل انتشار التهاب العقد اللمفاوية التجبني بنسبة 35.7% ( Aslan *et al.,* 2016). بينما كانت نسبة الانتشار ما يقارب 21.7% في دراسة أجريت في العراق (AL-Tuffyli and Shekhan, 2012) ودراسة أجريت في منطقة القصيم في السعودية كانت نسبة الإصابة بالتهاب العقد اللمفاوية التجبني هي 27.84% (Al-harbi, 2011). وتشير أحد الدراسات في مصر ان نسبة انتشار التهاب العقد اللمفاوية التجبني بنسبة 13.9% في الأغنام 8.6% في الماعز (Ashraf *et al.*, 2019). وفي دراسة أجريت في السودان كانت نسبة الإصابة بالوتدية السلية الكاذبة 19.8% بالنسبة للشكل السطحي بينما الشكل الحشوي كان بنسبة 47.3% (Rodwan *et al.,* 2013). أما في الجزائر لوحظ انتشار CLA في الماعز والأغنام بنسبة 1.6% و8.9٪ على التوالي(Alloui *et al.,* 2011 ). وفي إثيوبيا تم حساب انتشار التهاب العقد اللمفاوية التجبني بنسبة 10.68 ٪ في الماعز (Abebe and Tessema, 2015). ومع ذلك تشير الدراسات الحديثة التي أجريت في إثيوبيا إلى أن انتشار التهاب العقد اللمفاوية التجبني في الماعز قد تم رصده بنسبة 18.8٪ (Yitagesu *et al.,* 2020). وتم تسجيل تواتر تفشي التهاب العقد اللمفاوية التجبني بنسبة 11.1 ٪ في ماليزيا (Osman *et al.,* 2012). وفي تايلاند وجد أن معدل انتشار CLA في قطعان الماعز بلغ 5.06٪ ( Thongkwow *et al.,* 2019). في الهند لوحظ معدل انتشار التهاب العقد اللمفاوية التجبني في الماعز بنسبة 14.44٪ (Kumaresan *et al.,* 2018). وفي الصين كان انتشار التهاب العقد اللمفاوية التجبني الناجم

عن الوتدية السلية الكاذبة في الماعز بنسبة 39.22 ٪ (Li *et al.,* 2018). تم تقدير متوسط انتشار التهاب العقد اللمفاوية التجبني في أستراليا بنسبة 26 ٪ في المجترات الصغيرة ( Paton *et al.,* 2003). ونسبة انتشار بنسبة 36 ٪ في كندا (Arsenault *et al.,* 2003) وتم تسجيل انتشار التهاب العقد اللمفاوية التجبني في فنزويلا بين قطعان الماعز بنسبة 2.5٪ (Chirino-Zárraga *et al.,* 2006) تم رصد انتشار CLA في المجترات الصغيرة بنسبة 45 ٪ في المملكة المتحدة (Binns *et al.,* 2002). وبنسبة 37.9٪ في الماعز في إيطاليا ( Minozzi *et al.,* 2017). وفي إسبانيا معدل إنتشار التهاب العقد اللمفاوية التجبني في المجترات الصغيرة الناتجة عن الوتدية السلية الكاذبة بنسبة 26.3٪ (de la Fuente *et al.,* 2017).

**2. 5. التشخيص:**

**2. 5. 1. التشخيص الحقلي:**

يتم تشخيص الوتدية السلية الكاذبة من خلال ملاحظة الخراجات الموجودة في العقد اللمفاوية السطحية (النكفية، تحت الفكية، امام لوحية) بينما يظهر في الشكل الحشوي عن طريق خراجات الأعضاء الداخلية، مثل الكبد والرئتين والرحم والكلى والطحال وكذلك الغدد اللمفاوية الداخلية. يمكن أن يظهر الشكلان في نفس الحيوان (Williamson, 2001) مع ذلك يمكن أن تتواجد الخراجات في مواقع أخرى مثل كيس الصفن والضرع والجهاز العصبي المركزي والمفاصل (Williamson, 2001; Smith and Sherman, 2009). وفي الشكل الحشوي ولا يمكن الإشتباه بالإصابة سوى تدني الحالة الصحية للحيوان وانخفاض الإنتاج "متلازمة النعجة الهزيلة" ويتم التشخيص التأكيدي بإجراء الصفة التشريحية على الحيوانات المذبوحة وملاحظة الخراجات على الأعضاء الداخلية وعندما تصبح العدوى مزمنة تظهر خراجات مغلفة مميزة تحتوي على مظهر "حلقة البصلة" في المقطع العرضي ( Williamson, 2001 ; Solaiman, 2010 ; Pugh and Baird, 2012).

تتميز الخراجات السطحية بزدياد حجم الخراج في العقد اللمفاوية السطحية حيث يتمزق الخراج عند نضوجه ليشكل قناة تصريف للقيح إلى الخارج من خلال ناسور ويكون القيح تجبني أخضر في البداية وبعد ذلك معجوني القوام. وبالتالي حدوث تلوث جرثومي بمسببات الخراج في البيئة المحيطة بالحيوان (Radostits *et al.* 2007; Smith, 2002).

### 2. 5. 2. التشخيص المخبري:

التشخيص المخبري يتم بأخذ عينات من القيح الموجود في الخراجات وعند عمل لطاخات من هذه العينات قد تكشف عن جراثيم إيجابية الغرام وتدية الشكل أو تأخذ شكل هراوي أو شبه الأحرف الصينية (McVey *et al.,* 2013). والتشخيص المعياري لإلتهاب العقد اللمفاوية التجبني هو الزرع الجرثومي على الأغار الدموي بالتيللوريت 1% وذلك بأخذ مسحات من الخراجات وملاحظة الخواص الشكلية والمزرعية والكيمياحيوية للجراثيم النامية (Quinn *et al.*, 2011).

حيث تظهر على منبت الآغار الدموي بالتيللوريت مستعمرات صغيرة بيضاء محاطة بهالة تحلل دموي كامل وضيق ويمكن أن يصل قطر المستعمرات إلى 3 مم، قد تحتاج لفترة تحضين أكثر من 72 ساعة حتى تظهر خاصية التحلل الدموي وبعد عدة أيام تصبح المستعمرات جافة ومتفتته وكريمية اللون (Quinn *et al.,* 2011)

إن التصنيف الدقيق لجراثيم الوتديات يعتمد على إجراء الاختبارات الكيمياحيوية التالية:

**جدول (2) تصنيف الوتديات بواسطة الاختبارات الكيمياحيوية**

| | | | |
|---|---|---|---|
| **الحركة** | سلبية | **تخمر الأرابينوز** | متغاير |
| **الكاتلاز** | إيجابية | **تخمر الغلوكوز** | إيجابي |
| **الأوكسيداز** | سلبية | **تخمر المالتوز** | إيجابي |
| **التحلل الدموي** | كامل وضيق | **تخمر الفركتوز** | إيجابي |
| **احمر الميثيل** | إيجابي | **تخمر الريبوز** | إيجابي |
| **اسكولين** | سلبي | **تخمر المانوز** | إيجابي |
| **تحلل النشاء** | سلبي | **تخمر اللاكتوز** | سلبي |
| **حلمهة اليوريا** | إيجابي | **تخمر السكروز** | سلبي |
| **ارجاع النترات** | متغاير | **تخمر الاكزيلوز** | سلبي |
| **تحلل الجيلاتين** | سلبي | **تحليل الهيبورات** | سلبية |

(Jones and Collins, 1986 ; Quinn *et al.* 2005).

كما أظهرت دراسة عن مقارنة تشخيص الوتدية السلية الكاذبة المعزولة من الأغنام، والماعز باستخدام مساطر الاختبارات الكيمياحيوية API Coryne وتطبيق مجموعة محددة من الاختبارات

الكيمياحيوية المطبقة في المخابر بشكل روتيني أجريت في اسبانيا عن تقارب في نسب الحساسية والنوعية لكل منهما (Huerta, 2013).

**2. 5. 3. التشخيص المصلي:**

وقد تم تطوير الاختبارات المصلية بهدف إجراء التشخيص دون النظر إلى الفحص الاكلينيكي. ففي عام 1940، طور كارني أحد الاختبارات الأولى، التي استندت إلى تحيد المصل وللتعرف على مستضدات الوتدية السلية الكاذبة. منذ ذلك الحين، كان هناك أبحاث مستفيضة تشمل الاختبارات المصلية، بما في ذلك: اختبار التراص المصلي والانتشار المناعي الهلامي واختبار التراص المباشر وغير المباشر والمقايسة المناعية المرتبط بالانزيم ELISA بطرقها المختلفة المباشر والغير مباشر للكشف عن انتر فيرون غاما (IFN-γ) كعلامة مناعية مرتبطة بالانزيم للوتدية السلية الكاذبة (Dominguetti, 2011). وقد أفادت الأبحاث أن أختبار ELISA الذي يعتمد على الفوسفوليبيد د PLD بأنها تمتاز بحساسية بنسبة (79 ± 5٪) ونوعية بنسبة (99 ± 1٪) في الأغنام (Dercksen *et al.,* 2000).

الاختبارات المصلية تتميز بأن لها حساسية جيدة، ولكن مايعيبها تقديم نتائج إيجابية كاذبة، وذلك بسبب التشابه بين المستضدات من جنس الوتديات المختلفة إلى جانب عدم التمييز بين الحيوانات الملقحة من الحيوانات غير الملقحة (Çetinkaya *et al.,* 2002).

**2. 5. 4.التشخيص الجزيئي:**

تم تطوير اختبارات جزيئية للبحث عن استراتيجيات جديدة لتشخيص التهاب العقد اللمفاوية التجبني حيث قام (Çetinkaya *et al.,* 2002) بإجراء اختبارات مبنية على تفاعل البوليميراز المتسلسل (PCR) بهدف تحديد الوتدية السلية الكاذبة عن طريق تضخيم الجين 16s rRNA الريبوزيمي والذي يستخدم على نطاق واسع في الدراسات التصنيفية الجرثومية لكن أثبت هذا الجين أنه غير قادر على تمييز الوتدية السلية الكاذبة من المقيحة. في حين أثبت (Dorella *et al.,* 2006) أن تفاعل البولميراز المتسلسل PCR يعد طريقة فعالة ودقيقة وسريعة لتشخيص الإصابة بالوتدية السلية الكاذبة وذلك بالاعتماد على جينات S16 وrpoB وPLD.

وعند مقارنة الطرق المختلفة لمعرفة معدل الإصابة بالتهاب العقد اللمفاوية التجبني تبين أن النسبة 2.31% بالاعتماد على الأعراض السريرية و1.1٪ بالاعتماد على الزراعة الجرثومي و1.29٪ بالفحص بواسطة الـPCR من القيح مباشرةً (Cetinkaya *et al.,* 2002).

**2. 6. التحكم والمعالجة:**

غالباً ما يتم عزل الحيوانات المصابة ثم القيام بعلاجها حقلياً الذي يتمثل بتصريف الخراج، تليها عمليات التطهير والكي الكيميائية، أو حتى إزالة الغدد الليمفاوية السطحية المتضررة جراحياً (Nozaki *et al.,* 2000).

على الرغم من أنها تدابير تحكم مهمة، إلا أن هذه التقنية قد لا تكون فعالة على النحو المنشود بسبب الخراجات الداخلية، يتوجب في التهاب العقد اللمفاوية التجبني إجراء تصريف الخراج لتجنب تلوث البيئة المحيطة بالحيوان، مع التطهير المناسب للخراج أثناء عملية تصريف الخراج أو الاستئصال الكلي. إن طبيعة الآفات المزمنة وقدرة الكائنات الحية على البقاء داخل الخلايا، مع تكوين أغشية حيوية في العدوى الطبيعية، يجعل العلاج بالمضادات الحيوية غير فعال، ويقلل من فعالية الدواء، على الرغم من أن سلالات الوتدية السلية الكاذبة حساسة لمعظم المضادة الحيوية في المختبر وعادة ما يكون البنسلين المضاد الحيوي المفضل ( Quinn *et al.,* 2011; Olson *et al* , 2002). ومع ذلك، فمن غير المستحسن المعالجة بالمضادات الحيوية لهذا النوع من العدوى. (Brown and Olander, 1987)، حيث أن التغليف الكثيفة للخراج يكون العلاج بالمضادات الحيوية غير فعال بسبب عدم وصول تركيز كافي من المضاد الحيوي إلى العقد اللمفاوية المتضررة. ومع ذلك يمكن أن تكون المعالجة الطويلة الأمد (4–6 أسابيع) عند الأغنام والماعز بواسطة (البنسلين أو إريثرومايسين) في كثير من الأحيان فعالة في علاج الخراجات الداخلية وتقليل احتمالية حدوثها (Glenn and Karen, 2005).

يجب أن يعتمد البرنامج الفعال للسيطرة على CLA على ملاحظة الأعراض السريرية المتمثلة بتضخم العقد اللمفاوية السطحية في الحيوانات المصابة داخل القطيع، وبالأخص الحيوانات المدخلة حديثا للقطيع، وعزل الحيوانات المصابة وإبعاد الحيوانات صغيرة العمر عن الحيوانات الكبيرة، وتطهير المعدات والتجهيزات المستخدمة بشكل جيد (Brown and Olander, 1987).

إن التحصين يقلل من الإصابة بالعدوى، ويؤدي إلى إنخفاض تدريجي في إنتشار الإصابة، ولكن لا يوفر أي من لقاحات التهاب العقد اللمفاوية التجبني المتوفرة حالياً الحماية الكاملة ضد المرض (Paton *et al.,* 2003; Fontaine and Baird, 2008). على الرغم من ذلك يجب تطبيق اللقاحات بمجرد إنتشار العدوى بشكل كبير (Paton *et al.,* 2003). ومن المهم الإشارة إلى أن الحماية التي يتم الحصول عليها عن طريق اللقاح هي فقط تمنع تطور الخراجات (Williamson, 2001). ويعد المكون الرئيسي المستخدم في لقاحات الوتدية السلية الكاذبة هو الفوسفولبيد د أساس استخدامه هو معدل الحماية الجيد الذي تم الحصول عليه بعد تحصين الماعز. تستخدم معظم اللقاحات التجارية لمرض التهاب العقد اللمفاوية التجبني المعطل مدموجة مع لقاحات المطثيات مثل لقاح Glanvac® 6 (Zoetis, Australia) وهو معتمد للاستخدام في الماعز في العديد من البلدان (de Pinho *et al.,* 2021) ولقاح Biodectin® مرخص أيضًا في البرازيل لاستخدامه في الماعز واللقاح التجاري الآخر الذي تم تقييمه Caseous D–T® (شركة كولورادو سيروم كندا) له تركيبتان، إحداهما تحتوي على ذيفانات المطثية والأخرى عبارة عن مزيج من الوتدية السلية الكاذبة وذيفانات المطثية (Piontkowski and Shivvers, 1998; Stanford *et al.,* 1998; Paton *et al.,* 2003) علماً أن لهذا اللقاح عند الماعز البالغ بعض الآثار الجانبية المتمثلة بانخفاض في إنتاج الحليب والحمى والوذمة البطنية والرنح ولكن لا يوجد أعراض في الحيوانات الصغيرة (Williamson, 2001).

إن دراسة حساسية الوتدية السلية الكاذبة للمضادات الحيوية كانت هدفاً للعديد من الدراسات العلمية، لما لذلك من أهمية في العلاج. فقد تم دراسة حساسيتها للعديد من للمضادات الحيوية الشائعة الأستخدام منها البنسلين والأريثرومايسين والكلورامفينيكول ولينكوميسين والتتراسيكلين وانروفلوكساسين والسلفونامید–ميثوبريم والأمبسلين والأوكسي تترايسكلين والسبروفلوكساسين والجنتامايسين والكلندامايسين في حين أنها كانت مقاومة للأمينوغليكوزيدات (Dorella *et al.* 2006). فقد أظهرت دراسة أجريت في مصر على عدد من عزولات الوتدية السلية الكاذلة بأنها كانت حساسة للارثرومايسين والأموكسيسلين والريفامبيسين والأمبيسلين (Afifi, 2020) بينما بينت نتائج دراسة أجريت في السعودية ان العزولات كانت حساسة للتايلوزين والدوكسي سايكلين ومتوسط الحساسية للاوكسي تترايسكلين والاموكسيسلين والجنتاماسين والكانامايسين ومقاومة للبنسلين والكولستين والأريثرومايسين (Hassan *et al.,* 2011).

وأشارت دراسة أجريت في الهند عن حساسية عزولات الوتدية السلية الكاذبة للمضادات الحيوية بأنها حساسة للامبسلين والجنتامايسين والكلورامفينكول واللينكومايسين والتترايسكلين (Kumar *et al* 2012). وفي دراسة (Madut and Abdelgadir, 2011) توصل أن عزولات الوتدية السلية الكاذبة كانت حساسية للارثرومايسين والجنتامايسين والسيبروفلوكساسين والاوكسيتترايسكلين ومقاومتها للبنسلين وواظهرت دراسة أجريت في أثيوبيا حساسية عزولات الوتدية السلية الكاذبة للتترايسكلين والكانااميسين والدوكسيسايكلين ومقاومة للامبسلين والكلندامايسين ( Ababe and Tessema, 2015). وأظهرت دراسة أجريت في تايلند حساسية العزولات للانروفلوكساسين والبنسلين والاوكسي تترايسكلين والاموكسيسلين ومقاومة للجنتامابسين ( Tonpitak *et al.,* 2008).

