

**Republic of Iraq**

**Ministry of Higher Education**

# & Scientific Research

**University of Baghdad**

**College of Veterinary Medicine**

**Evaluation of Transtracheal Wash in the Isolation of Bacteria spp. from Pneumonic and Healthy Dromedary Camels (*Camelus Dromedarius*)**

A thesis

Submitted to the Council of the College of Veterinary Medicine / University of Baghdad in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Philosophy of Science in Veterinary Internal and Preventive Medicine.

By

**Muthanna H. Hussain**

Supervised by

**Prof. Dr. Faisal G. Habasha**

2014 A.D. 1436 A.H.

**Summary**

This study included the physical examination of 150 camels in different ages and genders suffering from respiratory signs from January 2013 to February 2014 in abattoirs of Al-Najaf and Al-Qadissiya provinces. After physical examination; clinical signs revealed extended neck, depression, anorexia, elevated heart rate (42-44bpm), irregular rapid breathing (19-24bpm) and fever in seventy-one cases that were diagnosed as interstitial bronchopneumonia (forty-six cases) and fibrinous pneumonia (twenty-five cases) and within normal in the other seventy-nine cases in which pneumonia was granulomatous. In order to make the diagnosis, Transtracheal Wash (TTW) used for getting samples from each case for cytology and bacteriology; Leukocyte count ranged in (925±3.7c/µl) in granulomatous pneumonia, (1104±7.59c/µl) in fibrinous pneumonia and (1369±9.23c/µl) in interstitial bronchopneumonia. Differential Leukocyte count recorded lymphocytosis in granulomatous pneumonia and neutrophilia in the fibrinous and interstitial pneumonia. Total Protein (TP) recorded (621±2.36mg/dl) in granulomatous pneumonia, (782±3.66mg/dl) in fibrinous pneumonia and (331±3.9mg/dl) in interstitial bronchopneumonia.

Bacterial culture from the TTW showed unique colonies on blood agar; that were identified by using the VITEK 2 compact technique and then confirmed by the conventional polymerase chain reaction (PCR) as; *Rhizobium radiobacter* inseventy-nine cases of granulomatous pneumonia which represent (53%) of the total 150 cases, *Sphingomonas paucimobilis* intwenty-five cases of fibrinous pneumonia which represent (16%), *Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae* in twenty-four cases of interstitial bronchopneumonia which represent (16%) and *Escherichia coli in* twenty-two cases of interstitial bronchopneumonia (15%).

Meantime, postmortem samples had worked for bacteriology to find the correlation between the results with the bacteriology of the transtracheal washes. Same isolates with two other postmortem contaminants; *Staphylococcus lentus* and *St. vitulinus*; were diagnosed biochemically, after purification on blood agar, by VITEK 2 compact technique; to affirm that TTW technique is highly accurate more than postmortem diagnosis and it should be used for the diagnosis of respiratory diseases. Histopathological examination on the postmortem samples, from which granulomatous, fibrinous and interstitial bronchopneumonia were found in both lungs of each camels with (53%), (16%) and (31%) in order which reveals that granulomatous pneumonia recorded the highest ratio of the types found in this study. All affected camels ranged in 4-8 years old. Gender was not significant in infection with *Rh. Radiobacter*, *Sph. Paucimobilis* and *E. coli* but it was significant in *Kl. pn. ssp. pneumonia* in which the males recorded 75%. Winter has the most significant records with 67% of the total cases, less in spring with 3%, no cases in summer and 30% in autumn.

Cytological analysis of transtracheal washes from ten apparently healthy camels in the same area of the study were done to find out the normal contents from healthy camels to be correlated with results of pneumonic camels because of the lack of similar studies around the world which makes it the first one. The value of total protein was (70±0.02mg/dl), white blood cells was (620±2.2c/µl) with lymphocytosis 60%. The normal contents of the transtracheal washes found in this study according to their amount were mucus materials, lymphocytes, macrophages, ciliated columnar or cuboidal epithelial cells, goblet cells, neutrophils & rarely basophils or eosinophils orderly.

