دراسة مرضية للخمج التجريبي بجراثيم المكورات المعوية البرازية في طيور السمان

محمد غسان الحمداني و انتصار رحيم الكناني

فرع الأمراض وأمراض الدواجن، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الإستلام ١٤ كانون الأول ٢٠١٢؛ القبول ٣١ آذار ٢٠١٣)

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة لعزل وتصنيف جراثيم المكورات المعوية البرازية *Enterococcus faecalis* من الأمعاء الدقيقة والأعور لطيور السمان وزرعها وتنميتها في الأوساط الزرعية التفريقية والانتخابية و تحديد تركيز معلق جرثومة المكورات المعوية البرازية لإجراء الخمج التجريبي ومتابعة الامراضية. قسمت طيور السمان عشوائيا الى أربعة مجاميع عدت المجموعة الأولى مجموعة سيطرة وحقنت المجاميع التالية ٠,٥ مل من المعلق الجرثومي داخل الخلب حيث المجموعة الثانية حقنت بتركيز $1X10^8$ CFU وحقنت المجموعة الثالثة بتركيز $1X10^9$ CFU أما المجموعة الرابعة فحقنت بتركيز $1X10^{10}$ CFU، تم متابعة العلامات السريرية، والآفات المرضية بعد إجراء الصفة التشريحية للسمان خلال الفترات ٣ و ٧ و ١٤ و ٢١ يوم بعد الخمج لكل من القلب والكبد والكلية. أظهرت النتائج نمو جراثيم المكورات المعوية البرازية بعد العزل الجرثومي فضلا عن وجود الآفات العيانية المتمثلة بعتامة غشاء التامور وتضخم القلب واحتشاء الكبد أما نسجيا فشملت الآفات بداية التهاب شغاف القلب و ظهور التغير الدهني الشديد وتموضع الخثرات الحديثة والنخر الشديد للخلايا الكبدية كما أظهرت الكلية التورم الخلوي لظهارة النبيبات الكلوية وموت الخلايا المبرمج (Apoptosis) عند اليوم الثالث من الخمج وكانت الآفات النسجية اكثر شدة بشكل عام عند الأيام ٣ و ٧ من الخمج. نستنتج من هذه الدراسة أن طيور السمان لها آلية دفاعية ومناعية قوية بالرغم من ظهور التغيرات المرضية عند الخمج التجريبي بتراكيز عالية من المعلق الجرثومي والتي تسبب الموت في حيوانات اخرى مثل الفئران والجرذان، فضلا عن ان جرثومة المكورات المعوية البرازية تمتلك القابلية على تحفيز موت الخلايا المبرمج.

Pathological study of experimental infection with *Enterococcus faecalis* in quails

M. G. Al-hamdany and E. R. Al-kennany

Department of Pathology and Poultry Diseases, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

This study was carried to isolate and identificate of *Enterococcus. faecalis* from small intestine and cecum of quails by culturing on differential and selective media. The concentration of *E. faecalis* suspension was fixed for experimental infection. Quails divided randomly into four groups, the first group considered as control group, the other groups injected with 0.5 ml of bacterial suspension as following: second group $1X10^8$ CFU, the third group injected with $1X10^9$ CFU, and the forth group injected with $1X10^{10}$ CFU. The clinical signs and pathological changes of heart, liver and kidney were observed at 3, 7, 14 and 21 days after infection. The results showed identification of *E. faecalis* after culturing and isolation of it. The gross lesions represented by opacity of pericardium, heart hypertrophy and liver infarction, histopathological lesions include beginning of endocarditis, severe fatty changes with localized recent thrombus and severe necrosis in liver, and cell swelling of epithelium lining renal tubules and apoptosis in kidney. The histopathological changes were more severe at 3 and 7 days post infection. This study concludes that quails have a strong defense and immune mechanism despite the appearance of pathological changes with high concentrations of bacterial suspension which cause death in other animals such as mice and rats, also *E.faecalis* possesses the ability to induce apoptosis.

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

المقدمة

يتميز لحم طائر السمان بطاقة حرارية أعلى من الطيور الأخرى فضلا عن سهولة هضمه و فائدته الكبيرة في الصحة العامة والجهاز المناعي للإنسان، ولبيض السمان فوائد للنمو لذلك يوصف في غذاء الأطفال و كبار السن فهو يماثل بيض الدجاج في التركيب إلا انه أغنى منه في العناصر المعدنية و الفيتامينات (1).

