المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد١٩، العدد ٢، ٢٠٠٥(١٠٥-١١٣)

دراسة مرضية للخمج التجريبي بجراثيم المكورات المعوية البرازية في أفراخ فروج اللحم

انتصار رحيم الكناني* ، جورجيت نيسان شمعون** ، عدي سامي بيون*

* فرع علم الأمراض، ** فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل
الموصل، العراق
(الاستلام ٢٤ أذار ٢٠٠٥؛ القبول ٢٢ أيلول ٢٠٠٥)

الخلاصـــة

تضمنت هذه الدراسة عزل جراثيم المكورات المعوية البرازية من براز الدجاج ومتابعة سير المرض من خلال احداث الخمج التجريبي في افراخ دجاج فروج اللحم . أظهرت الدراسة وجود آفات مرضية في القلب تمثلت بالتهاب نخاب القلب الانمائي وفي الكبد تمثلت بالنخر التجلطي مع ارتشاح الخلايا الالتهابية المتمثلة باللمفيات حول الوريد المركزي فضلا عن التغيير الدهني الشديد وظهور آفات في الطحال تمثلت بالتهاب الطحال اما عند الرئتين لوحظ وجود ذات الرئة القصبية فضلا عن ترسب النضح المصلي والمصلي الليفيني مع ترسب لفجوات الدهن في جدار الابهر والقوس الابهري .

PATHOLOGICAL STUDY OF EXPERIMENTAL INFECTION OF *ENTEROCOCCUS FAECALIS* IN BROILER CHICKEN

[*]E R Al-Kennany , [**]Georget N Shamoon , [*]O S Beyon

[*]Department of Pathology, [**] Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, Mosul University, Mosul, Iraq

ABSTRACT

This study elucidates the isolation of the enterococcus from faeces of chickens and fellow up pathogenesis through the induction of Experimental infection in broiler chickens. The study showed the development pathological lesions in the heart represented by vegetative endocarditis, in liver represented by present of coagulative necrosis associated with infiltration of lymphocytes around central vein, as well as sever fatty changes, also the lesion included splenitis. Lung lesions characterized by presence of Bronchopneumonia and infiltration of serous and sero-fibrinous exudates with localization of lipid vacuoles in the wall of thoracic aorta & aortic arch.

المقدمـة

تعد صناعة الدواجن واحدة من اهم مصادر الغذاء البروتيني الحيواني في العالم و تمتاز بقلة تكاليفها وتساهم في زيادة الدخل القومي. من المسببات الجرثومية التي تعيق هذه الصناعة جراثيم السالمونيلا والايشريكيا القولونية وجراثيم المكورات المعوية Enterococcus وهي جزء من المجموعة الميكروبية الطبيعية الموجودة في القناة المعوية للحيوان والإنسان والطيور (1). حيث لوحظ قابلية هذه الجراثيم على إحداث أفات مرضية في اجهزة الجسم المختلفة منها الجهاز العصبي المركزي في الدواجن (2) والقلب والقناة البولية واغشية السحايا (3).

لهذه الجراثيم قابلية على إفراز مواد خارج خلوية تمثل عوامل ضراوة تشترك في أحداث الأمراضية وقد تم التعرف عليها من خلال تجارب الامراضية في الحيوانات المختبرية والدواجن ومن هذه العوامل الحال الدموي Hemolysine ومواد التجمع aggregation substances وحامض اللايبوتيكويك Lipoticeic acid والانزيمات الحالة للبروتين protease والهايلوروندير ylyuronidase والبكتريوسين Bacteriocin فضلا عن قدرة هذه الجراثيم على الالتصاق والتمركز وغزو بعض الأنسجة في الجسم (4) . ان الخمج بهذه الجراثيم قد يسبب علامات سريرية تختلط مع بعض الأمراض الأخرى منها العلامات العصبية التي تعيق في كثير من الاحيان التشخيص الدقيق واعطاء العلاج المناسب مما يزيد من المضاعفات ويسبب هلاكات في افراخ الدجاج.

ولكون هذه الجراثيم من النبيت الطبيعي Microflora في القناة المعوية للدواجن (5) الا ان الدراسات الحديثة تفتقر الى تصنيف هذه الجراثيم إلى مستوى النوع وتأثيره على الأنواع الميكروبية الأخرى الموجودة في الأمعاء(5).