**الخلاصة**

شملت هذه الدراسة فحص 150 حيوان من الإبل سريريا والتي تعاني من اعراض الاصابة بالجهاز التنفسي من مختلف الاعمار وكلا الجنسين في الفترة من كانون الثاني 2013 الى شباط 2014 في مجزرة محافظتي النجف والقادسية. شملت العلامات المرضية ومن خلال الفحص السريري امتداد الرقبة, خمول, فقدان شهية, ارتفاع في عدد ضربات القلب (42-44) في الدقيقة وزيادة غير منتظمة للتنفس (19-42) في الدقيقة مع ارتفاع في درجة حرارة الجسم في 71 حالة، والتي تم تشخيصها فيما بعد وكانت 46 حالة التهاب الرئة القصبي الخلالي و25 حالة التهاب الرئة الليفيني، وبقاء حرارة الجسم ضمن الطبيعي في الحالات ال 79 الاخرى والتي كانت من النوع الحبيبي. ولغرض ايجاد التشخيص تم اخذ غسول عبر الرغامي للتحليل الخلوي والزرع البكتيري, وتم تسجيل عدد كريات الدم البيض (925±3.7خلية/مايكروليتر) في الالتهاب الحبيبي, (1104±7.59خلية/مايكروليتر) في الالتهاب الليفيني, و(1369±9.23خلية/مايكروليتر) في الالتهاب القصبي الخلالي. اظهر العد التفريقي زيادة في الخلايا اللمفية في حالات التهاب الرئة الحبيبي في حين كانت الخلايا العدلة أكثر في الالتهاب الليفيني والقصبي الخلالي. كما اظهر البروتين الكلي (621±2.3مغم/ديسيليتر) في الالتهاب الحبيبي, (782±3.66مغم/ديسيليتر) في الالتهاب الليفيني و(331±3.9مغم/ديسيليتر)في الالتهاب القصبي الخلالي.

 اظهر الزرع الجرثومي لعينات غسول الرغامي مستعمرات نقية على وسط مرق الدم والتي تم تشخيصها بالاختبارات الكيموحيوية بواسطة تقنية الفايتك 2 المدمجة واختبار تفاعل سلسلة البلمرة التقليدي, حيث أظهرت 79 حالة وبنسبة 53% الالتهاب الرئوي الحبيبي المتسبب *بجرثومةRhizobium radiobacter* و25 حالة وبنسبة 16% الالتهاب الرئوي الليفيني المتسبب بجرثومة *Sphingomonas paucimobilis و*24حالة وبنسبة 16% الالتهاب القصبي الخلالي المتسبب *بجرثومة Klebsiella pneumonia ssp. pneumonia* و*22 حالة وبنسبة 15%* الالتهاب القصبي الخلالي المتسبب بجرثومة *E. coli* .

في نفس الوقت، اظهر الزرع الجرثومي لعينات الرئات المصابة (مابعد الذبح) النماذج المعزولة من غسول الرغامى نفسها اضافة الى نوعين من العزلات على وسط مرق الدم: وكانت *Staphylococcus lentus وSt. vitulinu*  والتي تم تشخيصها بواسطة تقنية الفايتك 2 المدمجة وهي ملوثات ما بعد الذبح لانها لم تظهر في العزل الجرثومي لغسول عبر الرغامي وهذا مايؤكد ان التشخيص البكتيري عن طريق غسول الرغامى أكثر دقة من التشخيص فيما بعد الذبح.

تم اجراء التقطيع النسيجي على عينات الرئات المصابة واظهرت بوضوح وجود الانواع الثلاثة من الالتهاب في رئات الإبل وكانت النسبة الاعلى للالتهاب الرئوي الحبيبي وتراوحت اعمار الإبل المصابة 4-8 سنة دون تسجيل اي اصابة في الاعمار الاصغر او الاكبر ولم يكن للجنس اي فارق معنوي سوى في حالة الالتهاب الرئوي القصبي الخلالي المتسببة عن بكتريا الكلبسييلا حيث سجلت نسبة 75% عند الذكور. وشهد فصل الشتاء تسجيل أكثر الحالات وبنسبة 67% والتي لم تظهر اي منها في فصل الصيف وكان عدد الحالات اقل منه في فصلي الخريف والربيع 30% و 3% على التوالي.

تم اجراء التحليل الخلوي لغسول عبر الرغامى لعشرة من الإبل المعافاة من نفس منطقة الدراسة لمعرفة محتوياته الطبيعية ليتم مقارنتها مع ما تم تسجيله من الحالات المرضية بسسب عدم وجود دراسات مماثلة حيث تعتبر هذه الدراسة الاولى من نوعها والتي تم فيها استخدام طريقة غسول عبر الرغامى للتشخيص في الإبل. سجل البروتين الكلي معدلا (70±0.02ملغم/ديسيليتر) وكان عدد خلايا الدم البيضاء (620±2.2 خلية لكل مايكروليتر) في حين كانت الخلايا اللمفية الأعلى وبنسبة 60% من العدد الكلي. كما ان المحتويات الطبيعية لغسول عبر الرغامي كانت مواد مخاطية, خلايا لمفية, خلايا بلعمية, خلايا ظهارية مكعبة او عمودية, الخلايا الكاسية, الخلايا العدلة ونادرا ما تظهر الخلايا القعدة او الحمضة.