**2. 7. المسببات الجرثومية الأخرى للخراجات:**

**جنس العنقوديات** تتواجد في كل مكان: المياه والتربة والجلد والأغشية المخاطية وخاصة الجزء العلوي من جهاز التنفس وفي الفتحات الطبيعية للإنسان والحيوان وهي مكورات إيجابية الغرام غير متحركة غير متبوغة غير متمحفظة تنتظم على شكل عناقيد (Plata *et al.*, 2009). تنمو بسهولة على المنابت العادية تتحمل نسبة كلوريد الصوديوم تصل إلى 10% ذات مستعمرات دائرية، محدبة، ومعتمه، لها ألوان مختلفة صفراء ذهبية، او بيضاء وهي جراثيم هوائية أو لا هوائية مخيرة، إيجابية الكاتالاز، سلبية الاوكسيداز، بعض أنواعها إيجابية المخثراز (Adnan *et al.*, 2014). أهمها العنقودية الذهبية التي تكون ممرضة ومسؤولة عن الأخماج التقيحية عند الإنسان والحيوان والعنقودية البشروية وأهم ما يميز بين العنقودية الذهبية والعنقوديات الأخرى تخمر سكر الماينتول واختبار المخثراز (Baele *et at.*, 2001). وتنتج العنقودية الذهبية عدد من الذيفانات الخارجية والانزيمات الخارجية، التي لها دور هام في فوعتها (Soell *et al.*, 1995). ومن أهم الأنزيمات التي تنتجها العنقودية الذهبية المخثراز الذي بدورة يقسم جنس العنقوديات اعتمادا على اختبار المخثراز إلى أنواع إيجابية للمخثراز مثل العنقودية الذهبية وعنقوديات سالبة للمخثراز ( Devriese *et el.,* 1994). وأيضا من الأنزيمات المفرزة من العنقودية انزيم الهيالورونيداز الذي يعد من الانزيمات الهاضمة لحمض الهيالورونيك ومترافقة بفوعة العامل المسبب حيث تقوم باذابة النسيج الضام (Farrell *et al.* 1995). وهناك عدد من الأنزيمات التي تنتجها العنقودية الذهبية مثل الليباز والبروتياز التي تكسب أهمية دفاعية أو مرضية أما الذيفانات الخارجية فتشمل الذيفان الحال لكريات الدم الحمراء والذيفان القاتل لكريات الدم البيضاء (Ho *et al.,*1989). والذيفان العنقودي والذيفان المعوي المسؤول عن التسمم الغذائي (Bergdoll, 1983).

**جنس العقديات:** اكتشفها العالم باستور عند امرأة مصابة بحمى النفاس وهي جراثيم واسعة الانتشار توجد في الهواء والتراب وعلى الجلد وفي السبل التنفسية والهضمية وفي الفجوات الطبيعية للإنسان والحيوان،وهي جراثيم إيجابية الغرام مكورة الشكل، ذات انتظام سبحي، غير متحركة، غير متبوغة، ومعظمها غير متمحفظة احتياجاتها الغذائية معقدة تحتاج لاوساط غنية لكي تنمو وهي هوائية لا هوائية مخيرة سلبية الكاتالاز ومن أهم أنواعها العقدية المقيحة التي تظهر ثلاث أنواع من المستعمرات مستعمرات مخاطية ومستعمرات لماعة، ومستعمرات باهته مع تحلل دموي كامل ومن

خواصها الكيميائية أيضا سلبية لتخمر كل من الاربينوز، والسوربيتول، والمانتول، وإيجابية لكل من الغلوكوز، واللاكتوز والسكروز (Collins *et al.,* 2001). وتعد العقدية المقيحة المسببة لكثير من الأمراض البشرية، تتدرج من إصابات جلدية سطحية طفيفة إلى أمراض جهازية مثل التهاب البلعوم والحمى القرمزية والتهاب النسيج الخلوي والقوباءومتلازمة الصدمة السمية العقدية والحمى الروماتيزمية الحادة والتهاب كبيبات الكلى الحاد عند الانسان ونادرا ما تسبب التهاب الضرع عند الابقار، العقديات المقيحة لها عدة عوامل ضراوة والتي تمكنها من الالتصاق بانسجة العائل، بالإضافة إلى الانتشار واختراق طبقات أنسجته وتجنب ردود فعله المناعية بالإضافة لوجود محفظة تحيط بكل الجراثيم قوامها من الكربوهيدرات وتتألف من حمض الهيالورونيك، وتحميها من البلعمة (Maxted, 1956).

هناك جراثيم سلبية الغرام أخرى أقل أهمية تم عزلها من الخراجات مثل: الاشريكية القولونية Escherichia coli التي عزلت من الخراجات السطحية وخراجات الكبد والرئة ( Baird and Fontaine, 2007) التي هي عبارة عن عصيات قصيرة سلبية الغرام، العديد منها متمحفظة، غير متبوغة، متحركة، تنمو بسهوله على المنابت العادية، هوائية أو لا هوائية مخيرة تنمو على وسط ماكونكي على شكل مستعمرات حمراء كرزية اللون لتخميرها سكر اللاكتوز( Wanger *et al.,* 2017 ) وهي إيجابية الكاتالاز سلبية الاوكسيداز، وهي إيجابية للاندول، وأحمر الميثيل سلبية لفوكس بروسكور، وسلبية للسترات وتنمو على كلجلر مستعمرات الاشريكية القولونية مخمرة للسكرين معا وتحول الوسط للحامضية ويتلون المنبت باللون الاصفر بسبب تحول لون كاشف أحمر الفينول للأصفر ولكن دون إطلاق سحابة سوداء لأنها لا تطلق غاز كبريت الهيدروجين (Hemraj et al., 2013).

بالإضافة إلى أنواع الزوائف *Pseudomonas spp* التي هي عصيات سلبية الغرام، متحركة غير متبوغة، وغير متمحفضة، هوائية مجبرة تنمو على المرق المغذي تعكر المرق بسرعة وتلونه بلون أزرق مخضر أو أصفر مخضر مع انطلاق رائحة عطرية إيجابية الكاتالاز والاوكسيداز سلبية اللاكتوز سلبية الاندول سلبية احمر المبثيل إيجابية السترات تحلل الدم تحلل كامل ( Baron *et al.*, 2007).

# مواد البحث وطرائقه

# Material & methods

## 3. مواد البحث وطرائقه:

### 3. 1. المواد Materials:

#### 3. 1. 1. العينات Sample:

تم جمع العينات في الفترة الواقعة بين 2020 و2022 وتضمنت (83) عينة مأخوذة من 65 رأس أغنام وماعز مصابة بالخراجات السطحية، هذه الحيوانات المصابة تعود إلى 57 قطيع أغنام وماعز يتراوح عدد القطيع الواحد بين 15–300 رأس وهي قطعان سرحية أو قطعان تعود لمشاريع تسمين (تربية مكثفة) كما هو مبين في الجدول (3)، بالإضافة إلى 20 عينة من الخراجات والتي جمعت من الحيوانات الواردة إلى المسلخ البلدي في محافظة حماة.

**الجدول (3) عدد الحيوانات المصابة وعدد العينات.**

| | الحيوانات المصابة | عدد العينات | عدد الحيوانات الكلي |
|---|---|---|---|
| أغنام | 60 | 76 | 6855 |
| ماعز | 5 | 7 | 321 |
| مجموع | 65 | 83 | 7176 |

حيث تم جمع أكثر من عينة من نفس الحيوان.

#### 3. 1. 2. الأجهزة والأدوات:

استخدم في هذه الدراسة الأدوات والأجهزة المبينة في الجدول (4) و(5)

**جدول (4) يبين الأجهزة المستخدمة في البحث.**

| **الأجهزة المستخدمة في معاملة العينات وفي الزرع الجرثومي** | | | |
|---|---|---|---|
| اسم الجهاز | | البلد | الشركة المنتجة |
| رجاجة أنابيب | Vortex | اليابان | Scientific industries |
| حاضنة | Incubator | اليابان | Yamato |
| موصدة | Autoclave | اليابان | Yamato |
| ميزان حساس | Sensitive balance | ألمانيا | Sartorius |
| حجيرة معقمة | Safety cabinet | ألمانيا | HERolaB |
| مجهر ضوئي | Light Microscope | اليابان | Nikon |
| فرن الهواء الجاف | Hot air oven | ألمانيا | memert |

**جدول (5) يبين الأدوات المستخدمة في البحث.**

| أهم الأدوات المستخدمة في معاملة العينات وفي الزرع الجرثومي | |
|---|---|
| أطباق بتري معقمة Petri dishes | شرائح زجاجية Slids |
| ماسحات قطنية Cotton swabs | ماصات دقيقة Micropipette |
| عبوات جمع عينات | مجموعة صباغة غرام (تم تحضيرها في مخبر الأحياء الدقيقة) |
| أنابيب زجاجية مختلفة القياس | |
| زجاجيات مختلفة (ارلنماير– بيشر– أنابيب مدرجة...) | |

كما تم دراسة حساسية العامل المسبب لمجموعة من المضادات الحيوية كما هو موضح في الجدول (6)

**جدول (6) مجموعة المضادات الحيوية المستخدمة في البحث.**

| اسم المضاد الحيوي | رمز المضاد الحيوي | تركيز القرص ميكروغرام µg | الشركة المصنعة |
|---|---|---|---|
| **Tylosin** | **TY** | **30** | **HiMedia (India)** |
| **Ampicillin** | **AM** | **10** | **HiMedia (India)** |
| **Enrofloxacin** | **ENR** | **5** | **HiMedia (India)** |
| **Erythromycin** | **E** | **15** | **HiMedia (India)** |
| **Doxicyclin** | **Dox** | **30** | **HiMedia (India)** |
| **Amoxicillin** | **AMX** | **25** | **HiMedia (India)** |
| **Gentamicin** | **GN** | **10** | **HiMedia (India)** |
| **Kanamycin** | **K** | **30** | **HiMedia (India)** |
| **Ciprofloxacin** | **CIP** | **5** | **HiMedia (India)** |
| **Penicillin** | **P** | **10** | **HiMedia (India)** |

### 3. 1. 3. الأوساط المزرعية المستخدمة Culture Media:

تم أستخدام الأوساط المزرعية التالية في هذه الدراسة والجدول (7) يبين ذلك

**جدول (7) الأوساط المستخدمة في هذه الدراسة.**

| اسم الوسط | الشركة المصنعة | الغرض من الاستخدام |
|---|---|---|
| ماء الببتون Peptone Water | HiMedia (India) | الكشف عن تكون حلقة الاندول وكأساس لتحضير اختبار تخمر السكريات |
| المرق المغذي Nutrient Broth | HiMedia (India) | إكثار الجراثيم |
| أساس الآغار المدمى Blood Agar base | HiMedia (India) | منمي جرثومي غني ودراسة خاصية التحلل الدموي |
| اجار ماكونكي MacConkey Agar | HiMedia (India) | منبت خاص بالإمعائيات |
| اجار المانيتول المالح Mannitol Salt Agar | HiMedia (India) | منبت انتقائي للمكورات العنقودية |
| اجار مولر هينتون Muller Hinton Agar | HiMedia (India) | لدراسة تحسس الجراثيم للمضادات الحيوية |
| أجار السترات لسيمون Simmon citrate Agar | HiMedia (India) | التحري عن قدرة الجراثيم على استخدام السترات كمصدر للطاقة |
| اجار كليجلر Kligler Iron Agar | HiMedia (India) | التحري عن قدرة الجراثيم على إطلاق غاز H2S |
| اجار اليوريا Urea base Agar | HiMedia (India) | الكشف عن قدرة الجراثيم على انتاج انزيم اليورياز |
| وسط الجيلاتين Gelatin | حضر بالمخبر | الكشف عن قدرة الجراثيم على انتاج انزيم الجيلاتيناز |

**3. 1. 4. المحاليل والمواد والكواشف المستخدمة:**

أستخدم في الكشف عن العامل المسبب المحاليل والكواشف المبينة في الجدول (8) و(9).

**3. 1. 4. 1. المحاليل المستخدمة Solutions:**

**جدول (8) المحاليل المستخدمة في الدراسة.**

| اسم المحلول | الغرض من الاستخدام |
|---|---|
| تيلوريت البوتاسيوم 1% Potassium Tellurite 1% | يضاف إلى الاغار الدموي لتمييز وعزل مستعمرات الوتديات |
| بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ 3% | يستخدم للكشف عن انزيم الكاتالاز |
| محلول لوغول | لتعقيم الجلد وفتحة الخراجات عند اخذ العينة |
| محاليل سكريات مختلفة Sugar's solutions | الكشف عن قدرة الجراثيم على تخمر هذه السكريات |
| محلول اليوريا Urea Solution | الكشف عن انتاج انزيم اليورياز |

**3 .1. 4 .2. الكواشف المستخدمة Reagents:**

**جدول (9) الكواشف المستخدمة في الدراسة.**

| اسم الكاشف | الشركة المصنعة | الغرض من استخدامه |
|---|---|---|
| أقراص اختبار الأوكسيداز | HI media | للكشف عن انزيم السايتوكروم اوكسيداز |
| كاشف اندريد | حضر مخبريا | مشعر حموضة في اختبار تخمر السكاكر |
| كاشف كوفاك Kovac's Reagent | HI media | للكشف عن قدرة الجراثيم على تكوين حلقة الاندول |
| كاشف باريت | HI media | للكشف عن قدرة الجراثيم على تكوين Diacetyl carbinol |

**3. 2. طرائق العمل Methods:**

**3. 2. 1. تحضير المحاليل المستخدمة:**

**3. 2. 1. 1. تيللوريت البوتاسيوم 1% Potassium Tellurite:**

يتم تحضيره باذابة 1 ملغ من مسحوق تيلوريت البوتاسيوم إلى 9 مل ماء مقطر من ثم تعقيمه بالترشيح بمراشح مكروية 0.22 µm.

**3. 2. 1. 2. بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$:**

حضر بيروكسيد الهيدروجين بتركيز 3% وذلك من خلال إضافة 1 مل بيروكسيد الهيدروجين $H_2O_2$ تركيز 30% إلى 9 مل ماء مقطر (Tadesse and Alem, 2006).

**3. 2. 1. 3. محلول اليوريا Urea Solution:**

حضر محلول اليوريا بإذابة 40 غ يوريا في 50 مل ماء مقطر ثم أكمل الحجم حتى 100 مل، وعقم هذا المحلول بالترشيح باستخدام مراشح ميكروية 0.22 µm (Tille, 2017).

**3. 2. 2. تحضير الأوساط المزرعية Culture media preparation:**

**3. 2. 2. 1. وسط الآغار الدموي بالتيللوريت:**

تم تحضير الوسط حسب تعليمات الشركة: حيث تم وزن 40غ من بودرة البيئة وحلت بـ 1000 مل ماء مقطر في أرلنماير وبعد تمام الذوبان عقمت بالموصدة على الدرجة 121 م وتحت ضغط 1.5 بار ولمدة 15 د. تم تبريد البيئة بعد التعقيم حتى درجة حرارة 45- 50ْ م حيث تم إضافة دم الأغنام منزوع الفبرين بنسبة 5% ومزج حتى التجانس، وثم أضيف محلول تيللوريت البوتاسيوم بتركيز 1% والمحضر مسبقاً، بعد المزج الجيد حتى التجانس، صبت البيئة في الأطباق ضمن الحجرة المعقمة وبعد التصلب أغلق الطبق ووضع ضمن أكياس بلاستيكية مغلقة في البراد لحين الاستخدام.

**3. 2. 2. 2. وسط اختبار تخمر السكاكر:**

حضرت بإضافة مشعر اندريد Andrade Reagent بنسبة 1% إلى بيئة ماء الببتون (HiMedia) وعقمت حسب تعليمات الشركة المصنعة بالموصدة، وبعد أن بردت أضيف محلول السكر المراد اختبار تخمره والمحضر مسبقا بنسبة 1% والمعقم بالترشيح، وزعت بيئة الاختبار في

أنابيب عقيمة بواقع 5 مل في كل أنبوب وأغلقت وحفظت بالبراد لحين الاستخدام (MacFaddin, 2000).

**3. 2. 2. 3. الاغار نصف الصلب Semi-Sold medium:**

حضرت البيئة بإضافة الأغار إلى بيئة المرق المغذي عند تحضيرها حسب تعليمات الشركة المصنعة للحصول على نسبة 0.5 % أغار في الحجم النهائي، تم صب البيئة في أنابيب وبشكل عامودي وحفظت لحين الاستخدام (Murray *et al*., 2003).

**3. 2. 2. 4. وسط اليوريا:**

حضر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة وذلك بإضافة 10 مل من محلول اليوريا المحضر مسبقاً والمعقم بالترشيح إلى 100 مل من أساس اغار اليوريا المعقم بالموصدة والمبرد حتى الدرجة 50 م°، بعد مجانسة البيئة تم صبها في أنابيب ووضعت بشكل مائل حتى تتصلب (MacFaddin, 1985).

