



دراسة التأثيرات المرضية النسيجية لبكتريا *Staphylococcus xylosus* في الفئران

علي حسون حمادي

الجامعة العراقية - كلية التربية/الطارمية

الخلاصة:

درست التأثيرات المرضية النسيجية لبكتريا *Staphylococcus xylosus* في ثلاث اعضاء وهي الكلية والطحال والكبد للفئران المحقونة بالأعداد (10^8 , 10^4) خلية مكونة للمستعمرة/مل، فأظهرت النتائج ان البكتريا احدثت تغيرات مرضية نسيجية في جميع الاعضاء ، تميزت في الكلية بحدوث تقجي في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية وارتشاح خلايا التهابية مع احتقان دموي وتخر في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية مع انكماش في الكبيبة، اما الطحال فتميز بحدوث توسع اللب الابيض على حساب اللب الاحمر مع حدوث تخر في النسيج البرنكي المكون للطحال ووجود مركز جرثومي (germinal center). بينما اظهرت المقاطع النسيجية للكبد حدوث تقجي مع ارتشاح بؤري للخلايا الالتهابية منتشرة بين خلايا الكبد.

معلومات البحث:

تاريخ التسليم: 2017/1/9
تاريخ القبول: 2017/3/14
تاريخ النشر: 2018 / 03/30
DOI: 10.37652/juaps.2017.141575

الكلمات المفتاحية:

Staphylococcus xylosus,
Histopathological Effects,
Wound Infections.

المقدمة:

يصاب الانسان عرضيا بالبكتريا عند التعامل مع هذه الحيوانات حيث يكون الافراد الذين هم بتماس مباشر مع الحيوانات المصابة كذلك العاملين بالمختبرات عرضة للإصابة بالبكتريا [3,2]. تسبب البكتريا حالات مرضية اهمها التهاب البشرة والتهاب شغاف القلب والتهاب المريء وتجرثم الدم واخماج المجاري البولية [4]، ايضا سببت للبقار المصابة بداع الضرع زيادة في اعداد الخلايا الجسمية Somatic cell بضعفين او ثلاثة عن تلك الخلايا الطبيعية غير المصابة حيث لوحظ زيادة في ارتشاح خلايا الدم البيض في الانسجة ومن ثم زيادة في النسيج الرابط ، مما يؤدي ذلك الى خسارة في كمية الحليب المنتج (Zhang and Maddox 2000).

ان وجود سلالات معينة من *S.xylosus* في منتجات الالبان مثل الاجبان قد تسبب تسمما غذائيا ايضا تسبب هذه البكتريا متلازمة الصدمة السمية وتسبب مرضا جهازيا حيث تم الحصول على 6 عزلات منتجة لهذا الذيفان من اصل 23 عزلة لل *S.xylosus* كما لوحظ ان هذه البكتريا قد تسبب التهابات جلدية للأنف في حيوان الجربوع (Valle et al,1991).

المواد وطرائق العمل:

• جمع العينات:

استخدمت 30 عزلة بكتيرية تم عزلها من مسحات بول لمرضى مصابين باخماج المجاري البولية من مستشفى اليرموك [5]. تم جلب

تم تصنيف المكورات العنقودية من قبل العالم Rosnbach عام 1884 الى نوعين هما: *S. aureus* و *S.albus*. وفي عام 1962 الحقت *S.xylosus* الى النوع *S.epidermidis* بعد ان تم عزلها وتشخيصها، ولوحظ انها تملك 51 مستضدا.

ثم الحقت في العام 1962 بالجنس *Micrococcus* وبسبب ان افراد هذا النوع غير قادرة على انتاج انزيم الفوسفاتيز والكوالبوليز وتترتب بشكل ثنائي او رباعي تم اعادتها الى الجنس *Staphylococcus*.

