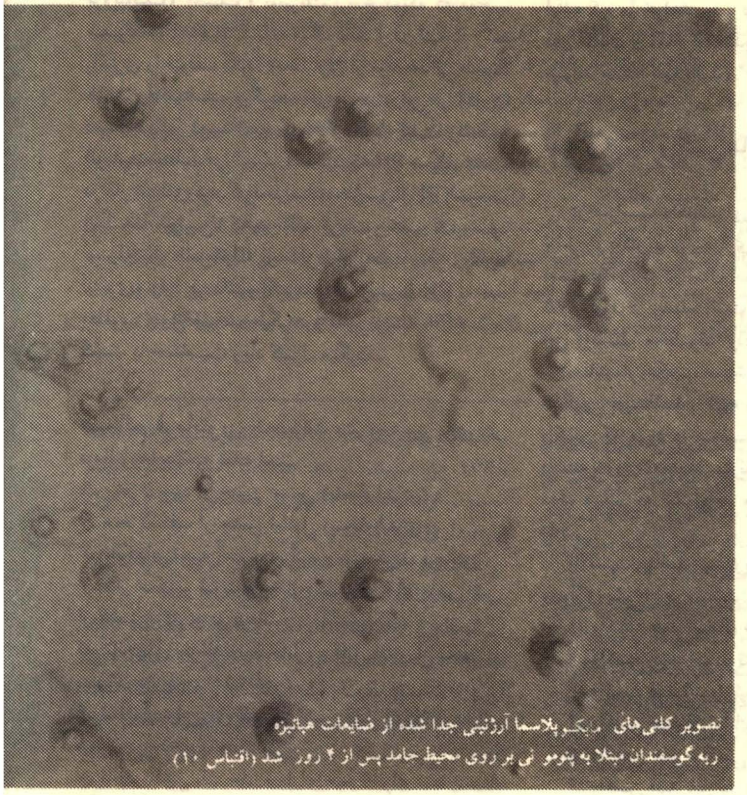
خواص و نقش مایکو پلاسماها در بیماریهای دامهای اهلی

گردآوری: دکتر علی قادر سهی
کارشناس اداره دامپزشکی استان همدان



تصویر کلنی‌های مایکوپلاسما آرژنینی جدا شده از ضایعات هپاتیزه ریه گوسفندان مبتلا به پنومونی بر روی محیط جامد پس از ۴ روز رشد (اقتباس ۱۰)

ـ خواص عمومی مایکوپلاسماها (۳، ۵، ۷):

شکل مایکوپلاسماها بسیار متغیر است و ممکن است به اشکال کوکسی، رشته‌ای، اسپریل، گرد، کروی و گرانول دیده شوند این تغییرپذیری (انعطاف) در شکل در نتیجه فقدان دیوارهٔ سلولی و همچنین احتمالاً بعلت حضور مواد قابل انقباضی مثل پروتئین‌های اکتین می‌باشد.

شکل اساسی مایکوپلاسماها بصورت کوکسی است و ساختمان رشته‌ای منتج از افزایش سرعت رشد در کروموزومها و پیشی گرفتن از تقسیم سیتوپلاسمی می‌باشد. در ساختمان شیمیایی مایکوپلاسماها DNA به مقدار ۱/۵ تا ۷ درصد و RNA به میزان ۸ تا ۱۷ درصد وجود دارد.

مایکوپلاسماها گرم منفی می‌باشند، و رنگ آمیزی‌های معمولی که در آزمایشگاهها بکار می‌رود برای مایکوپلاسماها مناسب نیست. این اجرام با رنگ‌های گیمسا، کاستاندا Dienes, Castaneda یا متیلن بلو بخوبی رنگ‌آمیزی می‌شوند.

برای رنگ‌آمیزی مایکوپلاسماها باید گسترشی نازك از کشت مایکوپلاسما یا ترشحات مرضی تهیه کرده پس از خشك شدن گسترش در هوای آزمایشگاه آنرا بوسیله الکل متیلیك بمدت ۵ دقیقه فیکسه و سپس با محلول گیمسا (یك‌سی‌سی محلول غلیظ گیمسا در ۱۹ یك‌سی‌سی آب مقطر یا یك قطره محلول غلیظ گیمسا در یك‌سی‌سی آب مقطر) بمدت ۳۰ دقیقه رنگ آمیزی می‌کنند. (بجای گیمسا می‌توان از رنگهای Dienes, Castaneda یا متیلن بلو نیز استفاده نمود).

سپس آنها را در زیر میکروسکوب با عدسی روغنی ملاحظه می‌کنند. ذرات بسیار ریز مایکوپلاسما (μ ۰/۵-۰/۲) رنگ صورتی یا ارغوانی گرفته و در سطح گسترش دیده می‌شوند.