**3. 2. 2. 5. وسط آغار موللر هينتون الدموي:**

أُستخدم هذا الوسط في اختبار تحسس المضادات الحيوية للجراثيم المعزولة حيث تم تحضيره حسب تعليمات الشركة المصنعة وذلك بوزن 38 غرام أضيفت إلى 1000 مل ماء مقطر ثم مُزج جيداً باستخدام السخان المغناطيسي ثم وضع في الموصدة على الدرجة 121 مْ و ضغط 1.5 بار لمدة 15 دقيقة بغرض التعقيم وتم تبريد الوسط حتى درجة حرارة 45– 50ْ م حيث تم إضافة دم الأغنام منزوع الفبرين بنسبة 5% ومزج حتى التجانس وصب في أطباق بيتري بلاستيكية في المخبر بجانب اللهب في جو عقيمة (Murray *et al*., 2003; Bauer *et al*., 1966)

**3. 2. 2. 6. وسط الجيلاتين:**

استخدم هذا الوسط في الكشف عن قدرة الجراثيم المعزولة على إفراز إنزيم الجيلاتيناز، حيث أذيب 12 غ من مادة الجيلاتين في 100 مل من وسط المرق المغذي ثم وزع الوسط في أنابيب اختبار بمعدل 5 مل لكل أنبوب، عقمت الأنابيب بالموصدة وتركت بعد التعقيم للتتصلب بشكل مائل (Murray *et al*., 2003).

**3. 2. 2. 7. الأوساط الجاهزة للاستخدام:**

بالنسبة لباقي الأوساط المزرعية والجاهزة للإستخدام فقد تم تحضيرها حسب تعليمات الشركة المصنعة كالأتي: بعد وزن الكمية المطلوبة من البيئة المزرعية أضيف لها الماء المقطر وسخنت حتى تمام الانحلال ثم وضعت في الموصدة على حرارة 121 م وتحت ضغط 1.5 بار ولمدة 15 دقيقة، تم صب البيئات المحضرة سواء بالأنابيب أو بأطباق بيتري وحفظت بالبراد ضمن عبوات مغلقة وأكياس لحين الاستخدام.

**3. 2. 3. طريقة جمع العينات Collection of the samples:**

تم أخذ العينة من الخراجات المغلقة بواسطة الماسحة القطنية بعد حلق الجلد فوق سطح الخراج وتعقيم الجلد وعمل شق بمشرط معقم. بينما الخراجات المفتوحة تم تعقيم فتحة الخراج بشكل جيد ثم أخذت العينة بواسطة الماسحة القطنية ومن عمق الخراج، ووضعت بالمرق المغذي ثم نقلت العينات التي تم جمعها بحافظة مبردة وبالسرعة الممكنة إلى مخبر الأحياء الدقيقة، ومخبر الدراسات العليا في كلية الطب البيطري بجامعة حماة.

أما بالنسبة للعينات من الحيوانات المذبوحة فقد تم أخذ عقدة لمفاوية كاملة باستخدام مشرط وملقط معقمين ووضعت في عبوة جمع العينات حيث تم إرسالها للمخبر في حافظة مبردة.

تم تسجيل بيانات كل عينة وتضمنت: رقم العينة – نوع الحيوان – تعداد القطيع– عمر الحيوان – جنس الحيوان – مكان الخراج وحجمه – طبيعة المرعى...

**3. 2. 4. عزل وتحديد هوية الوتدية السلية الكاذبة Isolation and Identification of *C. pseudotuberculosis* :**

**3. 2. 4. 1. اجراءات زرع العينات ودراسة الخواص المزرعية والشكليائية للوتدية السلية الكاذبة:**

زرعت العينات المأخوذة بالماسحات القطنية في المرق المغذي في مخبر الأحياء الدقيقة وضمن مكان عمل مخصص وبجانب اللهب ومع مراعاة إجراءات الزرع والعمل الجرثومي، حضنت الأنابيب على الدرجة 37 م لمدة 24 ساعة بهدف تنشيط الجراثيم، ثم أخذ بواسطة عروة الزرع كمية من المعلق الجرثومي وزرعت بطريقة العزل على الاغار الدموي المضاف له تيلوريت

البوتاسيوم 1% وبعد فترة تحضين 24–72 ساعة عند درجة حرارة 37 مْ. تم قراءة نتيجة النمو حيث أن ظهور مستعمرات صغيرة بيضاء تحيط بها منطقة ضيقة من انحلال الدم الكامل عدت مشتبهة بكونها للوتدية السلية الكاذبة. تم دراسة الخواص الشكليائية والتلوينية لجراثيم هذه المستعمرات من خلال تحضير لطاخة جرثومية مثبتة ومصبوغة بصبغة غرام Gram Stain، حيث يعد ظهور جراثيم عصوية بنفسجية اللون تشبه الاحرف الصينية اشتباه بالوتدية السلية الكاذبة (Quinn *et al*., 2002). بناء على ماسبق تم تنقية تلك المستعمرات بزرعها من جديد على الأغار الدموي بالتيللوريت.

**3. 2. 4. 2. دراسة الخواص الكيمياحيوية للوتدية السلية الكاذبة:**

**3. 2. 4. 2. 1. اختبار الكاتالاز Catalase Test:**

يستخدم هذا الاختبار للكشف على قدرة بعض أنواع الجراثيم على تفكيك الماء الأكسجيني الناتج عن العمليات الاستقلابية لتلك الجراثيم بوجود الأوكسجين باستخدام انزيم الكاتلاز. تم اجراء اختبار الكاتالاز بوضع نقطة من بيروكسيد الهيدروجين (الماء الأوكسجيني) على شريحة زجاجية بعد ذلك وضع جزء من مستعمرة جرثومية فوقها، إن حدوث فوران دليل على أن النتيجة إيجابية (MacFaddin, 2000).

**3. 2. 4. 2. 2. اختبار الأوكسيداز Oxidase Test:**

يستخدم هذا الاختبار لمعرفة أنواع الجراثيم الحاوية على انزيم السيتوكروم الأوكسيداز وذلك باستخدام أقراص مشبعة بكاشف الأوكسيداز (Tetra Methyl-p-Phenediamine) حيث تم ترطيب تلك الأقراص بالماء المقطر ثم أضيف جزء من المستعمرة الجرثومية المراد اختبارها، إن تلون تلك الأقراص باللون الأزرق المسود بعدعدة ثواني دليل على أن النتيجة إيجابية (Atlas *et al*., 1995).

**3. 2. 4. 2. 3. اختبار تخمر السكاكر Sugars fermentation test:**

يجرى اختبار تخمر السكريات بهدف معرفة قدرة الجراثيم المشتبهة على تخمر مجموعة من السكريات (الغلوكوز والمالتوز والفركتوز والمانوز واللاكتوز والسكروز) في وسط تخمر السكريات المحضر مسبقاً في أنابيب ويستدل على ذلك من خلال تغير لون الكاشف عند يصبح الوسط حامضي. أجري الاختبار بزرع الجراثيم المشبهة في وسط تخمر السكريات وبعد التحضين عند

درجة حرارة 37 مْ ولمدة 24–72 ساعة تم قراءة النتيجة حيث يدل تحول لون الوسط إلى اللون الوردي على تخمر السكر الوحيد الموجود في الوسط (Mahon *et al*., 2011).

**3. 2. 4. 2. 4. اختبار اليورياز Urease test:**

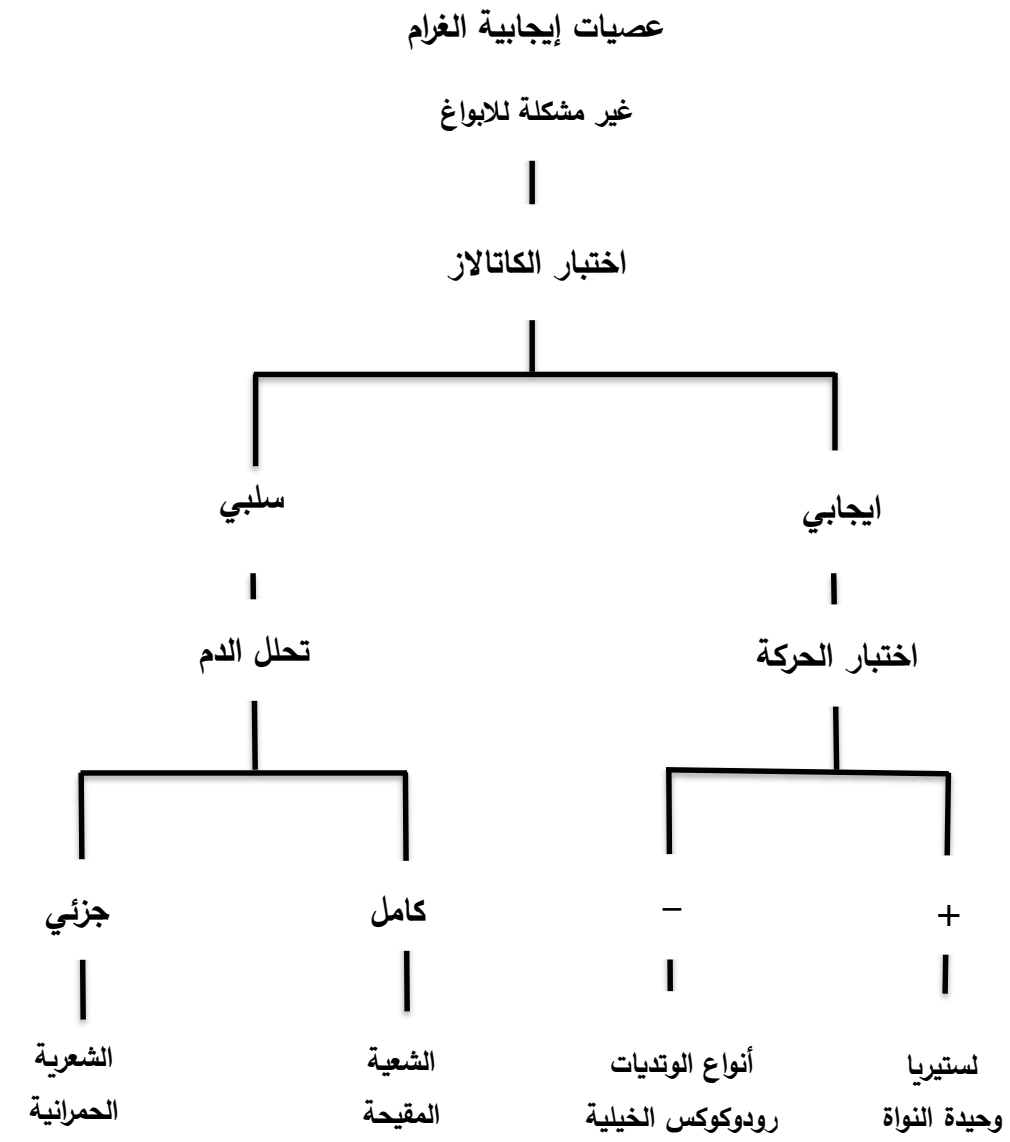
إن الغرض من هذا الاختبار هو معرفة قدرة الجراثيم المختبرة على تحليل اليوريا، حيث زرعت على وسط اليوريا المحضر مسبقاً في أنابيب بالجراثيم المشتبهة وحضنت على درجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة، تعد النتيجة ايجابية عند تغير لون الوسط للون الوردي (Tille, 2017).

**3. 2. 4. 2. 5. اختبار الحركة Motility test:**

أجري هذه الاختبار بهدف معرفة قدرة الجراثيم على الحركة حيث زرعت الجراثيم المشتبهة في بيئة الاغار نصف الصلب المحضرة مسبقاً في أنابيب وبطريقة الوخز باللاقحة الابرية وبعد التحضين على درجة حرارة 37 م ولمدة 24 ساعة تم قراءة النتيجة حيث يدل وجود ضباب على جوانب خط الزرع على ايجابية الاختبار (Murray *et al*., 2003).

**3. 2. 4. 2. 6. اختبار أحمر الميتيل Methyl red test:**

أجري هذا الاختبار بهدف معرفة قدرة الجراثيم على التحلل الكامل لسكر الغلوكوز وانتاج الحمض بحيث يصبح pH الوسط دون 4.2. حيث زرعت الجراثيم المختبرة في بيئة أحمر المتيل السائل وحضن على الدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة وبعدها أضيف عدة قطرات من كاشف أحمر المتيل حيث يدل تحول اللون إلى اللون الأحمر على التحلل الكامل لسكر الغلوكوز وإنتاج الحمض (Hemraj *et al*., 2013).




**مخطط (1) عزل العصيات إيجابية الغرام**

**الجدول (10) الاختبارات الكيمياحيوية للوتدية السلية الكاذبة.**

| | CAT | Oxid | Hly | Mot | Ureas | MR | Gel | Xyl | Mal | Man | Lac | Suc | Fru |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| الوتدية السلية الكاذبة | + | - | كامل ضيق | - | + | + | - | - | + | + | - | - | + |

**3. 2. 5. التعرف الأولي على بعض الجراثيم الأخرى المسببة للخراجات من غير الوتدية:**

أخذت بواسطة عروة الزرع كمية من المعلق الجرثومي للعينات الأولية والمزروعة على بيئة المرق المغذي والمحضنة أصولاً وزرعت بطريقة العزل على وسط الاغار الدموي واغار ماكونكي وعلى وسط المانيتول المالح وبعد فترة تحضين 24–72 ساعة عند درجة حرارة 37 مْ وبظروف هوائية، تم تقييم النمو على هذه البيئات وتم إعادة الزرع بغرض الحصول على منابت نقية للجراثيم.

تم دراسة الخواص المزرعية عليها (شكل المستعمرات وحجمها و نمط تحلل الدم و التعرف على بعض الخواص الاستقلابية كتخمر السكر الموجود في الوسط ...) ثم تم إجراء مجموعة من الاختبارات بهدف التعرف الأولي وتحديد هوية الجراثيم الموجودة في العينات على مستوى العائلة والجنس، تضمنت هذه الاختبارات: إجراء صباغة غرام لدراسة الخواص الشكلية والتلوينية واختبار الكاتالاز والأوكسيداز واختبار الحركة واختبار الأكسدة والتخمير Oxidation(–O) Fermentation(–F) test.

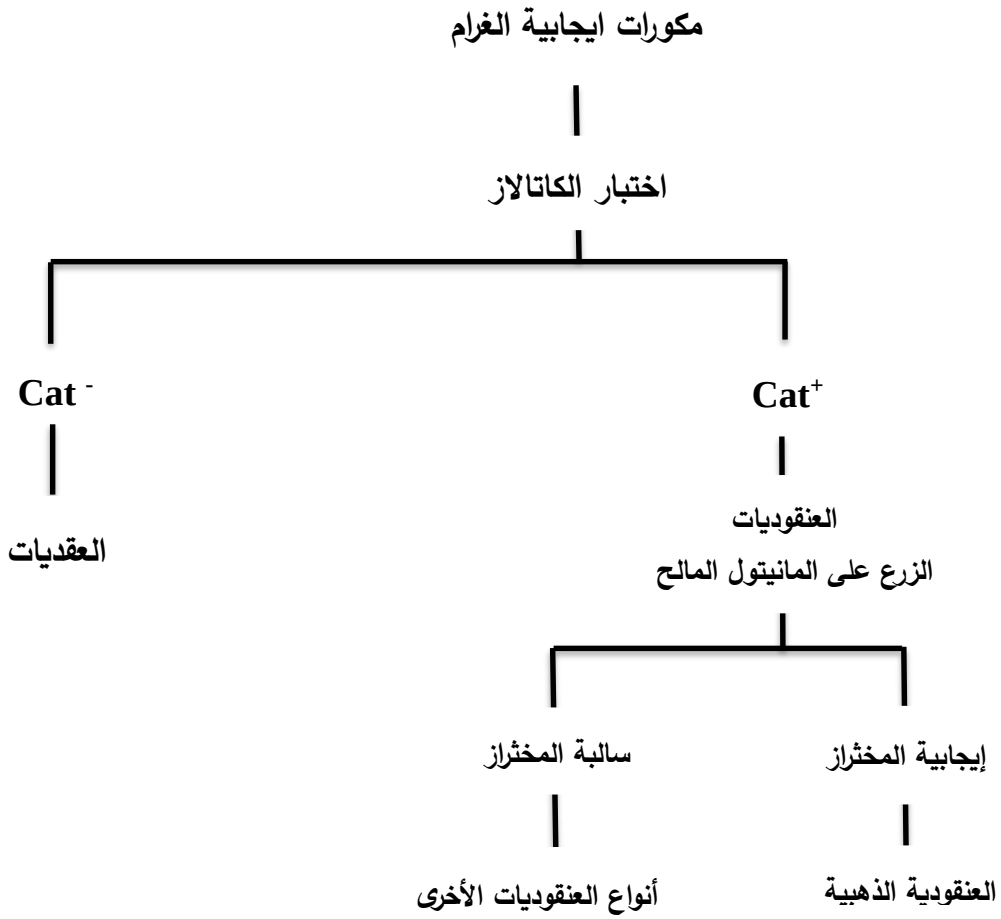
**3. 2. 5. 1. تحديد هوية بعض الأنواع الجرثومية المسببة للخراجات:**

بناءً على نتيجة التعرف الأولي على مستوى الجنس للجراثيم المسببة للخراجات فقد تم عزل وتحديد هوية الأنواع التالية:

**3. 2. 5. 1. 1. عزل وتحديد هوية المكورات العنقودية الذهبية:**

زرعت المستعمرات الجرثومية التي عُدت بنتيجة التعرف الأولي على أنها من جنس العنقوديات على وسط المانيتول المالح المحضر سابقاً بطريقة العزل وحضنت الأطباق المزروعة على الدرجة 37 م° ولمدة 24 ساعة، عزلت المستعمرات الصغيرة رأس الدبوس وذات اللون المصفر والتي خمرت سكر المانيتول وتم دراسة الخواص الشكلية والتلوينية لها بإجراء صبغة غرام، حيث تأخذ هذه الجراثيم شكل المكورات ذات الانتظام العنقودي وهي ايجابية الغرام، وتم إجراء اختبار الكاتالاز حيث أنها تفكك الماء الأوكسجيني وتطلق الأوكسجين على شكل فوران.