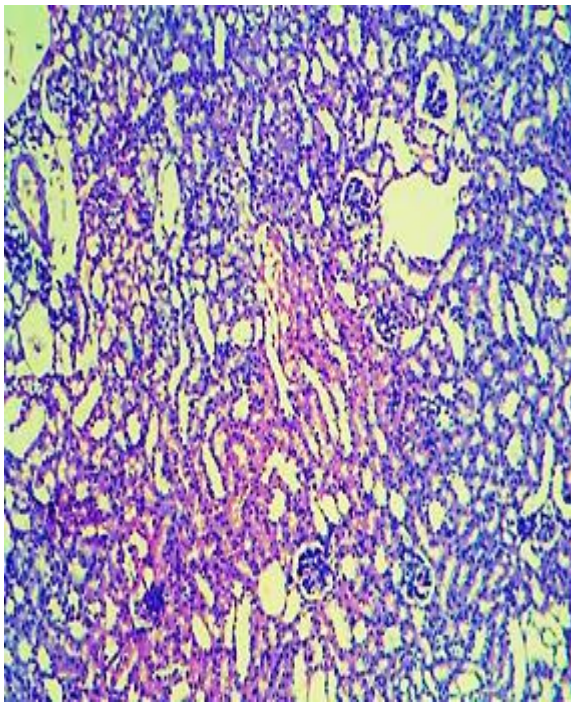
تتميز بكتريا *Staphylococcus xylosus* بكونها مكورات عنقودية سالبة لملون كرام موجبة الكاتاليز وعزلت من بيئات تحتوي على نسب قليلة من النايتروجين وكذلك عزلت باعداد قليلة من رمال الشواطئ والمياه وقصب الاهوار اذ انها تعيش بصورة رمية على جلد اللبائن وتعد الفلورا الطبيعية الموجودة عليه مثل الخيول والابقار والدواجن وتنقل الى الانسان بصورة عابرة من الحيوانات [1].

* Corresponding author at: college education altaarmih university Iraq
E-mail address:

الكلية Kidney:

بينت المقاطع النسيجية لكلى الفئران المحقونة بالبكتريا وبالأعداد (10^8 , 10^4) خلية مكونة للمستعمرة/مل مقارنة بحيوان السيطرة شكل (1) حدوث ارتشاح خلايا التهابية بسيط مع احتقان دموي (congestion) وتقجي (cytoplasmic vaculation) بسيط في الفئران المحقونة بالعدد 10^8 خلية مكونة للمستعمرة/مل شكل (2) و(3) ، وازدادت في الفئران المحقونة بالعدد 10^8 خلية مكونة للمستعمرة / مل حيث لوحظ وجود تقجي مع تنخر (necrosis) في الخلايا المبطنة للنيبيات الكلوية ونزف شديد واحتقان دموي (congestion) في الاوعية الدموية الشعيرية في داخل النسيج الكلوي مع انكماش في الكبيبة الكلوية (shrinkage of the glomeruli) شكل (3).

ان الذايفانات تغير مستوى الايونات في الدم وكذلك الاوكسجين مما ينتج عنه حالة نقص الاوكسجين الوارد الى الخلايا وبالتالي حصول تنخر النسيج وهذا يؤدي الى تحفيز افراز وسائط كيميائية وخاصة في جذب الخلايا الالتهابية المتمثلة باللمفية والبلعمية وبذلك تكون سبب التهابات في الكلية وحدوث ارتشاح للخلايا الالتهابية والتأكيد على ذلك ايضا وجود حالة النزف الشديد مما يشير الى وجود التغيرات الوعائية والخلوية في النسيج من خلال زيادة النفوذية (increase permeability) [11,10,4].



شكل(1) مقطع في الكلية لحيوان السيطرة يبين الشكل الطبيعي للكلية والنيبيات الكلوية وبقوة تكبير 400X (E&H)

العينات الى المختبر وبفترة لاتزيد عن ساعة تم زرعها على الاوساط الزرعية المناسبة.

• التشخيص المجهرى والزرعي والكيموحيوي:

بعد انتهاء فترة الحضانه(24 ساعة بدرجة 37° م⁰) جرى ملاحظة الخواص المجهرية والمزرعية للمزارع النامية على وسط Nutrient agar اذ تم الفحص مجهريا باستعمال صبغة كرام وملاحظة لون وشكل الخلايا. وتم تأكيد التشخيص باستخدام الاختبارات الكيموحيوية وحسب ماجاء في [6].

• تحضير العالق البكتيري:

تم تلقيح الانابيب الحاوية بالمزروع البكتيري المنمى بنقيع القلب والدماغ ومقارنته بماكفرلاند رقم 2 القياسية التي تمثل عدد $10^8 \times 1.5$ خلية /مليتر، حضرت منه التراكيز التالية 10^4 و 10^8 خلية للمستعمرة/مل.