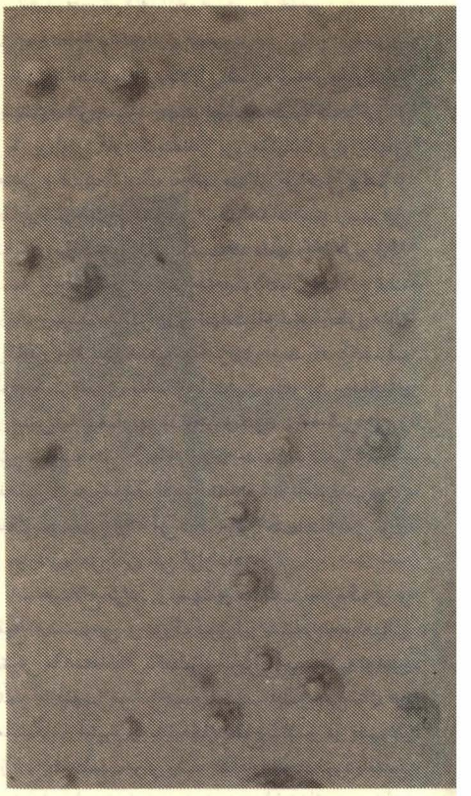
خصوصیات محیط کشت (۶، ۴، ۳، ۵، ۷):

اولین شرط برای رشد مایکوپلاسماها بکاربردن محیط‌های غنی از مواد قابل تغذیه مایکوپلاسماهاست. کلسترول ماده ضروری برای رشد مایکوپلاسماها می‌باشد جنس Acholeplasma این ماده را لازم ندارد. کلسترول در ترکیب اسید چرب لیپیدهای غشاء و ساختمان داخلی مایکوپلاسماها بکار می‌رود و عمل آن بعنوان یك تنظیم کننده انعطاف غشاء در ضمن تغییرات رشد و درجه حرارت می‌باشد. به منظور فراهم کردن کلسترول و سایر مواد مغذی سرم یا مایع آسیت (۱۰ تا ۲۰ درصد) به محیط آبگوشت یا اگار مایکوپلاسماها (PPLO Agar: PPLO Broth W/ocv) اضافه می‌شود. پروتئین‌های سرمی دارای ۱۸ اسید آمینه است که فراوانترین آنها لیزین و همچنین دارای کلسترول استریفیه و فسفولیپیدها است. سرم بدون چربی صلاحیت مصرف برای محیط کشت را ندارد. اجزاء دیگر محیط مایکوپلاسماها شامل سرم فراکسیون ۱ درصد (PPLO Serum Fraction) عصاره مخمر (۱۰ درصد)، اسید دی اکسی ریبونوکلئیك، پنی سیلین، استات تالیم یا تلوریت پتاسیم (برای کنترل آلودگی های باکتریائی)، گلوکز و معرف فنل رد می‌باشد.

PH نهایی باید بین ۸-۷ تنظیم شود. در هنگام گذاشتن بوات‌ها در انکوباتور باید درب بوات‌ها و لوله‌ها را بخوبی بسته تا از خشك‌شدن آنها جلوگیری شود. بعد از ۲ تا ۷ روز انکوباسیون در حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد کلنی‌ها ممکن است ظاهر شوند. کلنی‌های مایکوپلاسما شفاف و قطری بین ۶۰۰-۱۰ میکرون دارند. کلنی‌ها دارای مرکز کدر و حاشیه کناری می‌باشند که در محیط کشت فرورفته‌اند. این کلنی‌ها منظره زرده تخم‌مرغ را روی سطح سفیده آن نمایش میدهند. شکل (۱). همچنین ممکن است کلنی‌ها فاقد مرکز (Centerl ess) و دارای سطحی گرانولریاتور مانند باشند. مانند (M.ovipneumonia) آنها را می‌توان با یك ذره‌بین دستی تحت انعکاس نور یا بهتر زیر ابژکتیو ۱۶ میلی‌متری میکروسکوپ با نور غیرمستقیم دید. مایکوپلاسماها دارای کلنی‌های R, S می‌باشند باید توجه داشت که در بعضی از محیط‌های کشت که مقدار سرم در آنها زیاد است اشکال ستاره‌ای شکل مختلفی دیده می‌شود که مشابه کلنی‌های مایکوپلاسماست ولی از کریستال‌های Mg , Ca موجود در محیط کشت بوجود آمده‌اند که می‌توان آنها را بخوبی از کلنی‌های مایکوپلاسما تشخیص داد.

