

## دراسة تشخيصية وتجريبية لجراثيم الورديات الكلوية المعزولة من حالات التهاب المجاري البولية في الأبقار

صبا عبد الرحيم حسين

فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الاستلام ١٩ نيسان ٢٠٠٩؛ القبول ١٥ نيسان ٢٠١٠)

### الخلاصة

شملت الدراسة عزل وتشخيص الورديات الكلوية من إدرار الأبقار والتي شخصت سريريا على أنها مصابة بالتهاب المجاري البولية، إذ شكلت الورديات الكلوية أعلى نسبة عزل بلغت ٤٩.٩٩٪، في حين شكلت الورديات الفييجية ٢٤.٢٤٪ من مجموعة جراثيم الورديات ٧٤.٢٣٪، كما تم عزل جراثيم المكورات العنقودية الرمية بنسبة ٢٥.٧٥٪، ولكن جراثيم الورديات الكلوية الأكثر نسبة وأمراضها، تم دراسة أمراضيتها من خلال حقنها في الفئران البيضاء السويسرية داخل الخلب، أظهرت النتائج الحالية قابلية جراثيم الورديات الكلوية النمط الأول على إحداث الأذى لنسيج الكلية بعد ٤٨ ساعة من الحقن متمثلة بوجود حالة التهاب الكلية الكبيبي الصمي وقليل من عصيات الورديات الكلوية يصاحبها ارتفاع خلايا التهابية متعددة الأنواع مع وجود حالة الكلاع الكلوي، فضلاً عن إحداثها الأذى في نسيج الكبد تمثل بوجود التكثف الفجوي والنخر التجاطي لخلايا الكبد واحتفان الوريد المركزي.

### Diagnostic and experimental study of *Corynebacterium renale* isolated from urinary tract infection of cattle

S. A. Hussein

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

### Abstract

The study includes isolation and identification of *Corynebacterium renale* from urine of cow apparently suffering from urinary tract infection. *C. renale* represent highest isolate 49. 99% followed by *Corynebacterium pyogenes* 24.24% from the total number of *Corynebacterium* 74.23%. on the other hand *Staphylococcus saprophyticus* also isolated from urine samples 25.75%. Since *C. renale* was isolated at highest rate we studied its pathogenesis via inoculation of isolate intraperitoneally into white Swiss mice. Results showed that *C. renale* type I has ability to produce kidney damage after 48 hr. post inoculation revealed embolic glomerular nephritis with less number of *C. renale*, also there is infiltration of polymorphnuclear inflammatory cell and nephrosis, in addition to vacular degeneration, coagulative necrosis with blood vessel congestion in liver tissue.

Available online at <http://www.vetmedmosul.org/ijvs>

الورديات الكلوية ثلاثة انماط مصلية وبعد النمط المصلية الاول والثالث الأكثر إمراضية (٢)، تكون هذه الجراثيم بشكل مهدب وغير مهدب، وتعد الانواع المهدبة ذات أهمية كبيرة بسبب قابليتها على الالتصاق على ظهاره الغشاء البوليسي كما وأنها أكثر مقاومة للبلعمة (٣). وتمتلك جراثيم الورديات الكلوية مقاومة

### المقدمة

تعد جراثيم الورديات الكلوية احد المسببات المهمة في حدوث التهاب المجاري البولية المتمثل بالتهاب الكلية والحوبيضة والتهاب المثانة في الأبقار (١). تمتلك جراثيم

افتحت المستعمرات النامية على الأوساط الانتخابية Hoyles Media و Mannitol salt agar ثم صنفت العزلات باستخدام الاختبارات الكيموجوية (١٠)، واستخدم اختبار تخمير السكريات لتنميط جراثيم الودييات الكلوية (١١). استخدم ١٥ فار ابيض سويسري وبعمر ٢ شهر وبوزن ٣٠ غم التي تم الحصول عليها من بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري، قسمت الحيوانات على خمس مجاميع وبواقع ثلاثة فئران لكل مجموعة، حفظت اربع مجاميع بمقدار ٠٠١ مل من العالق الجرثومي لجراثيم type I C. renale المعزولة من إدرار الأبقار المصابة والحاوي على تركيز  $3 \times 10^8$  وحدة تكبير المستعمرة / مل في البريتون، اما المجموعة الخامسة فحافت بمقدار ٠٠١ مل من الوسط المزرعي السائل المعمق بنفس منطقة الحقن، أجريت الصفة التشريحية بعد ٤٨ - ٧٢ - ٩٦ ساعة من الحقن لدراسة التغييرات المرضية للفئران المحقونة للكليتين والكبد والطحال (١٢ و ١٣ و ١٤).