• تهيئة الفئران وحقتها:

استعملت اناث الفئران السويسرية البيضاء باعمار 9 اسابيع ووزن (20-25)غم من البيت الحيواني من وحدة البحوث التجريبية/التقنيات الاحيائية/جامعة النهدين، ووضعت في اقفاص معدنية، وفرشت بنشارة الخشب مع ظروف مختبرية مناسبة 20 درجة مئوية قسمت الحيوانات الى ثلاث مجاميع(تضمنت كل مجموعة 3 فئران) بضمنها مجموعة السيطرة حقنت المجموعة الاولى بالعالق البكتيري في غشاء البريتون وبمقدار 0.1 مل/فارة وبالأعداد (10^4)، اما المجموعة الثانية فحقنت بنفس النسبة 0.1 مل/فارة بالأعداد (10^8) خلية مكونة للمستعمرة/مل اما مجموعة السيطرة فحقنت بدارئ الفوسفات الملحي [7].

• دراسة التأثيرات المرضية النسيجية في الفئران:

تم دراسة التغيرات النسيجية لاعضاء الفئران بعد مرور 5 ايام من الحقن بواسطة تثبيت وتقطيع الاعضاء (الكلية، الطحال، الكبد) الى شرائح نسيجية وتصبيغها بالهيماتوكسلين والايوسين [8,9].

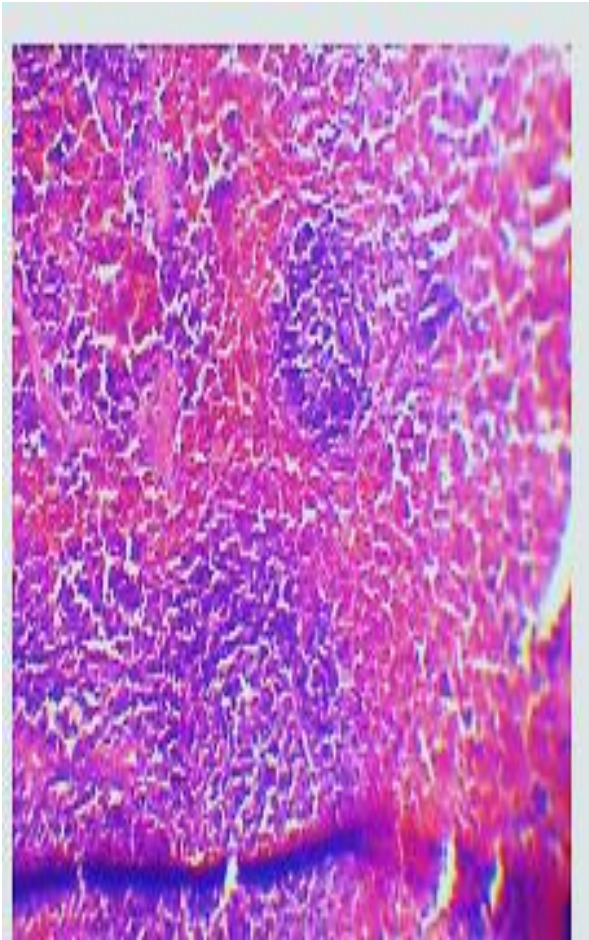
النتائج والمناقشة:

تم دراسة التأثيرات المرضية النسيجية لبكتريا *Staphylococcus xylosus* في الفئران المحقونة فأظهرت نتائج المقاطع النسيجية ان البكتريا سببت عدة تغيرات مرضية نسيجية وكما يلي:

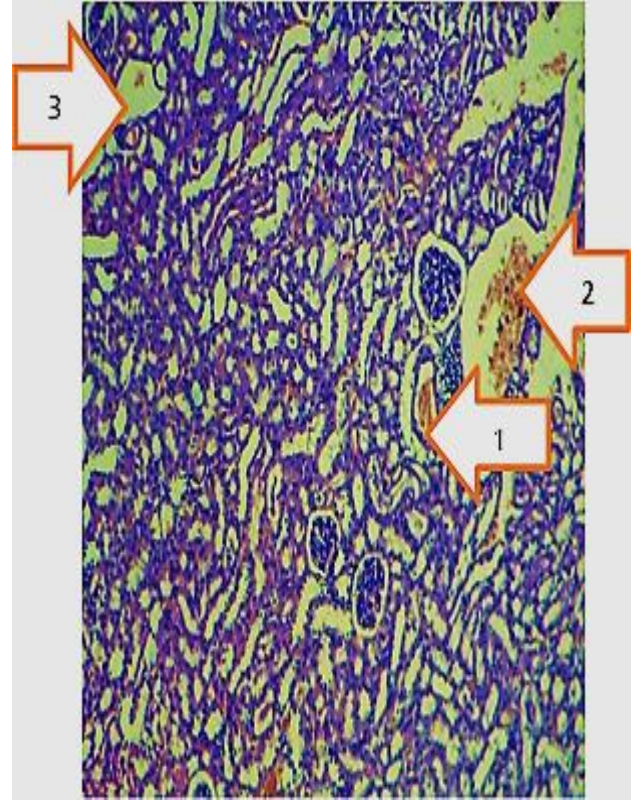
الطحال Spleen

لم تظهر المقاطع النسيجية لطحال الفئران المحقونة بالبكتريا وبالأعداد (10^4) خلية مكونة للمستعمرة/مل اي تغيرات تذكر بالنسيج مقارنة بحيوان السيطرة (شكل 4) في حين كانت التاثيرات في الفئران المحقونة بالعدد 10^8 خلية مكونة للمستعمرة/مل مع وجود وسط جرثومي (germinal center) حدوث تاثيرات مناعية تمثلت بتوسع اللب الابيض على حساب اللب الاحمر مع وجود خلايا مولدة للصفائح الدموية مع حدوث تغيرات نسيجية تمثلت بحدوث تخثر في النسيج البرنكييمي المكون للطحال شكل (6، ب) ..

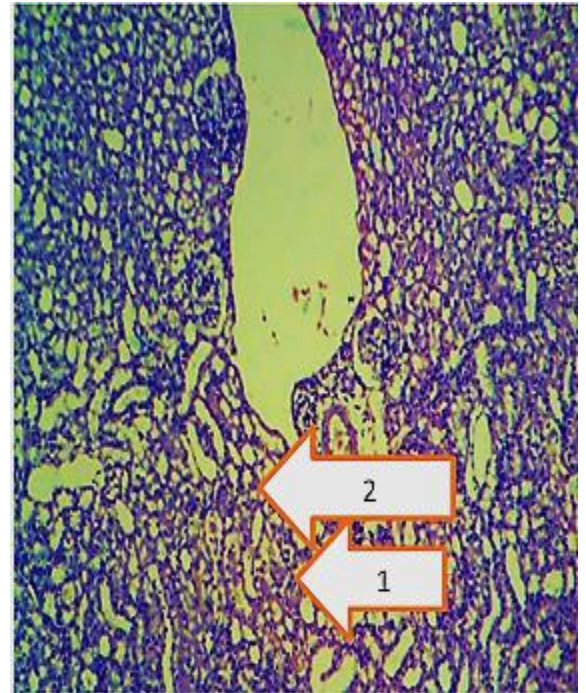
ان وجود الخلايا المولدة للصفائح الدموية المتضخمة Megakaryocytic دليل على حدوث الالتهاب الذي ادى الى فقدان العظم لوظيفته في توليد الصفائح الدموية فتقوم الخلايا المولدة للصفائح الدموية المتضخمة في الطحال بدلا من العظم بتكوين الصفائح الدموية وهذا ما يعرف Extramedullary haemopoiesis [12].



شكل (4) مقطع في الطحال لحيوان السيطرة يوضح الشكل الطبيعي لللب الاحمر والابيض وبقوة تكبير 400X (E&H)