لقد تم عزل جراثيم المكورات المعوية من القناة المعوية للدواجن ولوحظ ان الانواع السائدة هي :- *E. faecium* و *E.faecalis* وعزلت أنواع أخرى ولكن بنسب قليلة منها *E. gallinarum* و *E.avium*(4 , 5) ونظرا لمقاومة هذه الجراثيم للعديد من المضادات الحياتية المستخدمة في علاج الدواجن ارتأت هذه الدراسة معرفة قابلية الجراثيم على إحداث الخمج تجريبياً ودراسة الآفات المرضية.

المواد وطرائق العمل

تم استخدام 40 فرخا من فروج اللحم بعمر يوم واحد، ربيت في أقفاص وقدم لها العلف والماء الاعتياديين قسمت عشوائيا الى مجموعتين اساسيتين بواقع عشرون فرخا لكل مجموعة، المجموعة الأولى عدت مجموعة سيطرة أما المجموعة الثانية تم حقنها بمعلق يحتوي على جراثيم *Enterococcus faecalis* بتركيز ($3x10^3$) (1) والمعزولة من المسحات المخرجية لأفراخ فروج اللحم حيث تم حقن 0.5 مل من الجراثيم بالتجويف ألخلبي Intraperitoneal njection .

تركت الأفراخ تحت الملاحظة لمدة 21 يوما حيث تم القتل خلال الفترات (3 , 7 , 14 , 21) يوما بعد الخمج.

وبعد ظهور العلامات السريرية تم إجراء الصفة التشريحية وأخذت نماذج من الكبد والقلب والطحال و الرئتين وغمرت في محلول الفورمالين الدارئ المتعادل 10% حيث تم تمرير العينات لتحضير البلوكات الشمعية إذ قطعت إلى شرائح نسجية بسمك 4 – 6 ما يكرون وصبغت بصبغة الهيماتوكسلين – ايوسين وصبغة كرام المحورة (8) بعدها فحصت تحت المجهر الضوئي الاعتيادي وصورت باستخدام كاميرا التصوير.

النتائج

العزل الجرثومي: أظهرت نتائج العزل الجرثومي من القلب والكبد والطحال والرئتين نمو جراثيم المكورات المعوية على الأوساط الانتخابية بهيئة مستعمرات بيضاء الى رمادية اللون على وسط Azid blood agar وسوداء على وسط D–coccasal agar كما أظهرت لون وردي محمر على وسط Enterococcus agar كما وأعطت الجراثيم تفاعلا موجبا مع صبغة كرام اذ ظهرت بشكل مكورات منفردة وأزواج وعلى شكل سلاسل قصيرة .وتلازنا مع مجموعة D من مجاميع لانسفيلد واظهر فحص API ان نوع العزلة هو *E. facealis* (E.F.).

العلامات السريرية: أظهرت الافراخ المخمجة علامات سريرية تمثلت بالانزواء والتواء الرقبة مع الخمول وعدم القابلية على الحركة .

التغيرات المرضية العيانية Gross Pathological Changes:

بعد مرور 3 ايام من الخمج تم اجراء الصفة التشريحية للافراخ المخمجة واظهرت وجود العديد من مناطق نخرية على سطح الكبد اما في القلب تمثلت الآفات بوجود عتامة غشاء التامور وتغير لونه إلى كريمي فضلا عن وجود مراحل من ذات الرئة تتمثل بالاحتقان والتكبد الأحمر مع تضخم في الطحال Splenomegaly.

وعند اليوم 7 بعد الخمج لوحظ وجود بقع patch بيضاء على سطح الكبد وغشاء ليفيني على غشاء التامور بهيئة التصاقات ازدادت شدتها عند اليوم 14 و 21 بعد الخمج فضلا عن وجود العديد من البقع البيضاء على العضلات والاوتار الحليمية . اما في الرئتين لوحظ وجود مراحل مختلفة من ذات الرئة خاصة منها التكبد الاحمر والرمادي فضلا عن انكماش الرئتين . وفي الطحال لوحظ وجود بؤر نخرية مع تضخم الطحال .