أجري اختبار المخثراز Coagulase test وذلك بإضافة 0.5 مل من معلق هذه المستعمرات المنماة على المرق المغذي لمدة 24 ساعة إلى 0.5 مل من بلازما دم الأرنب في أنبوب اختبار ثم حضنت على الدرجة 37 م° ولمدة 4 ساعات وتكون النتيجة ايجابية عند ظهور خثرة في الأنبوب (Baele *et al.*, 2001).




**المخطط (2) تصنيف المكورات إيجابية الغرام**

**3. 2. 5. 1. 2. تحديد هوية الاشريكية القولونية:**

زرعت المستعمرات الجرثومية التي عُدت بنتيجة التعرف الأولي على أنها من عائلة الإمعائيات على بيئة ماكونكي المحضر سابقاً بطريقة العزل وحضنت الأطباق المزروعة على الدرجة 37 م ولمدة 24 ساعة، عزلت المستعمرات وردية اللون المميزة وتم دراسة الخواص الشكليائية والتلوينية لها بإجراء صبغة غرام، حيث تأخذ هذه الجراثيم شكل عصيات صغيرة سالبة الغرام، وتم إجراء اختبار الكاتالاز حيث أنها تفكك الماء الأوكسجيني وتطلق الأوكسجين على شكل فوران، وكذلك تم إجراء اختبار الأوكسيداز وذلك بوضع جزء من المستعمرات المشتبهة على أقراص الأوكسيداز المشبعة بالكاشف وعدت النتيجة ايجابية عند ظهور اللون الأزوق المسود وسلبية عند عدم ظهور اللون خلال عدة ثواني. كما وتم إجراء الاختبارات الكيمياحيوية التالية حسب ( Atlas *et al.*, 1995):

**3. 2. 5. 1. 2. 1. اختبار الأندول Indole test:**

يهدف هذا الاختبار إلى الكشف عن قدرة الجراثيم على إستقلاب الحمض الأميني التريبتوفان وإطلاق غاز الأندول. حيث أجري الاختبار بزرع وسط المرق المغذي بالجراثيم المشتبهه وحضن الوسط على الدرجة 37 م° لمدة 24 ساعة، ثم أضيفت عدة نقاط كاشف كوفاك على سطح المنبت السائل المزروع، إن ظهور حلقة حمراء دليل على ايجابية التفاعل أما إذا لم يتفكك التريبتوفان ولم ينطلق غاز الأندول فتتشكل حلقة صفراء دليل على سلبية التفاعل (Forbes *et al.,* 2007)

**3. 2. 5. 1. 2. 2. اختبار أحمر المتيل وفوكس بروسكاور Voges- Proskauer and: Methyl red test:**

زرعت مجموعتان من الأنابيب الحاوية على وسط MR-VP المحضر مسبقاً بالجراثيم المشتبهة وحضنت الأنابيب على الدرجة 37 م° ولمدة 24 ساعة، بعد الحضن أضيف للأنبوب الأول عدة قطرات من كاشف أحمر المتيل حيث يدل تحول اللون من الأصفر إلى الأحمر على قدرة الجراثيم على تحليل السكر تحلل كامل وانخفاض حموضة الوسط حتى 5.5.

أما المجموعة الثاني فقد أضيف 0.6 مل من ألفا نافتول و0.2 من هيدروكسيد البوتاسيوم 40 % ، يدل تحول اللون إلى اللون الكرزي على أن الجراثيم تحلل السكر بشكل جزئي وينتج مركب diacetyl carbonil

**3. 2. 5. 1. 2. 3. اختبار تمثيل السترات Citrate utilization test:**

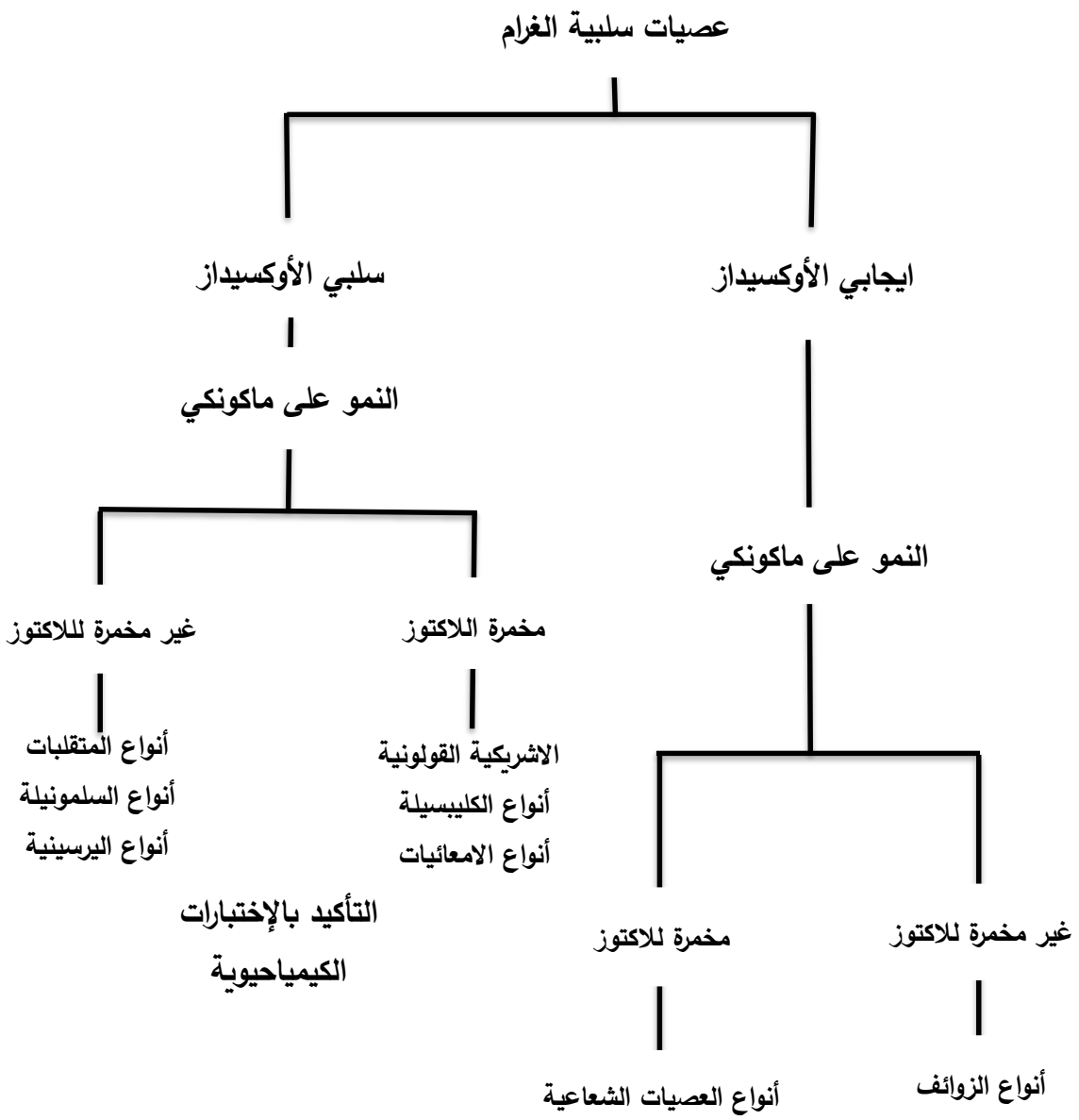
أجري الأختبار بغرض معرفة قدرة الجراثيم على تفكيك سترات الصوديوم واستخلاص الكربون كمصدر وحيد للطاقة حيث زرع وسط السترات لسيمون المحضرة مسبقاً بالأنابيب بالجراثيم المشتبهة وحضنت على الدرجة 37 م° ولمدة 24 ساعة، إن عدم تغير المشعر دليل على عدم القدرة على النمو في حين لون المشعر للون الأزرق دليل على القدرة على النمو ( Brown and Smith, 2017).

**3. 2. 5. 1. 2. 4. اختبار حلمهة اليوريا Urease test:**

زرع وسط اليوريا المحضرة مسبقاً في أنابيب بالجراثيم المشتبهة وحضنت على درجة حرارة 37 م° ولمدة 24 ساعة، تعد النتيجة ايجابية عند تغير لون الوسط للون الوردي (Tille, 2017)

**3. 2. 5. 1. 2. 5. اختبار الكشف عن انتاج غاز كبريت الهيدروجين:**

زرع وسط آغار كليجلر بالجراثيم المشتبهة والمنقاة بطريقة الوخز للجزء القائم والفرش للجزء المائل: حضنت الأنابيب على الدرجة 37 م° ولمدة 24 ساعة وتم قراءة التغيرات الحاصلة في القعر والسطح، حيث يعد تغير لون الكاشف أحمر الفينول للون الأصفر في الجزئين القائم والمائل دليل على تخمر الغلوكوز واللاكتوز في الوسط، في حين اندفاع المنبت إلى الأعلى وتشكل فراغات في بيئة كليجلر دليل على اطلاق غاز، أما في حال انطلاق غاز كبريت الهيدروجين فعندها سيظهر راسب أسود في البيئة ناتج عن تفاعله مع سلفات الحديد الموجودة أساساً في بيئة كليجلر ( Atlase *et al.,* 1995).




**المخطط (3) تصنيف عصيات سلبية الغرام**

### 3 .2 .6 اختبار الحساسية للمضادات الحيوية Antibiotic Sensitivity Test:

اجري اختبار الحساسية للعزولات اتجاه 10 أنواع من المضادات الحيوية كما في الجدول (11) على وسط آغار مولر هينتون المضاف له الدم حسب ما ورد في ( Bauer *et al.*, 1966; Nccls, 2003). وتم اختيار هذه المضادات الحيوية من بين المضادات الأكثر استخداماً والمتوفرة تجارياً (Foley *et al*, 2004).

تم إجراء الاختبار بنقل 1-3 مستعمرة جرثومية حديثة النمو إلى محلول ملحي معقم ومزجها حتى التجانس بغية الحصول على معلق جرثومي متجانس ذو عكاره توافق 0.5 على مقياس ماك-فرلاند Mcfarland. تم زرع 100 µL من المعلق الجرثومي على سطح وسط اغار موللر هينتون المضاف له 5% دم أغنام منزوع الليفين بطريقة الإكثار باستخدام قضيب زجاجي عقيم بشكل حرف L، ترك الطبق المزروع لمدة 10 دقائق ليجف ثم وزعت أقراص المضادات الحيوية على سطح الطبق باستخدام ملقط معقم وبجانب اللهب، حضنت الأطباق على الدرجة 37 م° ولمدة 24 ساعة، تم قراءة النتيجة من خلال قياس قطر مناطق منع النمو للجراثيم حول أقراص المضادات الحيوية ومقارنتها بالجداول القياسية حسب توصيات الشركة المصنعة.

قسمت نتيجة حساسية العزولات للمضادات الحيوية إلى ثلاث فئات وهي:

إما حساسة Sensitive (S)

أو متوسط الحساسية Intermediate (I)

أو مقاومة Resistance (R).

**جدول (11) المضادات الحيوية المستخدمة في اختبار الحساسية للمضادات الحيوية وأقطار التثبيط القياسية.**

| اسم المضاد الحيوي | رمز المضاد الحيوي | تركيز القرص ميكروغرام µg | مقاوم ملم او اقل | متوسط المقاومة ملم | حساس ملم او اكثر |
|---|---|---|---|---|---|
| Tylosin | TY | 30 | 13 | 22-14 | 23 |
| Ampicillin | AM | 10 | 22 | 30-23 | 31 |
| Enrofloxacin | ENR | 5 | 15 | 20-16 | 21 |
| Erythromycin | E | 15 | 13 | 22-14 | 23 |
| Doxicyclin | Dox | 30 | 12 | 15-13 | 16 |
| Amoxicillin | AMX | 25 | 22 | 30-23 | 31 |
| Gentamicin | GN | 10 | 12 | 14-13 | 15 |
| Kanamycin | K | 30 | 13 | 17-14 | 18 |
| Ciprofloxacin | CIP | 5 | 15 | 20-16 | 21 |
| Penicillin | P | 10 | 20 | 28-21 | 29 |

# النتائـج

# Results

## 4. النتائج Results :

### 4. 1. المشاهدات الحقلية:

إن القطعان التي شملتها الدراسة هي قطعان سرحيه تعتمد في تغذيتها على النباتات الرعوية التي تنبت في البرية وبقايا المحاصيل الزراعية وفي حال عدم توفر المرعى يتم تغذيتها على الأعلاف وهذه القطعان أغلبها من الأغنام مع وجود عدد من رؤوس الماعز وقد تم ملاحظة مجموعة من الخراجات على الغدد اللمفاوية السطحية خاصة في منطقة الرأس والرقبة.

### 4. 2. الفحص الإكلينيكي للقطعان المصابة:

أظهر الفحص الإكلينيكي للقطعان التي أجريت عليها هذه الدراسة عن وجود خراجات سطحية عند 65 رأس من الأغنام والماعز (83 خراج) كما هو واضح في الجدول (12) تركزت هذه الخراجات في منطقة الرأس بالقرب من العقد اللمفاوية وعلى الكتف والقفص الصدري كما في الصورة (1)، كانت الخراجات مختلفة الأحجام ومنها ما هو مغلق وبعضها مفتوح، عند فحص محتواها كان القيح معجوني القوام كريمي أو أصفر مائل للخضرة وأحياناً تجبني أخضر.

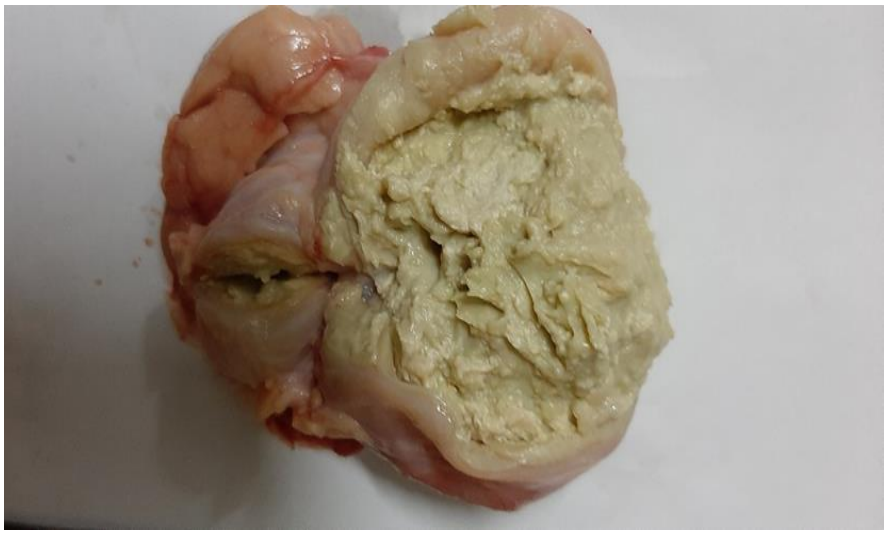
لقد توضعت أغلب الخراجات السطحية عند الأغنام والماعز المشتبهة في منطقة الرأس والرقبة وبنسبة 93.4% و85.7% على التوالي، في حين كانت الخراجات السطحية في منطقة القص والأكتاف قليلة وبنسبة 6.6% عند الأغنام ولم يكشف الفحص الإكلينيكي عن أي خراجات سطحية في منطقة الخاصرة والألية عند الحيوانات المفحوصة كما في الجدول (12).

**الجدول (12): عدد ونسبة الحيوانات المشتبهة إصابتها بالتهاب العقد اللمفاوية التجبني وعدد الخراجات وتوضعها ونسبتها المئوية عند الأغنام والماعز المصابة.**

| النوع | عدد الحيوانات المصابة | عدد حيوانات كلي | نسبة الحيوانات المصابة | عدد العينات | توضع الخراجات ونسبتها | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | رأس ورقبة | | قص وأكتاف | |
| | | | | | عدد | نسبة | عدد | نسبة |
| أغنام | 60 | 6855 | %0.88 | 76 | 71 | %93.4 | 5 | % 6.6 |
| ماعز | 5 | 321 | %1.56 | 7 | 6 | % 85.7 | 1 | %14.3 |
| مجموع | 65 | 7176 | %0.90 | 83 | 77 | %92,7 | 6 | %7,3 |

**الصورة (1) خراجات مختلفة عند الأغنام والماعز. أ- خراج مغلق لعقد لمفاوية تحت فكية عند الأغنام . ب- خراج مفتوح لعقدة لمفاوية نكفية عند الماعز. ج- خراج مغلق لعقدة لمفاوية نكفية عند الأغنام. د- خراج امام لوح الكتف عند الأغنام.**

أما بالنسبة للحيوانات المذبوحة في المسلخ ، فقد أظهر الفحص بعد الذبح وجود خراجات داخلية واضحة على مستوى العقد اللمفاوية وخاصة في منطقة الرأس والرقبة وعند فتح هذه الخراجات كان قوام القيح ولونه المخضر مميزان كما في الصورة (2).



**صورة (2) خراج لعقدة لمفاوية مأخوذة من أغنام بعد الذبح في المسلخ**

وحسب المراجع والمشاهدات الحقلية فأن قوام القيح ولونة في الخراجات بالإضافة إلى مكان تواجد هذه الخراجات يزيد من احتمالية تشخيص الإصابة بالتهاب العقد اللمفاوية التجبني وبالتالي إمكانية عزل الوتدية السلية الكاذبة كعامل مسبب لهذه الإصابة.