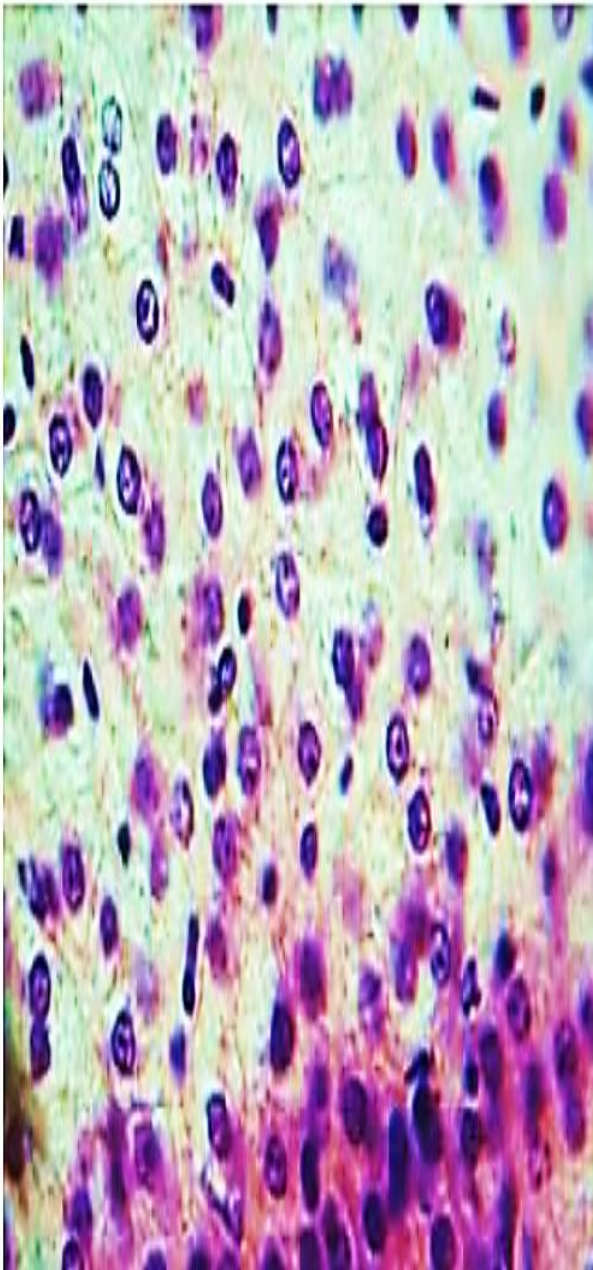
شكل (2) مقطع في نسيج كلية فار محقون ببكتريا *S. xylosus* بالعدد 10^4 وحدة مكونة للمستعمرة/مل ويظهر فيه حدوث تفجي بسيط في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية وارتشاح خلايا التهابية بسيط مع احتقان دموي وبقوة تكبير 400X (E&H) 1 تفجي، 2 ارتشاح.



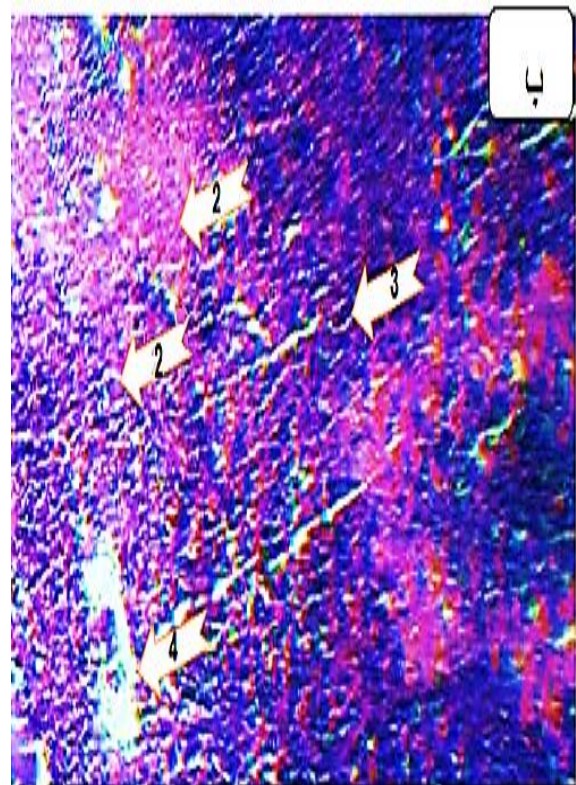
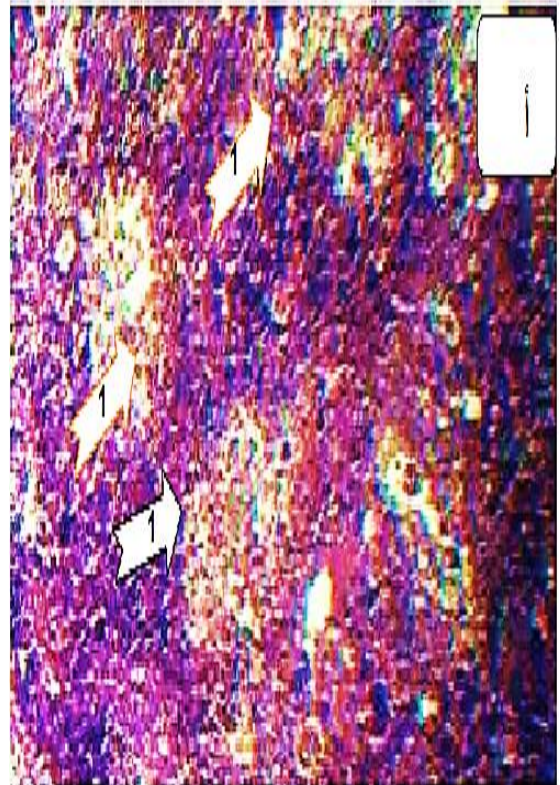
شكل (3) مقطع في نسيج كلية فار محقون ببكتريا *S. xylosus* بالعدد 10^8 وحدة مكونة للمستعمرة/مل ويظهر فيه حدوث تفجي بسيط في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية وارتشاح خلايا التهابية مع نزف دموي وبقوة تكبير 400X (E&H) 1 ارتشاح، 2 نزف دموي، 3 تفجي.