ثبتت العينات في محلول الفورمالين الداري المتعادل ١٠٪، ثم مررت بالطريقة العادية باستعمال الهستوكاينيت واخيرا طمرت بالشمع بشكل قوالب وقطعت الى شرائح بسمك ٦-٥ مايكرون، وصبغت كافة الشرائح بالصبغة الاعتيادية الهايماتوكسيلين - الايوسين (١٤).

### النتائج

بيّنت النتائج إن أعلى نسبة عزل كانت لجراثيم الودييات بنسبة ٧٤.٢٣٪، ثلثتها جراثيم المكورات العنقودية الرمية بنسبة ٢٥.٧٥٪ وكانت الودييات الكلوية الاعلى في النسبة ٤٩.٩٩٪، ثلثتها الودييات القيحية ٢٤.٢٤٪ من مجموعة جراثيم الودييات جدول رقم (١). الجدول رقم (٢) يوضح نتائج الاختبارات الكيموجوية لجراثيم المعزولة من ادرار الابقار المصابة. الجدول رقم (٣) يوضح نتائج تنميط الودييات الكلوية وذلك حسب قدرتها على تخمير انواع معينة من السكريات.

بعد اجراء الصفة التشريحية للفئران المحقونة بالملحق الجرثومي لجراثيم الودييات الكلوية النمط الاول لوحظ شحوب في الكليتين في حين لم تظهر المقاطع النسجية تغييرات واضحة وذلك بعد ٤٨ ساعة من الحقن.

قليله نسبياً للمواد الكيمياوية والفيزيائية وتعيش في التربة لفتره ٥-٦ يوم ويمكن عزلها من الغبار ومن محيط الحيوانات المصابة (٤). فضلا عن قدرتها على إفراز خميرة البيرايز وهذه الخميرة تعتبر عامل فوّعة (٥)، كما ولها القابلية على تحرير ذيفان سام ولهذا تعد جراثيم سامة (٦).

تصاب الأبقار بخمج الودييات بعد سن البلوغ وتعد اكثر حساسية للإصابة من الثيران وهناك العديد من العوامل تساعده على حدوث الخمج في الابقار منها عند الرضاعة المبكرة وفي الفصول الباردة من السنة، عند التغذية المفرطة، والقطعان كثيرة الانتاجية للحليب كما وان الكدمة على الاحليل وتوقف الادرار تسهل صعود الاصابة، فضلا عن الاجهاد الحاصل بعد الولادة وقصر طول الاحليل في الابقار مهيئة لحدوث خمج القناة البولية. ويحدث الخمج من خلال الاتصال المباشر، وعند استعمال فرشاة تأقیح ملوثة وفي حالة الاستعمال الخاطئ للقسطرة البولية، كما وتنشر الاصابة زهريا (٨،٤).

وتتمثل العلامات السريريه للتهاب المجرى البولي بالحمى وفالة الشهية وفالة انتاجية الحليب والخمول وكثرة التبول ويكون الادرار عكرا وفي بعض الحالات مخضبا بالدم، اما الالفات العينية فتتمثل بتجمع القيح في حويض الكلية والحالب وتنخن جدار المثانة فضلا عن النزف والتقرح (٦،١).