کلنی‌های مایکوپلاسما را می‌توان با استفاده از روش Dienes رنگ‌آمیزی نمود. بعضی از مایکوپلاسماها گلبولهای قرمز را در آگار (۵٪ گلبول قرمز شسته به محیط PPLO آگار در درجه حرارت ۳۵ درجه اضافه می‌کنند) همولیز می‌کنند.

رشد در محیط مایع بصورت یك کدورت مختصر ظاهر میشود. رشد اکثر مایکوپلاسماها در تمام انواع محیط‌ها هوازی است. بعضی از سویه‌ها در وضعیت



میکرواثروفیلیك یا اتمسفر حاوی گاز کربنیك بهتر رشد می کنند. بیشتر مایکوپلاسماهای بیماریزای حیوانات گلوکز، مالتوز، فروکتوز را تخمیر می کنند. سویه‌های غیر تخمیرکننده از آرژینین آمونیاك آزاد می کنند.

مایکوپلاسماها ممکن است همچنین در جنین تخم‌مرغ و یا در محیط‌های کشت سلول تکثیر و تزاید یابند. بسیاری از سویه‌های مایکوپلاسما در این فبیل محیط‌ها خیلی بهتر و فراوان‌تر از محیط‌های فاقد سلول رشد می کنند. تلقیح به جنین جوجه مخصوصاً برای رشد سویه‌های ظریف با ارزش می باشد.

مقاومت مایکوپلاسماها:

مایکوپلاسماها به گرما و خشکی خیلی حساس هستند و در عرض چند دقیقه بوسیله حرارت ۶۰ درجه سانتی‌گراد از بین می روند. آنها در بافت‌های یخ زده برای مدت طولانی باقی می مانند.

نقش مایکوپلاسماها در بیماری حیوانات اهلی:

تحقیق درباره مایکوپلاسماها سالیان متمادی است که ادامه دارد و در طب انسانی و حیوانی نقش باارزشی یافته است. مطالعه سیستماتیك بیماریهای مایکوپلاسمائی حیوانات با کشف عامل بیماری پلورو پنومونی واگیر گاوان (CBPP) contagious bovine pleuro pneumonia) - بنام مایکوپلاسما مایکوئیدس (M.Mycoides) در سال ۱۸۹۸ توسط نوکارد و همکارانش آغاز گردید. این موجودات ریز ذره‌بینی بدواً ppo (pleuro – pneumonia organism) و بعداً چون از سایر حیوانات و فاضلابها نیز جدا شدند، pplo نامیده شدند.

درحال حاضر واژه pplo زیاد بکار نمی رود و بجای آن عنوان Mycoplasma که توسط Nowak در سال ۱۹۲۹ برای این اجرام باتوجه به وضعیت ساختمانی و طرز تکثیر آنها گذاشته شده است بکار می رود.

در طی نزدیك به ۶۰ سال در این زمینه پیشرفت آهسته بود و فقط تعدادی از مایکوپلاسماهای ایجاد کننده بیماری حیوانات شناخته شدند.

کشف عامل اصلی پنومونی اتیپیك انسان در سال ۱۹۴۴ بوسیله Eaton از نمونه‌های آلوده که قبلاً عامل آنرا ویروس می دانستند باعث افزایش توجه روزافزون به این گروه از ارگانیسم ها گردید و از همین جا پیشرفت در درك نقش مایکوپلاسماها در بیماریهای پستانداران اهلی تسریع گردید. مایکوپلاسماها کوچکترین اجرامی (در حدود m ۰/۳ قطر دارند) هستند که دارای زندگی آزاد بوده و قادرند بطور مستقل رشد و تکثیر یابند. (۸) (۲).

آنها مانند باکتریها دیوارهٔ سلولی ندارند ولی بوسیله غشاء واحدی احاطه شده‌اند بنابراین قابل انعطاف هستند و می توانند از میان منافذ عبور کرده و بداخل فضاهای خیلی کوچکتر از قطر معمولی نفوذ بکنند. برای مثال آنها می توانند بین مژك های سلولهای اپی تلیوم تنفسی نفوذ کرده و در آنجا آنها از مکانیسم تصفیه مخاطی مژکدار (Mucociliary clearance) و عمل فاگوسیتیك سلولها در امان بمانند. از آنجائیکه مایکوپلاسماها فاقد دیواره سلولی دارای پلی مری اسید مورامیك (Muramic acid Polymers) هستند بوسیله آنتی بیوتیك هایی (مثل پنی سیلین) که روی سنتز این پلی مرها اثر می کنند متأثر نمی شوند. اگرچه مایکوپلاسماها در شرایط آزمایشگاهی در مقابل آنتی بیوتیك هایی که روی سنتز پروتئین اثر می کنند. مثل تتراسیکلین (Tetracyclin) کاملاً حساس می باشند ولی این آنتی بیوتیك ها در بدن حیوانات زنده خیلی مؤثر نیستند برای اینکه آنها به غلظت کافی به سطح اپی تلیومی که بوسیله مایکوپلاسماها احاطه شده است نمی رسند.