### 4. 3. نتائج عزل الوتدية السلية الكاذبة:

أظهرت نتائج عزل جراثيم الوتدية السلية الكاذبة من الخراجات المأخوذة سابقاً إلى الكشف عن وجود 23 عزولة من الوتدية السلية الكاذبة توزعت إلى 15 عزولة عند الأغنام و2 عزولة عند الماعز و6 عزولات من المسلخ وكانت نسبة عزل الوتدية السلية الكاذبة 22.3% كما في الجدول (13). وذلك من خلال دراسة الخواص المزرعية للمستعمرات النامية على الأغار الدموي بالتيللوريت والخواص الشكلية والتلوينية للجراثيم النامية والمصبوغة بطريقة غرام وبالإضافة إلى الاختبارات الكيمياحيوية المحددة لهوية جراثيم الوتدية السلية الكاذبة كما في الصورة (3) والجدول (13) وحسب مخطط (1) للعزل والمعتمد في هذه الدراسة

**الجدول (13) الجراثيم المعزولة من الخراجات عند الأغنام والماعز ومن الحيوانات المذبوحة في المسلخ ونسبة العزل لكل منها.**

| العامل المسبب | | اغنام | ماعز | من المسلخ | المجموع | نسبة العزل |
|---|---|---|---|---|---|---|
| الوتدية السلية الكاذبة | | 15 | 2 | 6 | 23 | %22.3 |
| إمعائيات | مخمرة للاكتوز | 19 | 2 | 4 | 25 | %26.2 |
| | غير مخمرة للاكتوز | 2 | 0 | – | 2 | |
| عنقوديات | عنقودية ذهبية | 8 | 1 | 5 | 14 | %33 |
| | عنقوديات سالبة المخثراز | 18 | 2 | – | 20 | |
| عقديات | | 1 | 0 | – | 1 | %0.97 |
| لا يوجد نمو | | 22 | 2 | 8 | 32 | %31 |

كما أظهرت نتائج التعرف الأولي على بعض أجناس الجراثيم المعزولة من عينات الخراجات عن الكشف عن وجود جراثيم من جنس العنقوديات والعقديات ومن عائلة الإمعائيات وبنسبة 33% و0,97% و26.2% لكل منها على التوالي كما هو موضح في الجدول (13).

وقد تم عزل وتحديد هوية 14 عزولة للمكورات العنقودية الذهبية من بين 34 عزولة من جنس المكورات العنقودية وذلك من خلال دراسة خواصها المميزه كما في الصورة (3). وقد تم عزل وتحديد هوية 5 عزولات للإشريكية القولونية من بين 27 عزولة من عائلة الإمعائيات وذلك بدراسة خواصها الكيمياحيوية المميزة كما في الصورة (5).

وكشفت النتائج عن 32 عينة خراج عقيمة بطرق الزرع المستخدمة فلم يظهر أي نمو عند إجراء الزرع على الأغار الدموي العادي وبالتيللوريت وعلى آغار ماكونكي وآغار المانيتول المالح.

**جدول (14) عدد ونسبة عزولات الجراثيم المختلفة التي تم عزلها من العينات**

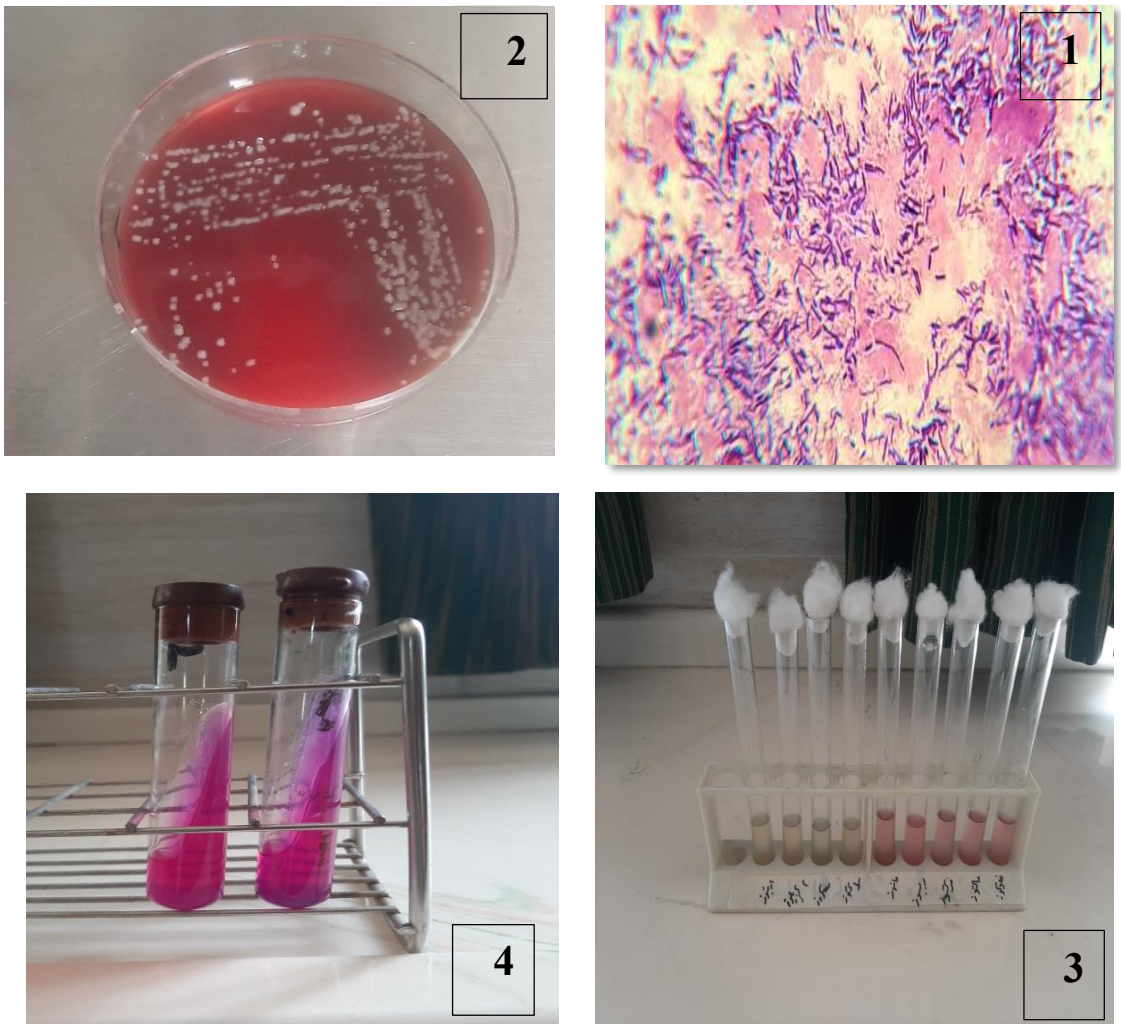
| | اغنام | | ماعز | | المسلخ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **نوع العزولات** | **عدد العزولات** | **نسبة العزل** | **عدد العزولات** | **نسبة العزل** | **عدد العزولات** | **نسبة العزل** |
| **وتدية سلية كاذبة** | 12 | %15.7 | 1 | %14.3 | 4 | %20 |
| **عنقوديات+ وتدية سلية كاذبة** | 3 | %3.94 | 1 | %14.3 | 2 | %10 |
| **إمعائيات + عنقوديات** | 5 | %6.5 | – | – | 1 | %5 |
| **عنقوديات** | 17 | %22.3 | 1 | %14.3 | 2 | %10 |
| **عقديات** | 1 | %1.3 | – | – | – | – |
| **إمعائيات** | 15 | 19.7 | 2 | %28.5 | 3 | %15 |
| **لا نمو** | 22 | 28.9 | 2 | %28.5 | 8 | %40 |

كما أظهرت نتائج العزل أن 12 عزولة للوتدية السلية الكاذبة من الأغنام وعزولة واحدة من الماعز و 4 عزولات من المسلخ حيث كانت بشكل مفرد دون عزل جراثيم أخرى مرافقة بينما أظهرت النتائج 3 عزولات من الأغنام وواحدة من الماعز و عزولتان من المسلخ كانت النتائج عزل مختلط لكل من الوتدية السلية الكاذبة وعنقوديات وأظهرت النتائج 5 عزولات من الأغنام وواحدة من المسلخ نتائج العزل إمعائيات وعنقوديات و 17 عزولة عند الأغنام وواحدة عند الماعز و 2 عزولة من المسلخ كانت عنقوديات بينما العقديات كانت عزولة واحدة من الأغنام والإمعائيات بشكل مفرد كانت 15 عزولة من الأغنام و2 عزولة من الماعز و3 عزولات من المسلخ كما هي موضحة في الجدول(14).

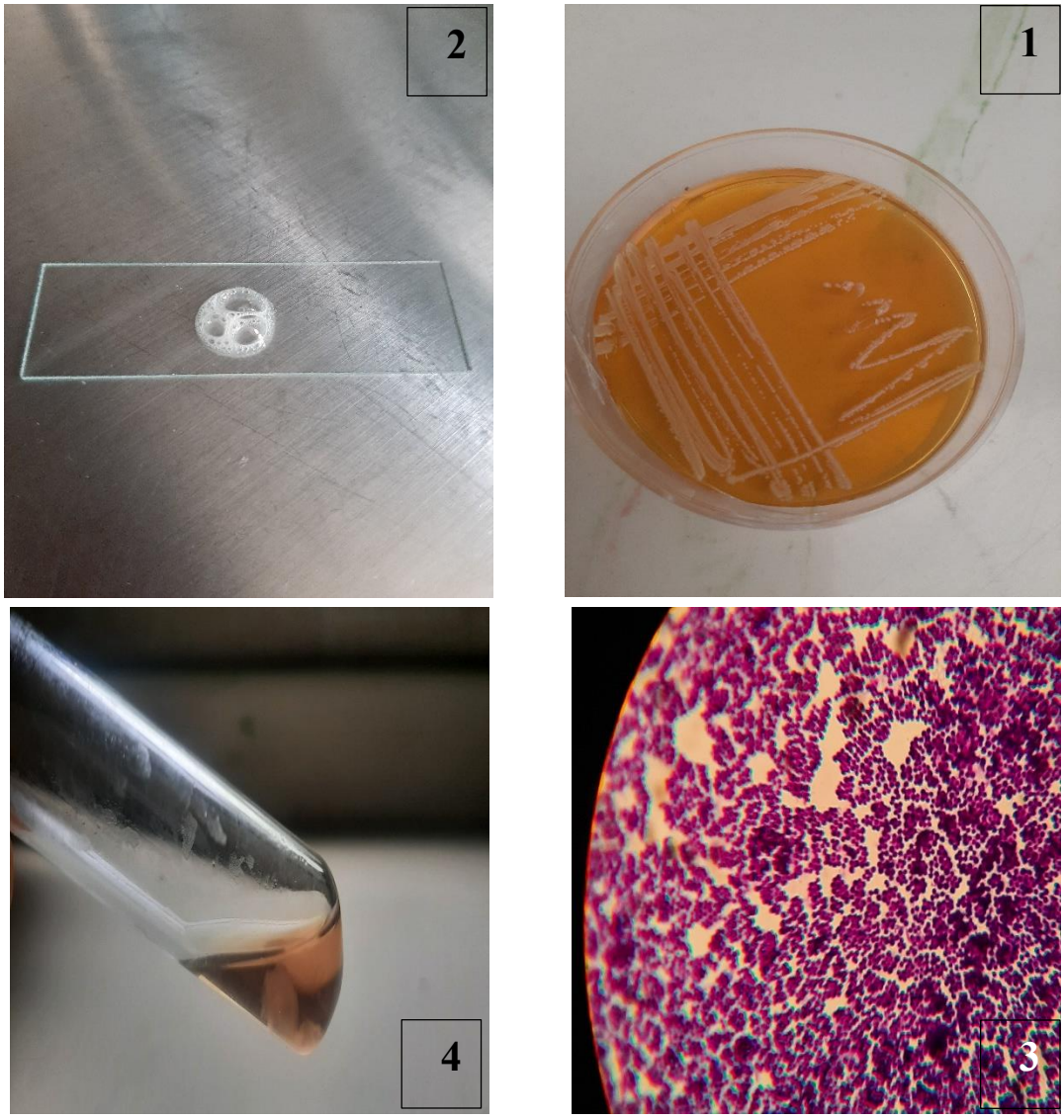
**جدول (15) عدد ونسبة عزولات الوتدية السلية الكاذبة في الأغنام والماعز الكبيرة والصغيرة ومن ذبائح المسلخ.**

| | اغنام صغيرة | اغنام كبيرة | ماعز صغيرة | ماعز كبيرة | ذبائح المسلخ |
|---|---|---|---|---|---|
| **عدد عزلات الوتدية السلية الكاذبة** | 2 | 13 | 0 | 2 | 6 |
| **نسبة عزل الوتدية السلية الكاذبة** | %8.7 | %56.5 | %0 | %8.7 | %26.1 |

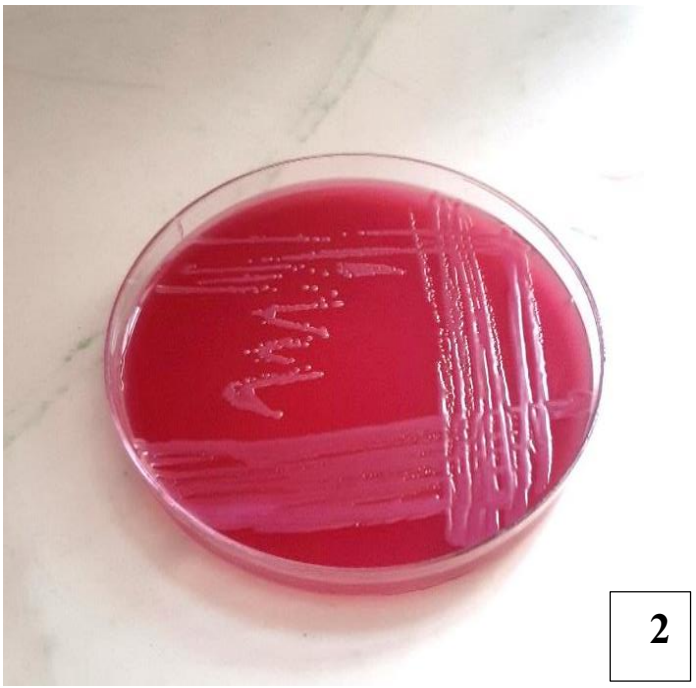
كما أظهرت نتائج الدراسة أن عدد عزولات الوتدية السلية الكاذبة من الأغنام الصغيرة 2 عزولة ومن الأغنام الكبيرة 13 عزولة ومن الماعز الصغيرة لم يتم تحديد أي عزولة ومن الماعز الكبيرة 2 عزولة أما من حيوانات المسلخ فقد تم تحديد 6 عزولات وكانت نسبة العزولات 8.7%،56.5%،0%،8.7%،26.1% على التوالي كما وردت في الجدول (15).




**الصورة (3) خواص الوتدية السلية الكاذبة المعزولة. 1- جراثيم الوتدية السلية الكاذبة مصبوغة بطريقة غرام. 2- مستعمرات الوتدية السلية الكاذبة على الآغار الدموي بالتيللوريت. 3- اختبار تخمر السكاكر المختلفة 4- اختبار اليورياز**




**الصورة (4): الخواص المميزة للمكورات العنقودية الذهبية. 1.- النمو على المانيتول المالح وتخمر المانيتول. 2- اختبار الكاتالاز.3- لطاخة جرثومية مصبوغة بطريقة غرام. 4- اختبار المخثراز**




**الصورة (5): الخواص المميزة للاشريكية القولونية: 1-مجموعة اختبارات كيمياحيوية 2- النمو على منبت ماكونكي وتخمير سكر اللاكتوز وظهور المستعمرات وردية اللون.**

### 4. 4. نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية:

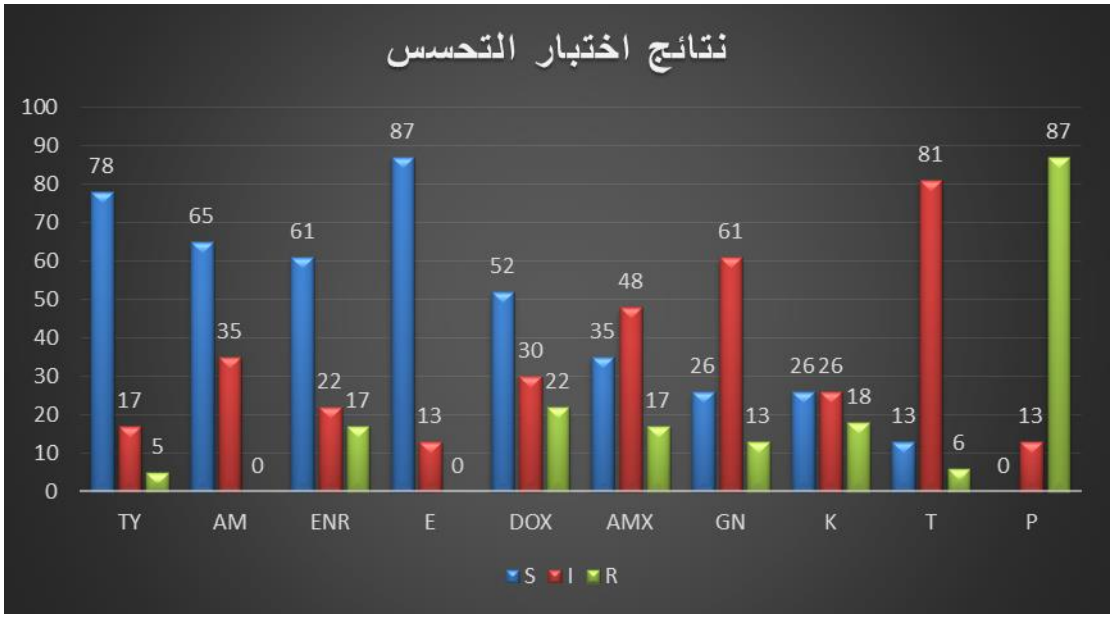
أظهرت نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية لعزولات الوتدية السلية الكاذبة التي تم عزلها وتحديد هويتها وعددها 23 عزولة أغنام وماعز بأنها حساسة للمضادات الحيوية التالية: التايلوزين والارثرومايسين والانروفلوكساسين والامبيسللين والدوكسي سايكلين في حين كانت مقاومة للبنسلين والكنامايسين كما في الجدول (15) والصورة (6).