### المواد وطرق العمل

تم جمع (٦٦) نموذجا من ادرار الابقار المحلية في حقول كلية الزراعة ومن حقول مختلفة في مدينة الموصل منها حقول في منطقة موصل الجديدة وحقول منطقة العطشانة وحقول منطقة الشلالات وبعمر ٤-٢ سنة والتي اظهرت سريريا علامات التهاب المجرى البولي، اخذت عينات البول عند تدرر الابقار بعد اهمال القطرات الاولى من البول مع اتخاذ اجراءات التعقيم ووضعت في قناني معقمة ومحكمة الغلق وفحست العينات خلال اقل من ساعتين.

ربست عينات الادرار في جهاز الطرد المركزي ولفتح الراسب على وسط اكار الدم agar Blood agar واكار الماكونكي MacConkey agar والاكار المغذي Nutrient agar وحضنته بدرجة حرارة ٣٧°C لمدة ٢٤ ساعة ثم فحست المستعمرات النامية على هذه الأوساط بعد تمتها بالزرع المتكرر (٩).

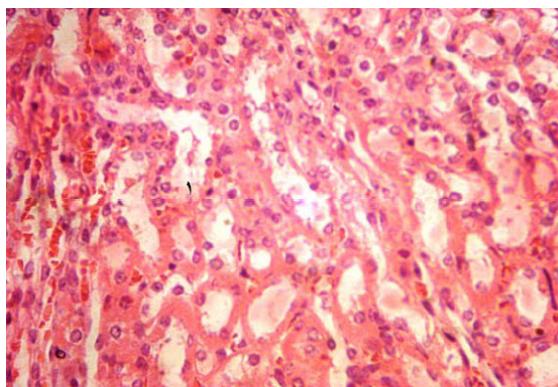
جدول رقم (١) اعداد ونسب جراثيم المعزولة من ادرار الابقار.

الرقم	النوع	العدد	العدد الكلى	النسبة %	النسبة الكلية %
١	C. renale	٣٣	٤٩	٤٩.٩٩	٧٤.٢٣
٢	C. pyogenes	١٦	١٧	٢٤.٢٤	
٣	Staph. saprophyticus		٦٦		٢٥.٧٥
المجموع					

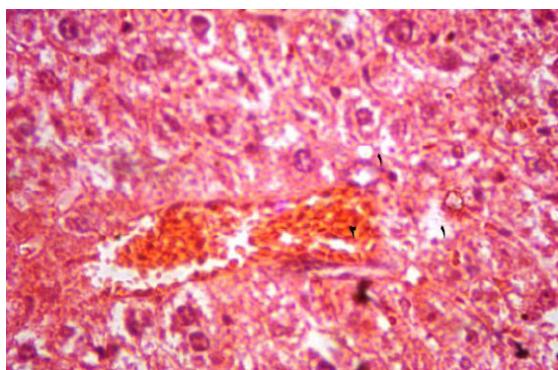
جدول رقم (٢) : الاختبارات الكيموحيوية للجراثيم المعزولة.

Strain	Biochemical tests								
	U	Ni	Ox	Ca	I	glucose	Maltose	sucrose	Xylose
C. renale	+	-	+	+	-	+	-	-	-
C. pyogenes	-	-	-	-	-	+	V	V	+
Staph saprophyticus	+	-	-	+	-	V	+	+	-

U: urea , Ni: nitrate reduction , Ox: oxidase , Ca: catalase , I: indol, +: positive result , -: negative result , V: variable result.



صورة رقم (٢) : مقطع نسجي في كلية فأر خمج بالورتديات الكلوية (النطء الأول) بعد مرور ٤٨ ساعة من الحقن، يوضح توسيع تجويف النبيبات الكلوية مع ظهور حالة الكلاء الكلوي .<sup>١</sup> الهيماتوكسيلين والابوسين × 450.