الكبد Liver:

اظهرت المقاطع النسيجية لكبد الفئران المحقونة بالبكتريا وبالاعداد (10^4 , 10^8) خلية مكونة للمستعمرة / مل مقارنة بحيوان السيطرة شكل (7) حدوث تفجى مع ارتشاح بؤري للخلايا الالتهابية منتشرة بين خلايا الكبد ولم يلاحظ حدوث زيادة بشدة التأثيرات عند زيادة اعداد البكتريا شكل (8 و9).



شكل(7) مقطع في الكبد لحيوان السيطرة يوضح الشكل الطبيعي لخلايا الكبد وبقوة تكبير 400X (E&H)



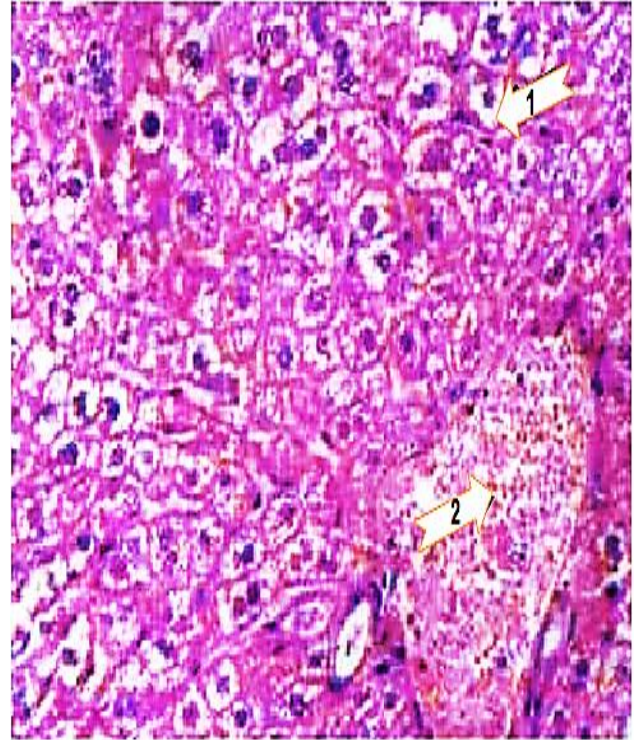
شكل (6 ا، ب) مقطع في نسيج طحال فار محقون ببكتريا S. xylosus بالعدد 10^8 وحدة مكونة للمستعمرة/ مل ويظهر حدوث توسع اللب الابيض على حساب اللب الاحمر مع وجود خلايا مولدة للصفائح الدموية وحدث تنخر في النسيج البرنكي المكون للطحال وبقوة تكبير 400 X (E&H). 1 توسع اللب الابيض، 2 اللب الاحمر، 3 خلايا مولدة للصفائح الدموية، 4 تنخر.

ان اصابة الفئران عند حقنها وموتها يتطلب جرعة اكبر من 10^6 CFU وان الجرعة الاصغر من ذلك تسبب تأثيرات واضحة في كبد وطحال الفئران يمكن ان تزول بعد 3-4 اسابيع اما البكتيريا التي تستطيع المقاومة والبقاء في الجسم فأنها تسبب خمج مزمن لفترة تتراوح بين 2-16 شهر الذي ينتهي فيما بعد بموت جميع الفئران، وان مقاومة الجسم لخمج البكتيريا الحاد يعتمد بشكل مباشر على انتاج الكاما انترفيرون ($\text{IFN-}\gamma$) في الجسم الحي والحماية السريعة التي يوفرها هذا العامل منذ اليوم الاول للإصابة هي التي تحدد كون الإصابة حادة ام تتحول الى اصابة مزمنة. ومن اهم اعراض اصابة الفئران هو ارتفاع شديد بدرجة الحرارة ثم ينتج تسمم للدم (Septicemia) الذي يعتبر من اهم العوامل التي تسبب ارتفاع نسبة الوفيات بهذه الإصابة واطهرت الفحوصات النسيجية ان البكتيريا تحدث تأثيرات مرضية نسيجية في كل من الطحال والكبد والعضلات الهيكلية وان اكثر الاعضاء تأثرا هو الطحال حيث تتكون خراجات شديدة (Splenic abscesses) وخصوصا في حالة الاخماج المزمنة [13,14,15].