فقد كان عدد العزولات الحساسة للتايلوزين 18عزولة وبنسبة 78% والأمبيسللين 15 عزولة وبنسبة 65% والانروفلوكساسين 14 عزولة وبنسبة 61% والارثرومايسين 20 عزولة بنسبة 87% والدوكسي سايكلين 12عزولة بنسبة 52%، بالمقابل بينت نتائج الاختبار أنه من بين 20 عزولة كانت مقاومة للبنسلين وبنسبة 87% و11 عزولة كانت مقاومة للكنامايسين وبنسبة 48% كما هو في الجدول (14) والمخطط (4).

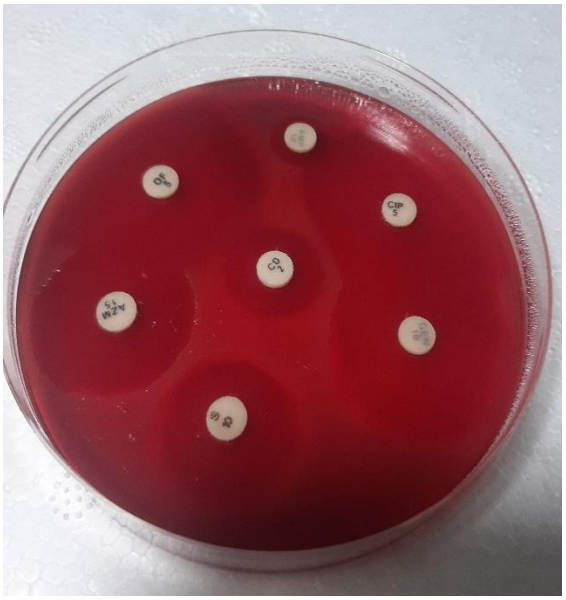
في حين كانت هذه العزولات متوسطة الحساسية للاوكسي تترايسكلين وبنسبة 81% والجنتامايسين بنسبة 58% والاموكسيسلين بنسبة 48%.

**الجدول (15) حساسية عزولات الوتدية السلية الكاذبة للمضادات الحيوية ونسبتها المئوية.**

| عدد العزولات(23) | S | | I | | R | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | عدد | نسبه % | عدد | نسبه % | عدد | نسبه % |
| **تايلوزين** | 18 | %78 | 4 | %17 | 1 | %5 |
| **امبسلين** | 15 | %65 | 8 | %35 | 0 | %0 |
| **انروفلوكساسين** | 14 | %61 | 5 | %22 | 4 | %17 |
| **ارثرومايسين** | 20 | %87 | 3 | %13 | 0 | %0 |
| **دوكسي سايكلين** | 12 | %52 | 6 | %31 | 5 | %22 |
| **اموكسيسلين** | 8 | %35 | 11 | %48 | 4 | %17 |
| **جنتامايسين** | 6 | %26 | 14 | %61 | 3 | %12 |
| **كنامايسين** | 6 | %26 | 6 | %21 | 11 | %48 |
| **اوكسي تترايسكلين** | 3 | %13 | 18 | %81 | 2 | %6 |
| **بنسلين** | 0 | %0 | 3 | %13 | 20 | %87 |




**المخطط (4): نتائج اختبار حساسية عزولات الوتدية السلية الكاذبة للمضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة.**



**صورة (6) اختبار الحساسية للمضادات الحيوية على طبق موللر هنيتون بالدم بعد التحضين 24 ساعة على الدرجة 37 م°.**

# المناقشة

# Discussion

## 5. المناقشة Discussion:

إن الغاية من هذه الدراسة هو عزل وتحديد هوية الوتدية السلية الكاذبة عند الأغنام والماعز في محافظة حماة، هذه الجراثيم المسببة لمرض التهاب العقد المفاوية التجبني، والذي يتميز بظهور خراجات على العقد اللمفاوية السطحية أو إصابة على مستوى الأعضاء الداخلية، وكون الإصابة غالبا ما تكون مزمنه و تحت اكلينيكية، فإن السيطرة صعبة على هذا المرض في مختلف أنحاء العالم (Baired and Fontaine, 2007)، وعلى الرغم من أهمية هذا المرض وما يسببه من خسائر اقتصادية إلا أنه غير مدروس في سورية ولا توجد أي دراسة على حد علمنا حول هذا المرض أو عن مسببه باستثناء ما ذكره الحوالة عام 2011 عندما درس مسببات الخراجات السطحية في المنطقة الشرقية حيث تم عزل مجموعة من المسببات الجرثومية كان من بينها الوتدية السلية الكاذبة.

وانطلاقاً من ذلك كان لابد من تسليط الضوء على هذا المرض والكشف عنه من خلال عزل وتحديد هوية العامل المسبب من خلال أفاته النوعية المتمثلة بالخراجات، وقد تم اختيار محافظة حماة لإجراء هذه الدراسة لتركز عدد كبير من قطعان الأغنام والماعز فيها، فهي تعد من المحافظات الأولى في تعداد هذه القطعان، ومن ناحية ثانية لقربها من مخابر كلية الطب البيطري مكان إجراء هذا البحث.

توصلت هذه الدراسة إلى عزل وتحديد هوية 23 عزولة للوتدية السلية الكاذبة باستخدام الزرع والعزل الجرثومي من 103 عينة مأخوذة من 65 حيوان مشتبه بإصابته بالتهاب العقد اللمفاوية التجبني منها 76 عينة أغنام و7 عينات ماعز و20 عينة من أغنام وماعز مذبوحة في المسلخ البلدي في محافظة حماة، وبنسبة عزل 22.3%.

هذه النسبة كانت متقاربة مع ما توصل إليه الحوالة عام 2011 في بحثه عن مسببات الخراجات السطحية في محافظة دير الزور، حيث كانت نسبة عزلها 21.67%، وقد كانت مقاربة لنسبة العزل في العديد من الدراسات منها في السودان والسعودية حيث كانت نسبة عزل الوتدية السلية الكاذبة 19.8% و27.84% في السودان والسعودية منطقة القصيم على التوالي (Rodwan, Al-Harbi, 2011; *et al.*, 2013).

لقد كانت نسبة عزل الوتدية السلية الكاذبة في هذه الدراسة أكبر مما ذكره كل من Oreibyوزملائه عام 2011 في مصر وCetinkaya وزملائه عام 2002 في تركيا و Zavoshti وزملائه عام 2012 في إيران التي كانت بنسبة 6.74% و3.5% و12.6% على التوالي.

وأقل مما ذكره Afifi عام 2020 في دراسة عن الوتدية السلية الكاذبة عند الأغنام المصابة بالخراجات السطحية في محافظة بني سويف في مصر حيث كانت نسبة العزل 48.39%

وقد يعود هذا الإختلاف في نسبة العزل إلى رعي الأغنام في مناطق حاوية على نباتات شوكية أو في مناطق جبلية أو نظام التربية سرحية او مقيدة في مراكز تسمين.

أظهرت نتائج الدراسة أن نسبة عزل الوتدية السلية الكاذبة عند الماعز كانت 2.4 % هذه النسبة منخفضة مقارنة مع الدراسات الأخرى التي تم تسجيلها في السودان وفي مصر والتي كانت 12%، 7.7% على التوالي (Sanouci *et al.,* 1989 ; Al–Gaabary *et al.,* 2009)، وعلى الرغم من تقارب نتائج هذه الدراسة مع نتائج Chikhaoui وزملائه عام 2013 والتي كانت 3.6% إلا أن عدد عينات الخراجات المأخوذة من الماعز في هذه الدراسة كانت قليلة حيث أنه أساساً كان عدد العينات المأخوذة من الماعز أقل من الأغنام وذلك بسبب الأعداد القليلة للماعز والمرباة غالباً مع الأغنام في قطعان الدراسة فهي غير مرغوبة من حيث اللحم وحليبها أقل استساغة من حليب الأغنام.

أما من حيث نسبة عزل الوتدية السلية الكاذبة في الحيوانات المذبوحة في المسلخ، فقد بينت النتائج أن نسبة العزل كانت 30 % سواء كانت الذبائح أغنام أو ماعز، فمن أصل 20 عينة تم عزل الوتدية السلية الكاذبة من 6 عينات، وهذه النسبة عالية مقارنة مع نسبة العزل من الحيوانات الحية وهذا منطقي كون الخراجات على مستوى العقد اللمفاوية تكون أكثر وضوحا في الحيوانات المذبوحة وبعد السلخ والتجويف وكذلك من السهل تقييم وكشف العقد اللمفاوية المتجبنة من حيث قوام وشكل القيح المميز للخراجات المعزولة.

كما وقد بينت نتائج هذه الدراسة أن نسبة 31 % من مجموع العينات كانت سلبية للزرع الجرثومي وحسب الإجراءات المتبعة وهذه النسبة أعلى بكثير مما تم ذكره من قبل EL Babiker and Sanousi عام 2004 حيث كانت النسبة 2.5%، وكذلك أعلى من النسبة 10.53% التي توصل إليها Tadyon وزملائه عام 1980.وهذه النسبة قد تعزى للمستوى المناعي عند الحيوانات، حيث تقوم الخلايا البلعمية ببلعمة بعض الجراثيم مثل عصيات الوتدية السلية الكاذبة القادرة على

قتلها، بحيث تسبب بجفاف محتوى الخراج وبالتالي موت المسببات الجرثومية بداخلها أو تدفعها إلى خارج الجسم عند نضوج الخراج، وقد يكون السبب طريقة أخذ العينة بالماسحة القطنية حيث أن حجم العينة ومكان أخذ العينة من الخراج قد يكون السبب مع العلم أن معظم هذه العينات من خراجات مغلقة (Gezon *et al.*, 1991).

تم الاعتماد على عزل وتحديد هوية الوتدية السلية الكاذبة على العزل والزرع الجرثومي ومن خلال دراسة الخواص الشكليائية والتلوينية وعلى الزرع على منبت الاغار الدموي بالتيللوريت وعلى الخواص الكيمياحيوية وهذه الإجراءات تعد دقيقة ونوعية في الكشف عن الوتدية السلية الكاذبة وقد اعتمدت عليها أغلب الدراسات السابقة في هذا المجال ( Quinn *et al.,* 2011; huerta, 2013; Baird and Fontaine, 2007; Guimaraes *et al.,* 2011). على الرغم من وجود تقنيات أخرى مثل التقنيات الجزيئية باستخدام تفاعل البولميراز المتسلسل PCR والتي توفر الكثير من الوقت والجهد وتعد من أكثر الطرق دقة (Nassar *et al.*, 2015).

كشفت نتائج الدراسة الحالية عن التوصل لعزل مسببات أخرى غير الوتدية السلية الكاذبة مثل المكورات العنقودية والعقديات والإمعائيات وبنسبة 33 %، 0.97 % ، 26.2 %، إن المكورات العنقودية والعقدية تعد من المسببات الرئيسة للخراجات السطحية وهي ذات طبيعة تقيحية فمن المنطقي عزل مثل هذه المسببات من الخراجات السطحية (Afifi, 2020)، أما بالنسبة للإمعائيات فغالبا نتيجة التلوث الثانوي وخاصة عندما تكون الخراجات مفتوحة، طبعا ولا نستطيع تجاهل الخطأ في أخذ العينة من الخراج والذي يمكن أن يكون سبب في عزل مثل هذه الجراثيم، فقد وجد أن بعض الخراجات قد تم عزل أكثر من مسبب من (Baird and Fontaine, 2007).

بينت نتائج هذه الدراسة أن نسبة الحيوانات المصابة كانت 0.9% من عدد الحيوانات الكلي التي شملتها الدراسة وأن نسبة إصابة الأغنام 0.88% وقد كانت أغلب هذه الأغنام بعمر أكبر من سنه. هذه النسبة مقاربة لما ذكره الحوالة عام 2011 حيث بلغت النسبة لدية 1.28% وكذلك مقاربة لما ذكره Asghar وزملاؤه عام 2009 حيث أشار أن نسبة الإصابة في الأغنام في السعودية هي 2.58%.

على مستوى المشاهدات الحقلية فقد لوحظ أن أعلى نسبة للإصابة بالخراجات كانت في منطقة الرأس والرقبة حيث بلغت 93.4% وهذه النسبة كانت متقاربة مع أغلب الأبحاث في هذا المجال فقد كانت نسبة توضع الخراجات في منطقة الرأس والرقبة أكثر من 80 % ( Ashraf *et al.,*

2019; Menzies *et al.,*1994، الحوالة، 2011). بينما كانت نسبة الإصابة بالخراجات في منطقة الرأس والرقبة عند الأغنام في السعودية 74% (Hassan *et al.,* 2011)، يعزى هذا المعدل المرتفع للعدوى في منطقة الرأس والرقبة أكثر من غيرها بسبب الجروح الصغيرة الناتجة عن القص ونطح الرأس والرعي في المناطق التي تحتوي نباتات شوكية قد يكون هو طريق العدوى عند الحيوانات المصابة (Williamson, 2001)

أما في منطقة القص والكتف فقد بلغت نسبة الإصابة 6.6% وهي متقاربة مع ما ذكره الحوالة عام 2011 وأقل مما توصل إليه Asghar وزملاؤه و Hassan وزملاؤه حيث بلغت النسبة 32% و 26% على التوالي وقد يعود ذلك إلى وجود الغطاء الصوفي الكثيف والذي يعيق ملاحظة تلك الخراجات إلا في حال كبر حجم الخراج أو سبب إعاقة حركية للحيوان المصاب أو أثناء جز الصوف

أظهرت نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية بأن عزولات الوتدية السلية الكاذبة المعزولة في هذه الدراسة كانت حساسة للتايلوزين والارثرومايسين والانروفلوكساسين والامبيسللين والدوكسي سايكلين ومتوسطة الحساسية للاوكسي تترايسكلين والاموكسيسلين والجنتامايسين في حين كانت مقاومة للبنسلين والكنامايسين.

لقد تم اختيار مجموعة المضادات الحيوية في هذه الدراسة لإجراء اختبار الحساسية بناء على الدراسات السابقة فهي الأكثر استخداماً في الأبحاث في هذا المجال وبشكل موازي قد تكون الأكثر فعالية في العلاج على الحيوان الحي (Afifi, 2020, Hassan, *et al*., 2011, Kumar *et al.,* 2012, Madut and Abdelgadir, 2011, Ababe and Tessema, 2015, Tonpitak, *et al.,* 2008).

تم إجراء اختبار الحساسية للمضادات الحيوية باستخدام بيئة موللر هنتون الدموي هذا يتلائم مع خواص الوتديات بشكل عام والوتدية السلية الكاذبة التي تحتاج إلى بيئات غنية على الرغم من إمكانية إجراء الاختبار على بيئة موللر هنتون إلا أنه من الأفضل إضافة الدم (Bauer *et al*., 1966; NCCLS, 2003).

عموماً توافقت نتائج هذه الدراسة مع أغلب الدراسات السابقة في هذا المجال. فقد كانت متقاربة مع ما ذكره Hassan وزملائه بأنها حساسة للتايلوزين والدوكسي سايكلين ومتوسط الحساسية للاوكسي تترايسكلين والاموكسيسلين والجنتاماسين والكانامايسين ومقاومة للبنسلين والكولستين

والاريثرومايسين (Hassan *et al.*, 2011)، ومع ما ذكره Madut and Abdelgadir بأنها حساسة للارثرومايسين والجنتامايسين والسيبروفلوكساسين والاوكسي تترايسكلين ومقاومة للبنسلين ومع ما ذكره Ababe and Tessema عام 2015 بأنها حساسة للتترايسكلين والكانااميسين والدوكسيسايكلين ومقاومة للامبيسللين والكلندامايسين وما ذكره Tonpitak وزملائه عام 2008 بأنها حساسة للانروفلوكساسين والبنسلين والاوكسي تترايسكلين والاموكسيسلين ومقاومة للجنتامابسين.

ولكن تباينت الدراسات السابقة في مقاومة الوتدية السلية الكاذبة لبعض المضادات الحيوية ضمن ظروف المخبر وخصوصا بالنسبة للجنتامايسين والأمبيسلين والكلندامايسين والاريثرومايسين، وقد يعود ذلك للاستخدام العشوائي للمضادات الحيوية في معالجة العديد من الأخماج أو للمعالجة الطويلة الأمد للخراجات بالمضادات الحيوية في حالة الإصابة بالتهاب العقد المفاوية التجبني وقد يكون للوتدية السلية الكاذبة القدرة على تطوير مقاومة اتجاه المضادات الحيوية.