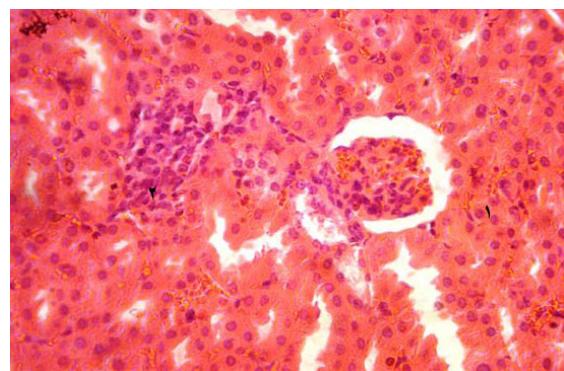
صورة رقم (٣) : مقطع نسجي في كبد فأر خمج بالورتديات الكلوية(النطء الأول) بعد مرور ٤٨ ساعة من الحقن، يوضح التكثف الفجوي والنخر التجلطي لخلايا الكبد حول الوريد المركزي <sup>١</sup> مع احتقان الوريد المركزي <sup>٢</sup>. الهيماتوكليلين والابوسين × 560.

اما بعد ٧٢ ساعة من الحقن، فشوهد تضخم كل من الكليتين والكبد مع شحوب شديد فيما اما نسجيًا فقد لوحظ تكرار الافات

جدول رقم (٣) انماط الورتديات الكلوية حسب تخميرها للسكريات.

C. renale types	N	U	Acid form		
			glucose	Maltose	Sucrose
C. renale (I)	-	+	+	V	-
C. Polisum (II)	+	+	+	-	-
C. cystiti dis (III)	-	+	+	-	-

اما بعد ٤٨ ساعة من الحقن لوحظ احتقان في كل من الكليتين والكبد مع وجود التضخم في الكليتين فقط، اظهرت المقاطع النسجية للكليتين وجود حالة التهاب الكلية الكبيبي الصمي مع احتقان الاوعية الدموية وارتشاح كثيف لخلايا الالتهابية متعددة النوى في المتن الكلوي صورة (١)، فضلا عن توسيع تجويف النبيبات الكلوية مع ظهور حالة الكلاء الكلوي صورة (٢)، اما الكبد فلوحظ التكسس الفجوي والنخر التجلطي لخلايا الكبد و حول الوريد المركزي مع احتقان الوريد المركزي صورة (٣).



صورة رقم (١) : مقطع نسجي في كلية فأر خمج بالورتديات الكلوية(النطء الأول) بعد مرور ٤٨ ساعة من الحقن، يوضح وجود حالة التهاب الكلية الكبيبي الصمي يصاحبها احتقان الاوعية الدموية <sup>١</sup> مع ارتشاح كثيف لخلايا الالتهابية متعددة النوى في المتن الكلوي <sup>٢</sup>. الهيماتوكليلين والابوسين × 450.

إلى خسائر اقتصادية لا يُستهان بها من خلال ما تسببه من خفض نوعي وكمي في إنتاجية الحيوان (١٥) وذلك لأنها يساهم في حفظ وتنظيم مكونات السائل الجسمى وازالة الفضلات السامة من الجسم، كما يساهم في إفراز الهرمونات التي تشجع نخاع العظم على تكوين كريات الدم الحمر (١٦). أوضحت نتائج هذه الدراسة أن نسبة عزل جراثيم الورتديات كانت عالية، شكلت الورتديات الكلوية أعلى النسب منها تلتها الورتديات القيحية وهذا مشابه لما توصل إليه Saiek وجماعته (١٧) (Braun وجماعته (١٨)، كما أشار Yanagawa إلى أن أكثر العزلات تكرارا هي الورتديات الكلوية وعزى ذلك لكون القناة البولية هي التسیح الأول المستهدف للاتصال بها (١٩)، في حين اختلفت نسبة العزل في دراستنا عن ما حصل عليه زناد والجمالي الذي اجرى دراسة مشابهة في الأغنام (٢٠)، وعزى ذلك الاختلاف لكون الابقار أكثر عرضة إلى الاصابة بالتهابات المجرى البولي سواء كانت جزءاً أو أكثر من القناة البولية (٢١)، كما وتعذر افراد جنس الورتديات هي المسبب الأول لالتهاب المجرى البولي في الحيوانات وبشكل خاص الابقار، وأمتلاك هذه الجراثيم عوامل ضراوة متمثلة بالبروتين الهبني الذي يساهم في الالتصاق بسطح القناة البولية وبذلك تقاوم جريان البول، فضلاً عن امتلاكها انزيم الويرايز Urease (٢٢) كما وان العلاقة التشريحية العميقية بين الجهاز البولي والتتناسلي تعطي دلالة على ان المرض الذي يصيب احدهما ممكن ان ينتشر بسهولة إلى الجهاز الآخر (٢٣).