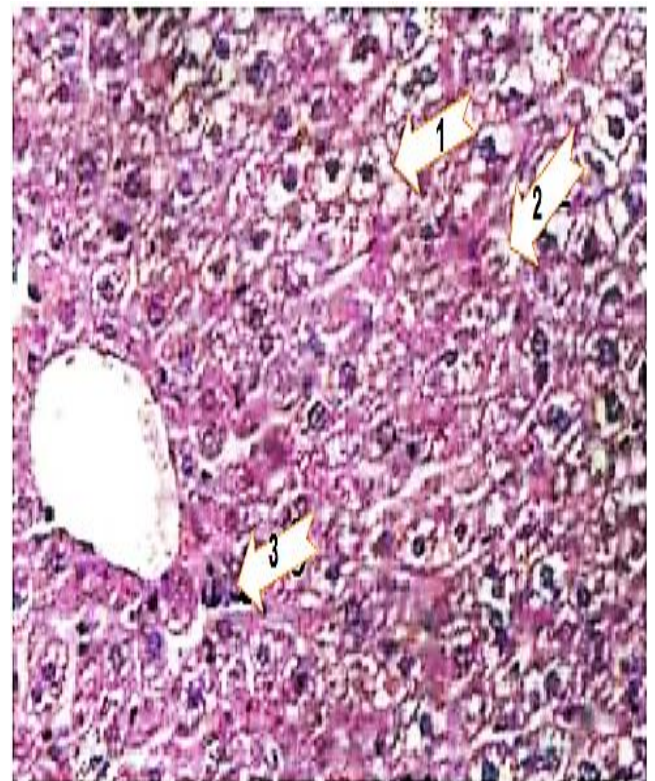
ان احدى وظائف الكبد ازالة السمية وسبب تجهيزه الدموي المزوج فهو عرضه للتلف وتعتمد تأثيرات الاذى على كمية السموم المفرزة من قبل البكتيريا، اما فيما يخص البؤر التخيرية وارتشاح الخلايا للمفاوية الذي يشير ويؤكد وجود حالة تسمم الكبد Hepatotoxic وهذه قد تكون ناتجة ايضا عن الاحتقان وفرط الدم الالتهابي ونقص الاوكسجين الوارد الى الخلايا الكبدية، ان حالة نخر الكبد ترتبط عادة مع التهاب الكبد الحاد وهو يحدث كاستجابة للنخر الكبدى من خلال تحفيز وافراز عوامل الجذب الكيماوي لجذب الخلايا الالتهابية المتمثلة في بادئ الامر بالعدلات ثم تليها الخلايا اللمفية والبلعمية، وماتضخم خلايا كوفر الاستجابة للادنى الحاصل في نسيج الكبد الذي يعتبر من الوسائل الدفاعية للنسيج ضد العامل المسبب (الجرثومة) [16].

المصادر:

- [1] Kuboskova, D. (2004). Characterisation of *Staphylococcus xylosus* strains isolated from humans clinical material. 14th ed ECSMID. P.1680.
- [2] Miller, W.R.; Pannell, L.; Cravitz, L.; Tanner, W.A. and Rosebury, T. 1948. Studies on certain biological characteristics of *Malleomyces mallei* and *Malleomyces pseudomallei* II. Virulence and infectivity for animals. J. Bacteriol. 55:127 –



شكل (8) مقطع في نسيج كبد فار محقون ببكتيريا *S. xylosus* بالعدد 10^4 وحدة مكونة للمستعمرة/مل ويظهر حدوث تفجى مع ارتشاح بؤري للخلايا الالتهابية منتشرة بين خلايا الكبد وبقوة تكبير 400X (E&H) 1. تفجى، 2. ارتشاح.



شكل (9) مقطع في نسيج كبد فار محقون ببكتيريا *S. xylosus* بالعدد 10^8 وحدة مكونة للمستعمرة/مل ويظهر حدوث تفجى مع ارتشاح بؤري للخلايا الالتهابية منتشرة بين خلايا الكبد وبقوة تكبير 400X (E&H) 1. تفجى، 2. احتقان، 3. ارتشاح.