التغيرات المرضية النسجية Histopathological Changes:

الكبد : اظهرت المقاطع النسجية للكبد وجود العديد من بؤر النخر التجلطي Coagulative necrosis عند حافات الفصوص الكبدية مرتشحة بأعداد كثيرة من الخلايا الالتهابية متعددة أشكال النوى Heterophiles فضلا عن وجود تغير دهني في هيولي الخلايا الكبدية القريبة من الوريد المركزي مع ارتشاح الخلايا الالتهابية اللمفية حول الوريد المركزي وعند الباحة البابية في اليوم الثالث بعد الخمج. وعند اليوم 7 و 14 لوحظ تغير دهني شديد في هيولي الخلايا الكبدية مع نخر شديد للخلايا الكبدية وتوسع الجيبانيات وتضخم خلايا كوفر فضلا عن ارتشاح و تكفف الخلايا الالتهابية حول الوريد المركزي اما عند اليوم 21 كانت التغيرات اعلاه اكثر شدة . فضلا عن ترسب لخضاب الهيموسدرين في هيولي خلايا كوفر . صورة (1-3).

القلب: في اليوم الثالث بعد الخمج لوحظ وجود تخثر في التجاويف القلبية مع نخر تجلطي في الالياف العضلية وارتشاح للخلايا الالتهابية المتمثلة المغايرات Heterophiles بين الحزمة العضلية مع احتقان ونزف شديد للأوعية الشعرية.

كما لوحظ عند اليوم 7 – 14 وجود تمركز للمستعمرات الجرثومية في قمة الحليمات العضلية مع تموضع للخثار في تجاويف القلب العليا اليمنى مع ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية وحيدة النواة متمثلة باللمفية فضلا عن ارتشاح النضح الليفيني مع تحول بعض الالياف العضلية الى كتلة مزججة Hayline masses واحتقان في تجويف الشرايين التاجية اما عند اليوم 21 لوحظ زيادة شدة التغيرات المذكورة اعلاه فضلا عن ترسب لفجوات الدهن في طبقة البطانة للشرايين التاجية والقوس الابهري مع ملاحظة وجود تعضي Organization للخثار في التجاويف القلبية مع تضخم خلايا البطانة في شغاف القلب (صورة 4-5).

الطحال: أظهرت المقاطع النسجية المصبوغة بالهيماتوكسلين– ايوسين وجود العديد من البؤر النخرية فضلا عن نفاذ في مركز الجريبات اللمفية واحلالها بالخلايا البلازمية عند اليوم الثالث من الخمج. وكانت تلك التغيرات اكثر شدة في اليوم 7 – 14 فضلا عن وجود تصلب في الشرايين الطحالية arteriosclerosis وتثخن جدرانها مع تكاثر في خلايا النواء Megakaryocyte وترسب شديد لخضاب الهيموسدرين في هيولي البلعمات مع نزف شديد.

اما عند اليوم 21 لوحظ وجود انكماش في الجريبات الطحالية وتثخن الحويجزات الطحالية لارتشاحها بالخلايا الالتهابية اللمفية (صورة 6).

الرئتين: لوحظ وجود آفات لذات الرئة تتمثل بالاحتقان الشديد في الاوعية الشعيرية مع نفاخ Emphysema جدار الاسناخ فضلا عن وجود النضح المصلي Serous exudates في تجويف الاسناخ الرئوية عند اليوم الثالث بعد الخمج أما عند اليوم 7 – 4 لوحظ وجود ارتشاح كثيف للخلايا الالتهابية متمثلة باللمفية والخلايا البلازمية والبلعمية ممزوجة مع النضح المصلي– الليفيني Sero-fibrinous exudate مع تثخن في جدار الاسناخ الرئوية وتضخم في الخلايا الظهارية المبطنة لجدار الاسناخ فضلاً عن وجود العديد من البؤر الالتهابية وتثخن في الحويجزات الرئوية فضلا عن النفاخ وتجمع النضح الالتهابي في تجويف القصيبات الهوائية. وعند اليوم 21 كانت التغيرات اكثر شدة مما ذكر اعلاه عند اليوم 14 بعد الخمج فضلا عن تثخن في جدار الشرايين الرئوية مع تموضع وترسب للفجوات الدهنية في البطانة والطبقة المتوسطة للجدار مع وجود النضح الالتهابي في تجويف القصيبات الهوائية و تثخن جدار تلك القصيبات فضلا عن فرط تنسج الخلايا الظهارية المبطنة للقصيبات (صورة 7, 8).