كما سجلت المكورات العنقودية الرمية (٢٥.٧٥٪) وهذه الجراثيم لم يتم عزلها في دراسات مماثلة وقد يعزى ذلك لكونها غازية ثانوية او تكون قد نشأت نتيجة نمو الورتديات الكلوية فترة طويلة في محيط بولي قاعدي (٣)، كما أنها جراثيم انتهازية تمتلك بعض سلالاتها محفظة وتمتلك سلالات أخرى ذيفافات محللة للدم اذا أنها تغزو الجلد ومنها تتتطور الاصابة الموضعية إلى اصابة جهازية عند وصولها إلى مجرى الدم ومن ثم تنتقل إلى القناة البولية وتصيبها (١٦).

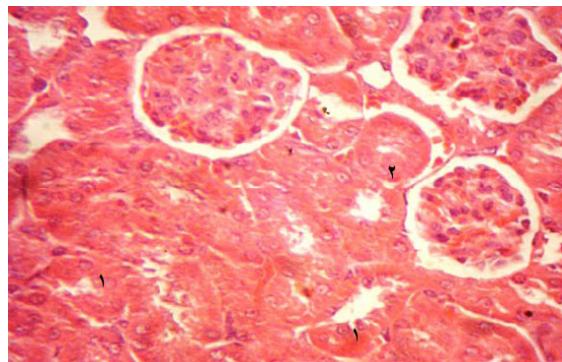
وكانت نتائج الاختبارات الشكلية والكموم giova التي اجريت على العزلات مطابقة لما ورد في انظمة التشخيص المعتمدة (٢١).

نظراً لكون الورتديات الكلوية النمط الاول C. renale type I الأكثر امراضية (١٣)، فقد تم اجراء دراسة مرضية نسيجية للتحري عن الافات التي من الممكن ان يحدثها هذا النمط من الجراثيم في كل من الكلية والكبد والطحال من خلال الحقن في بريتون الفئران السويسيرية البيضاء اذا تعد هذه الطريقة اكثر كفاءة في حوث خمج الورتديات الكلوية لقلة ميكانيكية التوظيف الفيزيولوجي واليات الدفاع الموضعية الأخرى (٢٣).

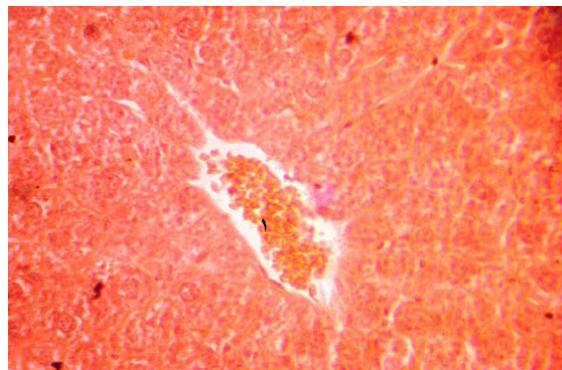
اظهرت الدراسة المرضية لنسيج الكلية قابلية جراثيم الورتديات الكلوية النمط الاول C. renale type I على احداث الاذى خلال الفترات ٤٨-٧٢ ساعة من الحقن، اذا لوحظ

المذكورة انفا في الكليتين ولكن بدرجة اقل شدة، مع تورم الخلايا المبطنة للنبويات الكلوية والنخر التجلطي صورة (٤)، اما الكبد فللحظ وجود احتقان الوريد المركزي مع الجيبيات صورة (٥).

وعند ٩٦ ساعة من الحقن، فقد كان التضخم والشحوب شديداً في كل من الكليتين والكبد ونسجيها فقد تكررت الافات المذكورة انفاً في كل من الكليتين والكبد ولكنها اقل شدة.