على الرغم من أن الكثير من الدراسات قد اختبرت حساسية عزولات الوتدية السلية الكاذبة في المخبر إلا أن هناك من طرح فكرة أنه من غير المستحسن المعالجة بالمضادات الحيوية لهذا النوع من العدوى (Brown and Olander, 1987)، إذ أنها تحتاج إلى معالجة طويلة لكون الإصابة مزمنة هي مقاومة للعلاج بالمضادات الحيوية بسبب التغليف الكثيف للخراج فبالتالي لا يصل تركيز مناسب من المضاد الحيوي إلى العقد المفاوية المصابة (Olson *et al.,* 2002).

# الاستنتاجات والتوصيات

# Conclusions
# &
# Recommendation

## 6. الاستنتاجات والتوصيات Conclusion and Recommendations:

### 6. 1. الاستنتاجات Conclusions:

1- جراثيم الوتدية السلية الكاذبة تصيب قطعان الأغنام والماعز في محافظة حماة وتسبب إصابتها بالتهاب العقد اللمفاوية التجبني فقد تم عزلها وتحديد هويتها وبنسبة 22.3 % من حالات مشتبهة تظهر عليها الخراجات السطحية في منطقة الرأس والرقبة أو من حيوانات مذبوحة من عقد لمفاوية متجبنة.

2- الوتدية السلية الكاذبة حساسة للصادات الحيوية التالية: التايلوزين والامبسلين والانروفلوكساسين والارثرومايسين والدوكسي سايكلين ومقاومة للبنسلين والكنامايسين ضمن ظروف المخبر وبالتالي ينصح باستخدامها في علاج الأغنام والماعز المصابة بالتهاب العقد اللمفاوي التجبني طبعاً مع الأخذ بعين الاعتبار تطبيق الإجراءات العلاجية الموصى بها في علاج الخراجات.

3- لا يمكن الاعتماد على الأعراض الظاهرة على الأغنام والماعز المصابة بالتهاب العقد اللمفاوية التجبني والمتمثلة بظهور الخراجات السطحية في منطقة الرأس والرقبة والصدري وخاصة في المراحل الأولى في تشخيص الإصابة بالوتدية السلية الكاذبة.

### 6. 2. التوصيات Recommendations:

1- تحديد هوية الوتدية السلية الكاذبة بالطرق الجزيئية باستخدام تفاعل البوليمراز المتسلسل ومقارنتها مع طرق تحديد هويتها بالطرق التقليدية ومقارنة الحساسية والنوعية بين الطريقتين.

2- الاعتماد في زرع وعزل جراثيم الوتدية السلية الكاذبة على منبت الأغار الدموي يالتيللوريت 1 % والتحضين لمدة 48 72 ساعة حتى تظهر مستعمراتها بوضوح وتظهر خاصية التحلل الدموي.

3- تطبيق علاج بالمضادات الحيوية (التايلوزين والامبسلين والانروفلوكساسين والارثرومايسين والدوكسي سايكلين) على الحيوانات الحية مع تطبيق الاجرائات الصحية المتبعة عند العلاج.

4- إجراء اختبار تحسس الوتدية السلية الكاذبة للمضادات الحيوية على منبت الآغار الدموي وبشكل دوري للكشف عن نشوء ظاهرة المقاومة للمضادات الحيوية.

5- عزل الحيوانات المصابة بالخراجات السطحية عن الحيوانات السليمة ومعالجتها لتجنب الازمان وبالتالي جدوى العلاج ولتقليل العدوى وتجنب تلوث المرعى.

6- تطبيق الإجراءات الصحية عند تحصين قطعان الأغنام والماعز ووعند إجراء عمليات جز الصوف وذلك بتعقيم محقن التلقيح وأدوات جز الصوف وقص الشعر وجميع الأدوات التي تستخدم أكثر من مرة بين حيوان وآخر.

7- تطبيق لقاح التهاب العقد اللمفاوية التجبني على القطعان الموجودة مع العمل على إنشاء قطعان خالية من التهاب العقد اللمفاوية التجبني.

# الملخص

# Summary

### 7. 1. الملخص Summary:

تعد جراثيم الوتدية السلية الكاذبة سبباً في حدوث مرض التهاب العقد اللمفاوية التجبني عند الأغنام والماعز، هذه الإصابة تؤدي إلى خسائر إقتصادية فادحة، وقد أجريت هذا الدراسة بهدف عزل وتحديد هوية الوتدية السلية الكاذبة بالطرق التقليدية وتحديد أفضل المضادات الحيوية التي يمكن أن تستخدم في علاجها.

تم جمع 83 عينة خراج مأخوذة من 65 حيوان مشتبه بالإصابة (من 57 قطيع) من الأغنام والماعز في محافظة حماة بالإضافة إلى20 عينة خراج من حيوانات مذبوحة بالمسلخ.

جميع العينات خضعت لإجراءات الزرع على منبت الأغار الدموي بالتيللوريت 1% وتم تحديد هويتها من خلال دراسة خواصها الشكلية والتلوينية والمزرعية والكيمياحيوية، كما وقد تم التعرف الأولي والثانوي على أهم الأجناس والأنواع والتي عزلت من تلك الخراجات.

أظهرت نتائج الفحص الإكلينيكي للأغنام والماعز المصابة عن تواجد للخراجات السطحية عند الأغنام والماعز المشتبهة في منطقة الرأس والرقبة وبنسبة 93.4% و85.7% على التوالي ولم يلاحظ خراجات في منطقة الخاصرة والالية، وقد أظهرت نتائج الزرع والعزل عن التوصل إلى 23 عزولة وتدية سلية كاذبة وبنسبة 22.3%، كما وتم التعرف على الجراثيم من جنس العنقوديات والعقديات والإمعائيات وقد تم تحديد هوية المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية. وبإجراء اختبار الحساسية لعزولات الوتدية السلية الكاذبة على منبت مولر هينتون الدموي تبين أنها حساسة للتايلوزين والامبسلين والانروفلوكساسين والارثرومايسين والدوكسي سايكلين ومقاومة للبنسلين والكنامايسين.

إن تحديد هوية الوتدية السلية الكاذبة ممكن بالطرق التقليدية في مخابر التشخيص الجرثومي وقد يكون استخدام طرق أخرى مثل الطرق الجزيئية أكثر موثوقية وهذا يتطلب مزيد من البحث في هذا المجال.

---

الكلمات المفتاحية: الوتدية السلية الكاذبة، الالتهاب العقد اللمفاوية التجبني، الأغنام، الماعز، تحديد هوية الوتدية السلية الكاذبة.

## 7. 2. Abstract:

*Corynebacterium pseudotuberculosis* is the cause of caseous lymphadenitis in sheep and goats This infection leads to heavy economic losses, and this study was conducted with the aim of isolating and identifying Corynebacterium pseudotuberculosis by traditional methods and to determine the best antibiotics that can be used in its treatment.

83 abscess samples were collected from 65 suspected animals (from 57 herds) of sheep and goats in Hama governorate, in addition to 20 abscess samples from carcasses.

All samples were subjected to culture procedures on blood agar culture with 1% tellurite, and their identification was determined by studying their morphological, colouring, culture and biochemical characteristics. The primary and secondary identifications were made on the most important genera and species that were isolated from these cysts.

The results of the clinical examination of the infected sheep and goats showed the presence of superficial abscesses in the suspected sheep and goats in the head and neck area, with a percentage of 93.4% and 85.7%, respectively. Abscesses were not observed in the loin and buttock area. The results of transplantation and isolation showed that 23 isolates of false tuberculosis are isolated, with a rate of 22.3%, and bacteria from the genus *Staphylococcus streptococci* and *Enterobacter* were identified, and the identification of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* was identified. By conducting a sensitivity test of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates on Mueller Hinton Blood agar culture, it was found that they are sensitive to Tylosin, Ampicillin, Enrofloxacin, Erythromycin, and Doxycycline. It is resistant to Penicillin and Kanamycin.

*C. pseudotuberculosis* can be identified by conventional methods in bacterial diagnostic laboratories, and the use of other methods such as molecular methods may be more reliable, and this requires further research in this field.

---

Key words: *Corynebacterium pseudotuberculosis*, Caseous Lymphadenitis, Sheeps, Goat, Identification of *Corynebacterium Pseudotuperculosis.*

# المراجع

# References

## المراجع العلمية *References*:

### المراجع العربية:

1. الحوالة، سليمان، (2011). التقصي عن المسببات الجرثومية للخراجات السطحية عند أغنام العواس في المنطقة الشرقية من سوريا، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة البعث.

### المراجع الأجنبية:

1. Abebe, D. and Tessema, T. S. (2015): Determination of *Corynebacterium pseudotuberculosis* prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of isolates from lymph nodes of sheep and goats at an organic export abattoir, Modjo, Ethiopia. Lett. Appl. Microbiol. 61, 479–476.
2. Adnan, K., Sudeshna, S.; Ghosh, b. and Bolesa, R. (2014): Triclosan Promotes *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization. Journal of Pathogens Research 5 (2):1-4.
3. Afife, S, I. (2020): Studies on *Corynebacterium pseudotuberculosis*, *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus aureus* subsp. anaerobius isolated from sheep skin abscesses in Beni Suef Governorate. 1, P.149-153
4. Al-Gaabary, M. H.; Osman, S. A. and Oreiby, A. F. (2009): Caseous lymphadenitis in sheep and goats: clinical, epidemiological and preventive studies. Small Rumin Res. 87: 116-121.
5. Al-Harbi, K. B. (2011): Bacterial isolates from visceral abscesses of sheep at Qassim Saudi Arabia. African Journal of Microbiological Research. 5:5622-5627.
6. Alloui, M. N.; Kaba, J. and Alloui, N., (2011): Prevalence and risk factors of caseous lymphadenitis in sheep and goats of Batna area (Algeria). Res Opin Anim Vet Sci 1: 162-164.
7. AL-Tuffyli, Y. I. Kh. and Shekhan, M. I. (2012): Clinical and Bacteriological Study of Subcutaneous abscesses caused by gram positive bacteria in cow and sheep in Al-Qadissiyia province Vet. Med. Sci 11-2.
8. Alves, F. S. F.; Santiago, L. B. and Pinheiro, R. R. (2007): Linfadenite Caseosa: O Estado da Arte. Embrapa Caprinos, Doc. 74.

9. Anderson, M. L.; Lean, I. J. and Blanchard, P.C. (1980): *Corynebacterium pseudotuberculosis* associated skin disease of holstein cattle in the San Joaquin Valley, California. Bov Pract 73-75.
10. Arsenault, J.; Girard, C., Dubreuil, P.; Daignault, D., Galarneau, J. R.; Boisclair, J.; Simard C. and Bélanger, D. (2003): Prevalence of and carcass condemnation from maedi-visna, paratuberculosis and caseous lymphadenitis in culled sheep from Quebec, Canada, Prev. Vet. Med. 59 67-81.
11. Asghar, A.; Hassanien, O.; Zafar, T., Mashaat, B. and Abdel-Latif, S. (2009): Epidemiological Study on *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Imported and Native Sheep Ready for slaughter during Hajj season 1426H. journal of agricultural and veterinary sciences, Vol.2, P.25-32.
12. Ashraf, A.; Abd El Tawab, A. M.; Rizk, S. E. and Afifi, R. M. (2019): *Corynebacterium Pseudotuberculosis* infection in small ruminant and molecular study of virulence and resistance genes in Beni-Suef governorate Benha Veterinary Medical Journal. 37 122-127.
13. Aslan, Ö.; Gümüşsoy, K. S.; Karaca Bekdik, I.; Akçay, A. and Demiral, Ö.O. (2016): Seroprevalence of caseous lymphadenitis in Kangal Akkaraman sheep. Turk J Vet Anim Sci 40: 811-816.
14. Atlase, R. M.; Brown, A. E. and Parks, L. C. (1995): Laboratory Manual Experimental Microbiology. Mosby-Comp:119-121
15. Augustine, J. L. and Renshaw, H. W. (1986): Survival of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in axenic purulent exudate on common barnyard fomites. American Journal of Veterinary Research 47, 713-715.
16. Babiker, A. and El-Sanousi, S. (2004): Effects of Fattening on the Occurrence of Sheep Abscess Diseases, Morel's Disease, Deutscher Tropentag, 5-7.
17. Baele, M.; Storms, V.; Haesebrouck, F.; Devriese, L.A.; Gillis, M.; Verschraegen, G.; De Baere, T. and Vaneechoutte, M. (2001): Application and evaluation of the interlaboratory reproducibility of tRNA intergenic length polymorphism analysis (tDNA PCR) for identification of *Streptococcus species*. J Clin Microbiol 39:1436-1442.

18. Baird, G. J. and Fontaine, M. C. (2007): *Corynebacterium pseudotuberculosis* and its role in ovine caseous lymphadenitis. Journal of Comparative Pathology, v.137, p.179–210.

19. Baron, E. J.; Finegold, S. M. and Peterson, I. L. R. (2007): Bailey and Scotts Diagnostic Microbiology. 9th ed. Mosby Company. Missouri.

20. Bauer, A. W.; Kirby, W. M.; Sherris, J. C. and Turck, M. (1966): Antibiotic susceptibility by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol 45:493–496.

21. Bergdoll, M. S. (1983): Enterotoxins. In C. S. Easmon and C. Adlam. Staphylococci and staphylococcal infections. London: Academic Press Inc., pp. 559–598.

22. Billington, S. J.; Esmay, P. A. and Songer, J. G. (2002): Identification a role in virulence of putative iron acquisition genes from *Corynebacterium pseudotuberculosis*. FEMS Microbiology Letters 208, 41–45.

23. Binns, S. H.; Bairley, M. and Green L. E. (2002): Postal survey of ovine caseous lymphadenitis in the United Kingdom between 1990 and 1999, Vet. Rec. 150, 263–268.

24. Binns, S. H.; Green, L. E. and Bailey, M. (2007): Development and validation of an ELISA to detect antibodies to *Corynebacterium pseudotuberculosis* in ovine sera. Veterinary Microbiology 123, 169–179.

25. Brown, A.E. and Smith, H.R. (2017): Benson's Microbiological Applications, Laboratory Manual in General Microbiology. 14thed. McGraw-Hill Higher Education. New York. 438pp.

26. Brown, C. C. and Olander, H. J. (1987): Caseous lymphadenitis of goats and sheep: a review. Vet Bull 57: 1–11.

27. Carter, G. M.; Chengappa, M. M. and Roberts, A. W. (1995): Essentials of Veterinary Microbiology, 5Th edition.

28. Cetinkaya, B.; Karahan, M.; Atil, E.; Kalin, R.; DeBaere, T. and Vaneechoutte, M. (2002): Identification of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolates from sheep and goats by PCR. Veterinary Microbiology, 88, 75–83.

29. Chikhaoui, M. and Khoudja, F. B. (2013): Clinicopathological investigation on caseous lymphadenitis in local breed sheep in Algeria. Trop Anim Health Prod DOI 10.1007.

30. Chirino-Zárraga, C.; Scaramelli, A. and Rey-Valeirón, C., (2006): Bacteriological characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* in Venezuelan goat flocks. Small Rumin Res. 65:170-175.

31. Collett, M. G.; Bath, G. F. and Cameron, C. M. (1994): *Corynebacterium pseudotuberculosis* infections. In: Coetzer, J., Thomson, G.R. Infectious Diseases of Livestock with Special Reference to Southern Africa. 2nd edn. Capetown: Oxford University Press, p. 1387-1395.

32. Collins, M. D.; Hutson, R. A.; Hoyles, L.; Falsen, E.; Nikolaitchouk, N. and Foster, G. (2001): *Streptococcus ovis* sp. nov., isolated from sheep, Inter. J. Systematic and Evolutionary Microbio, 51: 1147-1150.

33. Connor, K. M.; Quierie, M. M.; Baird, G. and Donachie, W. (2000): Characterization of United Kingdom isolates of *Corynebacterium pseudotuberculosis* Using Pulsed-Field Gel Electrophoresis. Journal of clinical microbiology, v. 38, p. 2633-2637,

34. da Costa Barnabé, N. N.; Alves, J. R. A.; de Farias, A. E. M.; Alves, F. S. F.; Faccioli-Martins, P. Y.; Pinheiro, R. R.; de Azevedo, S. S. and Alves, C.J. (2020): Assessment of caseous lymphadenitis in goats in a slaughterhouse in the Brazilian semi-arid region and estimates of economic losses due to carcass condemnation. Semin Ciências Agrárias.41 : 2655-2668.

35. de la Fuente, R.; de las Heras, M.; Torrijos, C.; de Tejada, P. D.; Perez-Sancho, M.; Carrion, F. C.; Order, J.A. and Dominguez- Bernal, G. (2017): Isolation frequency of bacteria causing lymphadenitis and abscesses in small ruminants in central Spain. Small Rumin Res. 154:5-8.

36. de Pinho, R. B.; de Oliveira Silva, M. T.; Bezerra, F. S. B. and Borsuk, S. (2021): Vaccines for caseous lymphadenitis: up-to-date and forward-looking strategies. Appl Microbiol Biotechnol. 105: 2287-2296.

37. Dercksen, D. P.; Brinkhof, J. M. and Dekker-Nooren, T. (2000): A comparison of four serological tests for the diagnosis of caseous lymphadenitis in sheep and goats. Veterinary Microbiology, 75, 167–175.