(صورة 1) مقطع من نسيج الكبد لفرخ مخمج بجرثومة E.f. بعد سبعة ايام من الخمج يوضح تموضع العديد من البؤر النخرية .
الصبغة H&E، قوة التكبير 200 X

(صورة 2) مقطع من نسيج الكبد لفرخ مخمج بجرثومة .E.f بعد 14 يوم من الخمج يوضح التغير الدهني الشديد في هيولي الخلايا الكبدية مع توسع الجيبانيات و تضخم خلايا كوفر.
الصبغة H&E، قوة التكبير 400 X

(صورة 3) مقطع من نسيج الكبد لفرخ مخمج بجرثومة .E.fبعد 21 يوم من الخمج يوضح تكفف الخلايا اللمفية حول الوريد المركزي.
الصبغة H&E، قوة التكبير 400X

(صورة 4) مقطع من نسيج قلب لفرخ مخمج بجرثومة .E.f بعد اليوم السابع من الخمج يوضح تموضع المستوطنات الجرثومية في قمة الحليمات مع تموضع للخثار في تجاويف القلب اليمنى.
الصبغة H&E قوة التكبير 200 x

(صورة 5) مقطع من نسيج القلب لفرخ مخمج بجرثومة .E.f بعد 21 يوم من الخمج يوضح التنكس الزجاجي في الالياف العضلية مع ترسب لفجوات الدهن في بطانة الشرايين التاجية مع تضخم خلايا البطانة
الصبغة H&E قوة التكبير 400 x

(صورة 6) مقطع من نسيج الطحال لفرخ مخمج بجرثومة E.f. بعد 7 ايام من الخمج يوضح تصلب الشرايين الطحالية مع تثخن في الجدار.
الصبغة H&E قوة التكبير 200 x

(صورة 7) مقطع من نسيج الرئة لفرخ مخمخ بجرثومة E.f. بعد 14 يوم من الخمج يوضح الارتشاح الكثيف للخلايا الالتهابية مع تثخن في جدار الاسناخ الرئوية فضلاً عن تجمع النضح الالتهابي في تجويف القصيبات.
الصبغة H&E ، قوة التكبير 400 x

(صورة 8) مقطع من نسيج الرئة لفرخ مخمج بجرثومة E.f يوضح فرط تنسج الخلايا الظهارية في جدار القصيبات مع تثخن في جدار الاسناخ و الأوعية الدموية الرئوية.
الصبغة H&E قوة التكبير 200 x

المناقشة

يعد جنس المكورات المعوية واحداً من الأجناس العديدة المهمة طبياً اذ تمتلك هذه الجراثيم العديد من عوامل الضراوة المهمة في امراضيتها و التي من خلالها تبدأ الإصابة حيث لوحظ في السنوات الأخيرة قابليتها على احداث الخمج في الدواجن و الإنسان و الحيوان وخاصة خمج كيس المح yolk sac في الافراخ الصغيرة محدثاً علامات عصبية مشابه لما يحدث عند نقص فيتامين هـ (2) وهذا ما لاحظته هذه الدراسة من علامات سريرية متمثلة بالتواء الرقبة و عدم القابلية على الحركة.

بعد التاكد من نتائج الاختبارات التي اجريت على العزلة تم التوصل الى ان هذه الجراثيم هي عائدة لـ *E.faecalis* والمعزولة من المسحات المخرجية الماخوذة من افراخ فروج اللحم وهذا يتطابق مع ما ذكره الباحث (2) بان هذه الجراثيم هي السائدة على الانواع الاخرى و التي عزلت من العينات السريرية التي تصيب الدواجن وخاصة في الأعمار الصغيرة.

أشارت الدراسة الى حدوث تغيرات مرضية عيانية و نسيجية في أفراخ الدجاج بعد حقنها خلال الفترات 21 ,14 ,7 ,3 من الخمج تؤكد حدوث الخمج بالمكورات المعوية ، ان ظهور أفات التهاب شغاف القلب الإنمائي مع تكوين الخثار في تجاويف القلب قد يعود الى امتلاك الجراثيم لبعض عوامل الضراوة المتمثل بمواد التجمع aggregation substances التي تسهل و تساعد على التصاق الجرثومة مع الصفيحات الدموية و كريات الدم الحمر على بطانة الوعاء الدموي (7) فضلا عن الاذى الذي تحدثه في خلايا البطانة مما

يسهل من تكوين الخثار و ترسب الليفين بفعل افراز البروثرومبين الذي يعمل على تحويل الفايبرونوجين إلى فايبرين مساعد بذلك على تكوين المستوطنات التخثرية الجرثومية Bacterial thrombus (صورة 4).