صورة رقم (٤): مقطع نسجي في كلية فأر خمج بالورتديات الكلوية (النمط الاول) بعد مرور ٧٢ ساعة من الحقن، يوضح تورم الخلايا الظهارية المبطنة للنبويات الكلوية<sup>١</sup> مع نخر تجلطي في البعض الآخر<sup>٢</sup>. الہیماتوکسیلین والاپوسین × ٥٦٠.



صورة رقم (٥): مقطع نسجي في كبد فأر خمج بالورتديات الكلوية (النمط الاول) بعد مرور ٧٢ ساعة من الحقن، يوضح احتقان الورى المركزي مع الجيبيات<sup>١</sup>. الہیماتوکسیلین والاپوسین × ٥٠٠.

#### المناقشة

تعد امراض الجهاز البولي من الامراض المهمة التي تصيب قطعان الماشية على وجه الخصوص الابقار مما يؤدي

5. Quinn PJ, Carter ME , Markey B, Carter GR. Clinical veterinary microbiology. USA Mosby. An imprint of Elsevier Ltd. 1999; pp:137-143.
6. فرج، عبود حسن. دراسة بعض الجوانب المرضية لأمراض الكلية ومسبياتها في الأبقار -٦ والعجول. (رسالة ماجستير). بغداد: جامعة بغداد، ١٩٨٠.
7. Prescott ML, Harley PG , Klein AD. Microbiology. 6<sup>th</sup> ed. Mc Graw – Hill Inc. 2005; pp:528 – 529.
8. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME , Donnelly WJ , Leonard FC Veterinary microbiology and microbial diseases. UK: Blackwell Science Ltd. 2002; pp: 55-59.
9. السعدون، عبد السنار سالم. التحرى عن الاصحاج الجرثومية في الجهاز البولي للأبقار في مدينة الموصل. (رسالة ماجستير)، الموصى: جامعة الموصل، ٢٠٠٦، ٢٠٠٦.
10. Brooke GF , Butel JS , Morse SA. Medical microbiology. 23<sup>th</sup> ed. USA: Mc Graw Hill Co. 2004;pp: 212-217.
11. Mims C, Dockrell MH, Goering VR, Roitt I,Wakelin D, Zuckerman M. Medical microbiolog. 3<sup>th</sup>. ed. Mosby. An Imprint of Elsevier; 2004.
12. Henderson LC, Kadis S, Williel JRC. Influence of iron *Corynebacterium renale*-Induced pyelonephritis in a rat experimental model. Infect Immun. 1978;21:540-545.
13. Shimono E, Yanagawa R. Experimental model of *Corynebacterium renale* pyelonephritis produced in mice. Infect Immun. 1977;16:263-267.
14. Luna LG. Manual of histological staining methods of the armed forces institute of pathology. 3<sup>th</sup> ed. New York: Mc Grow Hill Back Co. 1968;pp: 38-76.
15. رحيمة، ماجد شيل، رشيد، يسمى، محمود، صفوان يوسف. دراسة المسببات -١٥- الجرثومية والاقات المرضية للجهاز البولي في الأبقار بعد النجاح. المجلة العراقية للعلوم البيطرية. ٢٩٥ : ٢١ ، ٢٠٠٧ - ٣٠٥ ص.
16. Coles EH. Veterinary pathology. 4<sup>th</sup> ed. Canada :W. B. Sounders Co. 1986;pp. 448-462.
17. Saiek AH, Sayed A, Rayhib MF. Studies pyelonephritis and cystitis fattening buffalo-calves in Assiut governorate. Assiut Vet Med. 2000;44: 65-77.
18. Braun U, Kuss K, Wehbrink S, Rauch S , Pospischil A. Clinical and ultrasonographic finding, diagnosis and treatment of pyelonephritis in 17 cows. Vet J. 2008;175:240-248 .
19. Yanagawa R. Causative agent of bovine pyelonephritis *corynebacterium renale*, *Cory. pilosum* and *Cory. cystitis*. Prog Vet Microb Immun. 2:158-174.
20. زناد، محمد مشطب، الجمالي، منركه محمود حسن: عزل وتشخيص الأنواع الجرثومية المسببة لالتهاب المجاري البولية في الاغنام المذبوحة في مدينة الموصل. المجلة العراقية للعلوم البيطرية، ٢٠٠٧ : ٢١ - ٢٦٩ ص.
21. Kunin N, Calvin M. Urinary tract infection detection, prevention and management. 5<sup>th</sup> ed. Baltimore: Williams and Wilkins. 1997;pp: 312-320.
22. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR , Janda WM, Schreckenber PC , jrwcv. Colour atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Philadelphia : Lippincott – Raven Publishers. 1997;pp: 121-163.
23. Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Disease of urinary system: Veterinary medicine a textbook of the diseases of the cattle, sheep, pigs, goats, horses. 9<sup>th</sup> ed. New York: W. B. Saunders Co. 2000;pp: 479-498.
24. McGavin MD, Zachary JI. Pathologic basis of veterinary diseases. 4<sup>th</sup> ed. Mosby Elsevier. 2007; pp:664-667.
25. Samuelson DA. Textbook of veterinary histology USA: Saunders, An imprint of Elsevier; 2007.