تتعرض طيور السمان للعديد من المسببات المرضية منها الجرثومية خاصة تلك التي تتواجد في القناة المعوية خلال تعرضه للكرب التاكسدي وتعرف هذه بالجراثيم الطبيعية (Normal flora) في الانسان والحيوان والطيور منها المكورات المعوية .Enterococcus spp و السالمونيلا والايشريكيا القولونية *(E.coli)* (2).

تعود جراثيم المكورات المعوية الى مجموعة D للمكورات السبحية Streptococcus وتتواجد المكورات المعوية بشكل شائع ومنتشر في بيئة الدواجن وتعتبر عامل ممرض pathogen مهم عند توفر ظروف الاجهاد والتثبيط المناعي وبالتالي قد تتداخل مع العديد من الاصابات المرضية (3,2)، وتعتبر جراثيم المكورات المعوية أحد أكثر ثلاثة ممرضات جرثومية تنتقل في المستشفيات (Nosocomial) (4-6)، ويوجد عتر مقاومة للمضادات الحيوية المتوفرة مما يشكل صعوبة في العلاج (7).

ان أكثر من ٩٠% من الاصابة بأنواع المكورات المعوية تحدث بواسطة نوع *E. faecalis* أما الإصابات المتبقية فأغلبها تتسبب بواسطة نوع *E.faecium* أما الإصابة بالأنواع الأخرى فتعتبر نادرة (4)، ولجراثيم المكورات المعوية البرازية القابلية على إفراز مواد خارج خلوية تمثل عوامل ضراوة (Virulence factors) تشترك في إحداث الامراضية وترتبط بالتكاثر في المضيف والتنافس مع الجراثيم الاخرى ومقاومة الآلية الدفاعية للجسم وتوليد الآفات المرضية بصورة مباشرة او غير مباشرة بواسطة الالتهاب ومن هذه العوامل السوبر أوكسايد خارج الخلايا (Extracellular superoxide) وحال الدم (Hemolysine) ومواد التجمع (Aggregation substances) وحامض اللايبوتيكويك (Lipoteichoic acid) والأنزيمات الحالة للبروتين Protease والهايلورونديز (Hyluronidase) والبكتريوسين (Bacteriocine) فضلا عن قدرة هذه الجراثيم على الالتصاق والتمركز وغزو بعض الأنسجة بالجسم (8).

تدخل جرثومة المكورات المعوية البرازية الجسم عن طريق الفم والهواء او بواسطة الجروح الجلدية، وتسبب السمدمية (Septicemia) في الدجاج في الحالات التي تسمح لها باختراق ظهارة الزغابات المعوية أو قد تسبب التهاب شغاف القلب (Endocarditis) أو كلاهما (10,9)، يحصل التهاب شغاف القلب عندما تكون الإصابة بالمكورات المعوية بالشكل تحت الحاد (Subacute) او المزمن (Chronic)، في حين تسبب بعض انواع المكورات المعوية نخر اماعي أي تلين الدماغ (Encephalomalacia) في أفراخ فروج اللحم (11). ونظرا لقلة الدراسات حول امراضية هذه الجراثيم في طيور السمان ارتأت هذه الدراسة الى معرفة قابلية هذه الجراثيم على إحداث الخمج تجريبيا لمتابعة المرض.

المواد وطرائق العمل

استخدمت في هذه التجربة طيور السمان (Japanese quails) بعمر ٢١ يوم وبأوزان تراوحت بين ٨٠ - ١٠٠ غرام، تم الحصول على بيض السمان من هيئة البحوث الزراعية / قسم بحوث نينوى وحضن البيض في حاضنة بيت الحيوان التابع لكلية الطب البيطري – جامعة الموصل وبعد الفقس تم تربية أفراخ السمان في ظروف مختبرية قياسية من حيث درجة الحرارة والإضاءة وزودت بالماء والعلف طيلة فترة التجربة.