کروموزومهای مایکوپلاسماها خیلی کوچکتر از باکتریهاست و علت آن احتیاج آنها به یك طیف وسیع از متابولیتهای از قبل تشکیل شده می باشد. نتیجه این احتیاج در شرایط عملی این است که مشکلات زیادی در رابطه با پیداکردن محیط کشت مناسب برای خیلی از مایکوپلاسماهای بیماریزا وجود دارد.

مجموعه خصوصیاتی نظیر پالش‌پذیر بودن مایکوپلاسماها و عدم حساسیت آنها به اغلب آنتی بیوتیك ها و همچنین دشواری رشد آنها در محیط کشت باعث می شود که تصور کنند بیماریهای مایکوپلاسمائی بوسیله ویروسها ایجاد می شود (۸).

یکی از خصوصیات عفونتهای مایکوپلاسمایی که احتمالاً به سیستم دفاعی بدن مربوط می شود، تمایل ابقاء مایکوپلاسما برای مدت طولانی در محل عفونت می باشد. برای مثال M. mycoides از جراحات پلوروپنومونی واگیر گاوان (C.B.P.P) که حداقل ۱۰ ماه قدمت داشته‌اند جدا شده است. در حالیکه M.Suip-neumonia تا حدود ۲۶۲ روز پس از عفونت اولیه از ریه‌های خوك جدا شده است. همچنین M.Pulmonis مرتباً از ریه‌های موش از ۵۰ تا ۷۱۵ روز بعد از تقلیح جدا شده است (۱). بنابراین عفونت‌های مایکوپلاسمایی مشخصاً سیرمزمن و طولانی دارند و مشخصه پاسخ نیستو پاتولوژیك ریه تجمع سلولهای تك هسته‌ای و هیپرپلازی سیستم لنفور تیکولار پیرامون برونشیولها (Peribronchiolar lymphoreticular hyper plasia) (1,9).

علل دوام بقاء مایکوپلاسماها در ارگانهای آلوده باوجود پادتن هومورال پادتن مخاطی Iga و پاسخ ایمنی با واسطهٔ سلولی ظاهراً هنوز مورد بررسی و مطالعه قرار نگرفته است. ولی بعضی از مدارك وجود دارد که نشان میدهد که مایکوپلاسماها ممکن است موجب اختلال ایمنی بدن (سلولی و هومورال) در بعضی از مراحل رشدشان شوند و این ممکن است دلیلی برای همدستی و مشارکت آنها در فراهم نمودن وسیله برای پیدایش بیماریهای دیگر باشد (۱). □

References:

1- Adeyboye, D.S: A Review of Mycoplasma – indueed immuno – suppression. Br. Vet.J. 134: 556-560, 1978.

2- Anon: The FAO / WHO Programe on comprative Mycoplasmalogy Vet. Rec 95: 457-461, 1974.

3- Buxton A, Fraser G: Animal Microbiology. Vol.1: Immunology, Bacteriology, Mycology. Disease of Fish and Laboratory Methods. Blak well Scientific Publications Oxford: 357 pp, 1977.

4- Carmichael Le, St. George TD, Salivan ND: Isolation Propagation and Characterization studies of an ovine Mycoplasma responsible for Proliferative Interstitial Pneumonia – comel Vet 62: 664-679, 1972.

5- Carter GR: Diagnostic Procedures in Veterinary Microbiology. Carles C Thomas. Publisher. Spring Field. Illinois, USA. 362 pp. 1975.

6- Cottew GS: charactrisation of Mycoplasmas Isolated from sheep with pneumonia Aust. Vet.J 47: 591-596. 1972.

7- Gillespie JH. Timoney JF: Hayan and Bruner's Infectious Disease of Domestic Animals 7th ed. Comstock publ. Ass., Cornell University press: 452, 334-353, 289-291, 1981.

8- Whittle Stone P: Mycoplasmas in diseases of domestic mammals. Vet. Ann. 15: 432-442, 1975.

9- Whittle Stone P: In Pathogenic Mycoplasmas. Aciba Foundation Symposium P: 263, Amesterdam, London and New York: Associated Scientific publisher.

۱۰- علی قادر سُهی (۱۳۶۴) جداسازی و شناسایی مایکوپلاسما آرژنینی از پنومونی های تحت حاد و مزمن (پنومونی های آتیپیك) گوسفند در ایران. (پایان نامه دکترای دامپزشکی) سال تحصیلی ۶۵-۶۴ شماره ۱۵۳۲.