وجود عصيات جراثيم الورديات الكلوية في الخلايا الظهارية للنبيبات الكلوية والذي يؤكد قدرة الجراثيم على اختراق هذه الخلايا واحداث الاذى (٤،٣). كما اظهرت الدراسة النسيجية حدوث تورم خلوي حاد Acute cell swelling فضلا عن افراز انزيم سببه الى اختراق جراثيم الورديات الكلوية للخلايا اذ تحرر بعض المواد السامة toxic substances الى اليوريا الى امونيا (٢) والتي تسبب اذى المتقدرات وبالتالي تورمها وظهور الخلايا الالتهابية التورم الخلوي الحاد، كما لوحظ ارتشاش للخلايا الالتهابية متعددة النوى والذي يعزى الى قدرة الجراثيم على افراز وتحrir بعض الوسائط الكيميائية التي تساعد على حدوث استجابة الالتهابية (٢٢).

ان ظهور التكس الفجوي في الخلايا الكبدية والاحتقان في الاوردة المركزية يعطي دلالة واضحة على قدرة هذه الجراثيم على احداث اذى لنسيج الكبد (١٣). في حين لم تظهر أي تغيرات نسجية في الطحال وهذا مطابق لما جاء في (١٣) وذلك ربما يعود لامتلاكه للجهاز الشبكي الوعائي الذي يعمل كخط اولى يمنع دخول الجراثيم للخلايا (٢٥،٢٤).

نستنتج من هذه الدراسة ان جراثيم الورديات الكلوية النمط الاول لها القدرة على احداث اذى بالغ في الخلايا الكلوية والكبدية وهذا السبب الذي يجعل لزاما علينا ان نتناولها بالبحث ونعنيها بالدراسة فضلا عن الوقوف على الانماط الاخرى لهذه الجراثيم ودراستها بشكل عميق.

## شكر وامتنان

يتقدم الباحث بالشكر والتقدير الى عمادة كلية الطب البيطري وفرع الاحياء المجهرية وفرع الامراض لمساهمتهم الفاعلة في انجاز هذا البحث.

## المصادر

1. Jerusik J R, Kadis S, williel JRC, Richard E. Experimental rat model for *Corynebacterium renale* – induced pyelonephritis. Infect Immun. 1977; 18(3):828-832.
2. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, horses , sheep , pigs and goats. Part II. 10<sup>th</sup> ed. Saunders Elsevier An imprint of Elsevier Ltd; 2007. pp:789 – 791.
3. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. Veterinary medicine. A textbook of the disease of cattle , horses , sheep , pigs and goats. part I. 10<sup>th</sup> ed. Saunders Elsevier An imprint of Elsevier Ltd; 2007. 559-562.
4. حداد، جاسب جاسم، علم الاحياء المجهرية البيطرية، اسسليات علم الجراثيم. الموصل، ٤- العراق: دار الحكمة للطباعة والنشر، ١٩٩١ . ١٩٧ - ٢١٠ ص.