38. Devriese, L. A. H.; Laevens, F.; Haesebrouck, and Hommez, J. (1994): A simple identification scheme for coagulase negative staphylococci from bovine mastitis.Res. Vet. Sci. 57:240–244.

39. Dominguetti, C. P. (2011): Analise do papel do fator sigma C na resposta de *Corynebacterium pseudotuberculosis* a diferentes condições de estresse ambiental. Dissertação (Mestrado em Genética) – Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais, MG,.

40. Dorella, F. A. (2009): Análise do potencial vacinal de linhagens recombinantes e selvagens inativadas de *Corynebacterium pseudotuberculosis*. Tese (Doutorado em Genética) – Departamento de Biologia Geral do Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal de Minas Gerais. Minas Gerais, MG.

41. Dorella, F. A.; Pacheco, L. C.; Oliveira, S. C.; Miyoshi, A. and Azevedo, V. (2006): *Corynebacterium pseudotuberculosis*: microbiology, biochemical proper Crossmark ties, pathogenesis and molecular studies of virulence. VetRes37:201–218.

42. Farrell, A. M.; Taylor, D. and Holland, K. T. (1995): Cloning, nucleotide sequence determination and expression of the Staphylococcus aureus hyaluronate lyase gene. FEMS Microbiol. Lett.130:81–85.

43. Foley J. E.; Spier S. J.; Mihalyi, J.; Drazenovich, N. and Leutenegger C. M. (2004): Molecular epidemiologic features of *Corynebacterium pseudotuberculosis* isolated from horses. Am. J. Vet. Res., 65 1734–1737.

44. Forbes, B. A.; Saham, D. F. and Weissfeld, A.S. (2007): Baily and Scott's Diagnostic Microbiology. 12thed. Mosby, Inc., an anffilliate of Elsevier, Inc. 1031pp.

45. Gezon, H. M.; Bither, H. D.; Hanson, L. A. and Thompson, J. K. (1991): Epizootic of external and internal abscesses in a large goat herd over a 16 – year period. J. Am. Vet. Med. Assoc. 15; 198: 257-63.

46. Gillespie, S. H. and Hawkey, P. M. (2006): Principles and practice of clinical bacteriology, 2nd ed., John Wiley and Sons Ltd, P: 3-115.

47. Glenn, J. S. and Karen, W. (2005): Post Veterinary Microbiology Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease, Elsevier Health Sciences.

48. Goldberger, A. C.; Lipsky, B. A. and Plorde, J. J. (1981): Suppurative Granulomatous Lymphadenitis Caused by *Corynebacterlum ovis* (Pseudotuberculosis). Am J Clin Pathol, 76:486-490.

49. Goldman, E. and Green, L. H. (2009): Practical Handbook of microbiology, second Edition, CRC Press, Talor and Francis Group, P:275-374.

50. Guerrero, J.; Oca-Jiménez, R.; Dibarrat, J.; Leon, F.; Morales-Erasto, V. and Salazar, H. (2018): Isolation and molecular characterization of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from sheep and goats in Mexico. Microb Pathog 117:304-309.

51. Guimaraes, A. S.; Carmo, F. B.; Pauletti, R. B.; Seyffert, N.; Ribeiro, D.; Lage, A. P.; Heinemann, M. B.; Miyoshi, A.; Azevedo, V. and Gouveia, A. M. G. (2011): Caseous lymphadenitis: epidemiology, diagnosis, and control. Institute of Integrative Omics and Applied Biotechnology Journal, 2(2), 33–43.

52. Guimarães, A. S.; Seyffert, N. and Bastos, B. L. (2009): Caseous lymphadenitis in sheep flocks of the state of Minas Gerais, Brazil: prevalence and management surveys. Small Rumin Res 87: 86–91.

53. Hassan, N, A.; AL Huminany, A. A.; Bahobail, A, S. and Mansour, A. M. A. (2011): Bacteriological and Pathological Studies on Caseous Lymphadenitits in sheep in Saudi Arabia, International Journal of Microbiological Research 2(1); 28-37.

54. Hemraj, V.; Diksha, S. and Avneet, G. (2013): A Review on Commonly Used Biochemical Test for Bacteria. IJLS. 1(1): 1-7.

55. Ho, G. W. H.; Campbell, M. S.; Bergdoll, and Carlson, E. (1989): Production of a toxic shock syndrome variant by Staphylococcus aureus strains associated with sheep, goats and cows. J. Clin. Microbiol. 27:1946–1948.

56. House, R. W.; Schousboe, M.; Allen, J. P.; and Grant, C. C. (1986): *Corynebacterium ovis* (pseudo-tuberculosis) lymphadenitis in a sheep farmer: a new occupational disease in New Zealand. N Z Med J, 99:659–662.

57. Huerta, B.; Gomez-Gascon, L.; Vela, A.; Fernandez-Garayzabal, J.; Casamayor, A.; Tarradas, C. and Maldonado, A. (2013): Comparison of two biochemical methods for identifying Corynebacterium pseudotuberculosis isolated for sheep and goats. The Veterinary Journal 196(2013)552–554.

58. Jones, D. and Collins, M. D. (1986): Irregular, nonsporing Grampositive rods. In: Sneath, P.H.A. et al. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. 2nd edn Baltimore: Williams and Wilkins, p. 1261–1282.

59. Kumar, J.; Singh, F.; Tripathi, B. N.; Kumar, R. and Dixit, S. K. (2012): Epidemiological, bacteriological and molecular studies on caseous lymphadenitis in Sirohi goats of Rajasthan, India. TropicalAnimal Health and Production 44:1319–1322.

60. Kumaresan, G.; Singh, D. D.; Pawaiya, R.; Andani, D.; Gangwar, N. K.; Mishra, A. K.; Chaturvedi, V. and Kumar, A. (2018): Investigation of an outbreak of caseous lymphadenitis in goats. Indian J Small Ruminants, 24: 95–100.

61. Lavin, S.; Ruiz-Bascaran, M.; Marco, I.; Abarca, M. L.; Crespo, M. J. and Franch, J. (2004): Foot Infections Associated with Arcanobacterium pyogenes in Free-living Fallow Deer, Journal of Wildlife Diseases, P: 607–611.

62. Li, H.; Yang, H.; Zhou, Z.; Li, X.; Yi, W.; Xu, Y.; Wang, Z. and Hu, S. (2018): Isolation, antibiotic resistance, virulence traits and phylogenetic analysis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* from goats in southwestern China. Small Rumin Res, 168:69–75.

63. MacFaddin, J. F. (1985): Media for Isolation-Cultivation-Identification Maintenance of Medical Bacteria, Vol. 1, Williams and Wilkins, Baltimore, Md.

64. MacFaddin, J. F. (2000): Biochemical Tests for Identification of Medial Bacteria. 3rd ed., Lippincott Williams and Wikins,a walters Kluwer Com., London, pp:484-485.

65. Madut, N. A. and Abdelgadir, A. E. (2011): Susceptibility of Corynebacterum spp. responsible for bovine mastits against commonly used antibiotics in Kuku dairy farms, Sudan. Journal of Cell and Animal Biology, Vol. 5 (1), P: 6-10.

66. Mahon, C. R.; Lehman, D. C. and Manuselis, G. (2011): Textbook of Diagnostic Microbiology. 4th ed. Philadelphia: W. B Saunders Co

67. Mashhadi, A. G.; Poor, M. G. and Solimani, M. (2006): Bacteriological Study of Liver Abscesses in Sheep in Ahvaz of Iran, Pakistan Journal of Biological Sciences, 9(11): 2162-2164.

68. Mathur, P. B. and Dubey, S. C. (1994): Infectious diseases. Sheep and goat diseases. ICAR, New Delhi, pp: 25.

69. Maxted, W. R. (1956): The indirect bactericidal test as a means of identifying antibody to the M antigen of Streptococcus pyogenes. Br J Exp Pathol. Aug; 37(4):415-22.

70. McVey, S. D.; Melissa, K. and Chengappa, M. (2013): Veterinary Microbiology.3ed. Blackwell Science, pp:131-135.

71. Menzies, P. I.; Muckle, C. A. and Hwang, Y. T. (1994): Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay using an Escherichia coli recombinant phospholipase D antigen for the diagnosis of *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection. Small Ruminant Research, 13, 193–198.

72. Merchant, I. A. and Packer R. A. (1967): The Genus *Corynebacterium*, in: Merchant I.A., Packer R.A. (Eds.), Veterinary bacteriology and virology, The Iowa State University Press, Iowa, pp. 425–440.

73. Miers, K. C. and Ley, W. B. (1980): *Corynebacterium pseudotuberculosis* infection in the horse: study of 117 clinical cases and consideration of etiopathogenesis. J Am Vet Med Assoc 177:250-253.

74. Minozzi, G.; Mattiello, S.; Grosso, L.; Crepaldi, P.; Chessa, S. and Pagnacco G. (2017): First insights in the genetics of caseous lymphadenitis in goats. Ital J Anim Sci, 16: 31-38.

75. Mohan, P.; Vathsala, M. and Jayaprakasan, V. (2008): Comparative characterization of Corynebacterium pseudotuberculosis from goats in Kerala, India and reference strain. Small Rumin. Res, 74, 226–230.

76. Murray, P. R.; Baron, M. A.; Pfaller, F. C. and Yolken, R. H. (2003): Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press: Washington, DC.332-339

77. Nassar. A. f.; Daniel, G. t. and Ruiz, G. T. (2015): Diagnostic comparison of Corynebacterium pseudotuberculosis through microbiological culture and PCR in sheep samples, 10.1590/1808.

78. NCCLS. (2003): National committee for clinical laboratory standards: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 8th edition NCCLS dusoment, M2-A8 volium 23, no, 1, USA.

79. Nozaki, N.; Faria, M. R. and Machado, T. M. (2000): Extirpação cirúrgica dos abscessos da linfadenite caseosa em caprinos. Arq Inst Biol 67: 187–189.

80. Olson, M. E.; Ceri, H.; Morck, D. W.; Buret, A. G. and Read, R. R. (2002): Biofilm bacteria: formation and comparative susceptibility to antibiotics. Can J Vet Res, 66:86-92.

81. Oreiby, S. A.; Osman, Y. M.; Hegazy, Y. A.; Ghanem. and Al-Gaabary M. H. (2011): Caseous lymphadenitis in small ruminants: descriptive, epidemiological and clinical studies. Kafrelsheikh Vet. Med. J. Vol. 11 41-61.

82. Osman, A. Y.; Abdullah, F. and Saharee, A. A. (2012): Sero-Prevalence of Caseous Lymphadenitis Evaluated by Agar Gel Precipitation Test among Small Ruminant Flocks in East Coast Economic Regions in Peninsular Malaysia. J Anim Vet Adv, 11: 3474-3480.

83. Paton, M. W.; Walker, S. B.; Rose, I. R. and Watt, G. F. (2003): Prevalence of caseous lymphadenitis and usage of caseous lymphadenitis vaccines in sheep blocks. Aust. Vet. J. 81, 91–95.

84. Plata, K.; Rosato, A. E. and Wegrzyn, G. (2009): *Staphylococcus aureus* as an infectious agent: overview of biochemistry and molecular genetics of its pathogenicity. Acta Biochimica Polonica, 56 (4): 597-612.

85. Piontkowski, M. D. and Shivvers, D. W. (1998): Evaluation of a commercially available vaccine against *Corynebacterium pseudotuberculosis* for use in sheep. J Am Vet Med Assoc, 212: 1765-1768.

86. Poonacha, K. B. and Donahue, J. M. (1995): Abortion in a mare associated with *Coryrtebacterium pseudotuberculosis* infection. J Vet Diagnostic Investig, 7:563-564.

87. Pugh, D. G. and Baird, N. N. (2012): Sheep and Goat Medicine-E-Book. Elsevier Health Sciences.

88. Quinn, P. J.; Carter, M. E.; Markey, B. and Carter, G. R. (2002): clinical veterinary microbiology .5ed. Elsevier Limited, pp: 170 172.

89. Quinn, P. J.; Markey, B. K. and Carter M. E. (2005): Microbiologia Veterinária e Doenças Infecciosas. 1st edn. Artmed, Porto Alegre.

90. Quinn, P. J.; Markey, B. K.; Leonard F. C.; FitzPatrick, E. S.; Fanning, S. and Hartigan, P. J. (2011): Veterinary Microbiologyand microbial disease. 2ed.Wiley-Blackwell

91. Radostits, O. M.; Gay, C. C.; Hinchcliff, K. W. and Constable, P. D. (2007): Veterinary medicine 10th edition. Saunders Elsevier, Philadelphia, pp 795–798.

92. Rodwan, K.; Babiker, A.; Eltom, K, H. and Musa, N, O. (2013): Abscess Disease in Pastoral and Feedlot Sheep in The Sudan. Sudan Journal of Science and Technology, 45-53.

93. Sanouci, S. M.; Hamad, A. A. and Gameel, A. A. (1989): Abscess disease in goats in the Sudan, Elev. Med. Vet. Pays trop, 42(3): 379-382.

94. Seyffert, N.; Guimarães, A. S.; Pacheco, L. G. C.; Portela, R. W.; Bastos, B.L.; Dorella, F. A.; Heinemann, M. B.; Lage, A. P.; Gouveia, A. M. G.; Meyer, R.; Miyoshi, A. and Azeveda, V. (2010): High seroprevalence of caseous lymphadenitis in Brazilian goat herds revealed by Corynebacterium pseudotuberculosis secreted proteins-based ELISA. Res Vet Sci, 88: 50-55.

95. Smith, M. C. and Sherman, D. M. (2009): Goat Medicine, 2nd Edition. Wiley-Black, Ames, Iowa.

96. Smith, P. B. (2002): Large animal internal medicine, 3rd edition, Mosby, Inc., Missouri, pp 583-584 and 1078-1083.

97. Soell, M.; M. Diab, A.; G. Haan, A.; Beretz, C.; Herbelin, B.; Poutrel, F. and Klein, J. P. (1995): Capsular polysaccharide types 5 and 8 of *Staphylococcus aureus* bind specifically to human epithelial (KB) cells, endothelial cells, and monocytes and induce release of cytokines. Infect. Immun.63:1380-1386.

98. Solaiman, S. G. (2010): Goat science and production, pp 221. John Wiley and Sons.

99. Stanford, K.; Brogden, K. A.; McClelland, L. A.; Kozub, G. C. and Audibert, F. (1998): The incidence of caseous lymphadenitis in Alberta sheep and assessment of impact by vaccination with commercial and experimental vaccines. Can J Vet Res. 62:38-43.

100. Stackebrandt, E.; Rainey, F. A. and Ward-Rainey, N. L. (1997): Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. Int J Syst Bacteriol 47: 479 – 491.

101. Tadesse, A. and Alem, M. (2006): Medical Bacteriology. EPHTI. pp 433.

102. Thongkwow, S.; Poosiripinyo, N.; Pongkornkumpon, N.; Saengsakchai, S.; Klinkhiew, N.; Chalatan, T.; Kanistanon, K.; Lerk-u-suke, S. and Rerkyusuke, S. (2019): Distribution and risk factors of clinical caseous lymphadenitis in small-holder goat herds in Northeastern Thailand. Thai J Vet Med 49: 343-351.

103. Tille, P. M. (2017): Baily and Scott's Diagnostic Microbiology. 4nd Edition. Elsevier, Inc. China, pp 1115.

104. Tonpitak, W.; Sonklein, C.; Chawanit, M. and suwannakhen, S. (2008): *Corynebacterium pseudotuberculosis* biovar ovis indentification and their drug susceptiblility from samples in Mahanakorn veterinary Diagnstic Center. Faculty of veterinary medicine, Mahanakorn University of Technology, Thailand, 10530.

105. Wan-Choul, K.; Hyoung-seok, Y.; Ko, J. A.; Lee, S.; Lee, D. S. and Son, W. G. (2015): Prevalence of Johne's disease of Korean native cattle in Jeju Province, Korea. 38: 221-225.

106. Wanger, A.; Chavez, V.; Huang, R. S. P.; Wahed, A.; Actor, J. K. and Dasgupta, A. (2017): Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology. Elsevier Inc. All Rights Reserved, pp: 300.

107. Williamson, L. H. (2001): Caseous lymphadenitis in small ruminants, Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract, 17 359–371.

108. Yeruham, I.; Friedman, S.; Perl, S.; Elad, D.; Berkovich, Y.; Kalgard, Y. A. (2004): herd level analysis of a Corynebacterium pseudotuberculosis outbreak in a dairy cattle herd, Vet. Dermatol. 15 315–320.

109. Yitagesu, E.; Alemnew, E.; Olani, A.; Asfaw, T. and Demis, C. (2020): Survival Analysis of Clinical Cases of Caseous Lymphadenitis of Goats in North Shoa, Ethiopia. Vet Med Int 2020.

110. Zavoshti, R. F.; Khoojine, A. B. S.; Helan, J. A.; Hassanzadeh, B. and Heydari, A. A. (2012): Frequency of caseous lymphadenitis in sheep slaughtered in an abattoir in Tabriz: comparison of bacterial culture and pathological study.

**Syrian Arab Republic**
**HAMA University**
**Faculty of Veterinary Medicine**
**Department Of Microbiolog**

# Isolation and Identification of *Corynebacterium Pseudotuperculosis* of Sheep and Goats in Hama Governorate

Thesis presented for Master.degree in Vet.Med.Sci
Microbiology

by
Mohammad Al Fatto

Under the Supervision of

Dr. Ashraf ALSALEH
Of Microbiolog

**2023**