- on some pathological aspect between *Staphylococcus xylosus* and *Staphylococcus saprophyticus*. M.Sc. Thesis. University of Baghdad / Baghdad Iraq / College of Science.
- [12]. Thewaini , G. N. & Jabuk , S.I.(2010) The study of pathogenicity determinant of enteropathogenic *E. coli* isolated from infant with acute diarrhea. CSASC Ar. V. Vol.5 PP.260-269. Biology department. Babylon university. Iraq.
- [13]. Ulrich, R.L. and Deshazer, D. 2004. Type III secretion : a virulence factor delivery system essential for the pathogenicity of *Burkholderia mallei*. *Infect. Immun.* 72 (2): 1150 – 1154.
- [14]. Larsen, J.C. and Johnson, N.H. 2009. Pathogenesis of *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*. *Mil. Med.* 174(6):647-51.
- [15]. Cheng, A.C. and Currie, B.J. 2005. Melioidosis: epidemiology, pathophysiology, and management. *Clin. Microbiol. Rev.* 18:383–416.
- [16]. Tseng, C. C.; Wu, J. J.; Liu, H. L.; Sung, J. M. & Huang, J. J. (2002). Roles of host and bacterial virulence factors in the development of upper urinary tract infection caused by *E. coli*. *Am. J. Kidney Dis.* 39:744-752.
- [17]. Valle, J.; Vadillo, S.; Pirizi, S. and Gomez-Lucia, E. (1991). Toxic shock syndrome toxin-1 (TSST-1) production by *Staphylococci* isolated from goats and presence of specific antibodies to TSST-1 in serum and milk. *J. Appl. Environ. Microbiol.* 57(3): 889-891.
- [18]. Zhang, S. and Madox, C.W. (2000). Cytotoxic activity of coagulase-negative *Staphylococci* in bovine mastitis. *Infect. And Immun.* 68(3): 1102-1108.
- 135.
- [3]. Fritz, D.L.; Vogel, P.; Brown, D.R.; Deshazer, D. and Waag, D.M. 2000. Mouse model of sublethal and lethal intraperitoneal glanders (*Burkholderia mallei*). *Vet. Pathol.* 37:626–636.
- [4]. Tawfiq, H.K. (2007). Comparative pathogenicity of peptidoglycan extracted from *Staphylococcus xylosum* and standard lipopolysaccharide extract from *E. coli*. M.Sc. Thesis. University of Baghdad / Baghdad Iraq / College of Science.
- [5]. Flayyih, M.T.; Kahdum, B.A. and Radeef, H.M. 2009. Isolation of *Burkholderia mallei* from patients with wound infection and study their virulence. *Al-Kufa University J. Biology.* 1(1): 467-475.
- [6]. Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Mornion, B.P. and Simmons, A. 1996. Mackie & MacCartney Practical Medical Microbiology. 14th ed. Churchill Livingstone, New York.
- [7]. Weijer, S.; Sewnath, M.E.; DeVos, A.F.; Florquin, S.; Gouma, D. J. & Takeda. (2003) Interleukin -18 facilitates the early antimicrobial host response to *E. coli* peritonitis. *Infect. Immun.* 71:5488 -5497.
- [8]. الكبيسي، (2009) دليل الطالب في علم الانسجة (النظري والعملية). الطبعة الاولى ص 11-14. دار صفاء للنشر والتوزيع عمان، الاردن.
- [9]. Humason, G. 1972. *Animal Tissue Technique*. 3rd. W.H. Freeman Company, San Francisco. p:641.
- [10]. Roelofs, J. J.; Rouschop, K. M.; Leemans, J. C.; Claessen, N.; Frederiks, W. M & Florquin, S. (2006). Tissue-type plasminogen activator modulates renal function in ischemia reperfusion injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17:131-140.
- [11]. Al-Ghairy , Z.K.A. (2007). Comparative study

Histopathological Effects of Staphylococcus xylosus Isolated on Mice **Ali H. Hammadi**

ABSTRACT

The histopathological effects Of Staphylococcus xylosus supernatant killed by radiation on four organs (kidney, spleen, lung and liver) of mice injected with (10^4 , 10^8) CFU/ ml were studied. The results showed that the bacteria induced histopathological effects in all organs. In kidney the effects characterized by cytoplasmic vacuolation and infiltration of inflammatory cells in addition to congestion and shrinkage of the glomeruli of the kidney, while effects in spleen characterized by enlargement of white pulp and necrosis in parenchymal tissue with formation of germinal center. Liver section showed cytoplasmic vacuolation and infiltration of inflammatory cells.