إن ظهور الافات النخرية الالتهابية في انسجة الكبد و الطحال و الرئتين قد يكون ناتج عن انتقال الجرثومة عبر الدم او اللمف و الى الارجح عبر الدم حيث ظهرت العديد من الافات المرضية في جدران الاوعية الدموية و بالاخص في الابهر الصدري وهذا قد يعود الى بعض عوامل الضراوة مثل حامض اللايبوتيكويك والبكتريوسين التي تسهل انتقالها عبر الحواجز الظهارية. اتصفت الافات المرضية في القلب و الكبد بوجود العديد من البؤر الخلوية النخرية (صورة 1) وقد يعود ذلك الى امتلاك الجرثومة لعوامل الضراوة المتمثل بـ Proteaseو Hyalurindase الذي يساعد على حدوث النخر و تحرير لبعض عوامل الجذب الكيمياوي المتمثل بعامل النخر الورمي tumer necrosis factor و الانزيمات الحالة autolytic enzyme (10). أظهرت المقاطع النسجية وجود افات في الرئتين تمثلت بذات الرئة القصبي Bronchopneumonia و النفاخ فضلا عن تثخن في البعض من جدران الاسناخ وقد يعود ذلك الى قابلية الجرثومة على الالتصاق على الخلايا الظهارية السنخية مما يسبب حدوث الاستجابة الالتهابية مصحوباً بترسب لخضاب الهيموسدرين الذي قد يعود الى فعل الحال الدموي الذي تنتجه الجراثيم (2) .

ان ظهور افات التغير الدهني في القلب و الكبد (lipidosis) وظهور الفجوات الدهنية في البطانة و الطبقة المتوسطة للشريان الابهر قد يعود الى قدرة الجراثيم على تحرير السوبر اوكسايد خارج الخلية extracellular superoxid ion الذي يعد احد الجذور الحرة فضلا عن انتاج جذور الاوكسجين الحرة المتمثلة بيبروكسيد الهيدروجين و الذي ينتج خلال عملية البلعمة phagocytosis مما يسبب في تحريره الدهون بعد تحطم اغشية الخلايا (٩).

المصـادر

1. Diveriese L A; Van de kerchhove A; Kilpper balz R and Scheifer K H .Characterization and Identification of Enterococcus Species isolated from animal. Int J System Bacteriolog.1987; 37,251- 259.
2. Diveriese L A, Pot B. and Collins MD. Phenotypic identification of the genus Enterococcus and differentiation of phylogenetically distinct Enterococcus species and species group . J Applied Bacterial. 1991;75-399-408.
3. Wade JJ and Utley A H C. Resistant Enterococcal mechanisms laboratory detection and control in hospitals. J Clin Patrol. 2000; 49:700-703.
4. Shiono A and Ike Y. Isolation of *Enterococcus faecalis* clinical isolates that efficiency adheres to human bladder carcinoma T24 cell and inhibition of adhesion by fibronectin trypsin treatment. Infect Immune. 1999; 67:1585-1592.
5. Quedna U and Moline A P. Antibiotic resistant strains of Enterococcus isolated from Swedish and Danish retailed chicken and pork. J Apply Microbiol. 1998; 84:1163.
6. Bridges P D; and Sneath PH. Streptococcus gallinerum sp. and Str. oralis sp. Int J Syst Bacteriology 1982 ; 32: 410-415.
7. Elsner HA; Sobottka I; Hack P; Claussen M; lanfs R and Wirth R. Virulence factors of Enterococcus faecalis and Enterococcus faecium blood culture isolates Enrj Clin Microbiol Infection. Dis. 2000; 19:39-42.
8. Huyckc M M and Gilmore Ms. Frequency of aggregation substance and cytolysin genes among Enterococcal endocarditis isolates ,Plasmid . 1995; 34:152-156.
9. AL-Kennany E R. Role of oxidative streets associated with experimental *Enterococcus Faecalis* infection for initiation and development of atherosclerosis in rat. Iraqi J Vet Science. 2004; 18:135-144 .
10. Norman F. Cheville. Introduction to veterinary pathology, 2ed edition. Iowa state university 1999; pp 128-129.