العزل الجرثومي

تم عزل جراثيم المكورات المعوية البرازية من أمعاء وأعور طيور السمان بطريقة معقمة ووضعت العزلات في مرق نقيع الدماغ والقلب (Brain heart infusion broth BHIB) ثم حضنت بدرجة حرارة ٣٧م° ولمدة ٢٤ ساعة ثم أخذت مسحة منه وزرعت على وسط أكار الماكونكي (MacConkey agar) ووضعت بالحاضنة بدرجة حرارة ٣٧ م° ولمدة ٢٤ ساعة ثم أخذت مسحة منه وزرعت على وسط أكار الدم أزايد (Azide blood agar) ووسط الدم ادوارد(Edward blood agar) (أوساط تفريقية) ووضعت بالحاضنة بدرجة حرارة ٣٧ م° ولمدة ٢٤ ساعة وصبغت بصبغة الكرام (Gram's stain) ثم أخذت مسحات منها وزرعت على الوسط الانتخابي لجراثيم المكورات المعوية Enterococcus agar ثم تم اجراء اختبار نمو عزلة الجراثيم في وسط مرق نقيع الدماغ والقلب مضاف إليه ملح الطعام NaCl بتركيز 6%ثم أجريت الاختبارات الكيموحيوية بواسطة فحص API 20 Strep (شركة bioMérieux الفرنسية) للتشخيص الدقيق (12) حيث يحتوي هذا الشريط على حجرات فيها سكريات وحسب طريقة الاستعمال أضيفت الجرثومة النقية الى الوسط السائل التابع للفحص ثم أضيفت الى الحجرات وحضن الشريط لمدة ٤ ساعات ثم أضيفت الكواشف وحضن لمدة ٢٤ ساعة و قرأت النتيجة، وتم إجراء العد الجرثومي الحيوي (Viable bacterial count) حسب طريقة مايلز وميسرا (Miles & Misra) (13) باستخدام تخافيف عشارية من مرق BHIB وزرعت على وسط أكار نقيع الدماغ والقلب (BHI agar) ووضعت الأطباق بالحاضنة بدرجة حرارة ٣٧ م° ولمدة ٢٤ ساعة ثم تم عد المستعمرات في كل طبق وحساب معدلاتها لتحديد تراكيزها.

الخمج التجريبي

قسمت ٨٠ طير سمان عشوائيا بعمر ٢١ يوم الى أربعة مجاميع بواقع ٢٠ طيرا لكل مجموعة وبعد ان تم الحصول على

تراكيز مختلفة من معلق جراثيم المكورات المعوية البرازية عدت المجموعة الأولى مجموعة سيطرة وحقنت بالملح الفسلجي وحقنت المجموعة الثانية بالمعلق الجرثومي بتركيز $1X10^8$ CFU وحقنت المجموعة الثالثة بتركيز $1X10^9$ CFU أما المجموعة الرابعة فحقنت بتركيز $1X10^{10}$ CFU وكانت كافة الجرع المحقونة بحجم ٠,٥ مل و بالتجويف الخلبي.

تركت طيور السمان تحت الملاحظة لمدة ٢١ يوم حيث تم القتل خلال الفترات ٣ و ٧ و ١٤ و ٢١ يوم بعد الخمج، وبعد ظهور العلامات السريرية تم إجراء الصفة التشريحية وملاحظة التغيرات العيانية وأخذت نماذج من القلب والكبد والكلية ووضعت في محلول الفورمالين الدارئ المتعادل ١٠% ثم تم تمرير العينات وتحضير المقاطع النسجية وصبغها بصبغة الهيماتوكسيلين والأيوسين (14).

تم إعادة عزل لجراثيم *E.faecalis* وذلك بأخذ مسحات معقمة من داخل القلب وزرعها في مرق نقيع الدماغ والقلب BHI broth وحفظت بالحاضنة بدرجة حرارة ٣٧م° ولمدة ٢٤ ثم زرعت على كافة الأوساط التي استخدمت في العزل الأولي وصبغت بصبغة الكرام Gram's stain واجريت الاختبارات الكيموحيوية باستخدام فحص API 20 Strep (١٢).

النتائج

العزل الجرثومي

أظهرت نتائج العزل الجرثومي نمو جراثيم المكورات المعوية على الأوساط الانتخابية بشكل مستعمرات بيضاء الى رمادية اللون على وسط أكار الدم أزايد ومستعمرات بيضاء بحجم رأس الدبوس على وسط الدم ادوارد (الشكل ١) ومستعمرات حمراء – بنية منفردة بحجم رأس الدبوس على وسط (الشكل ٢)، كما أظهرت الجراثيم تفاعلا موجبا مع صبغة الكرام اذ كانت بشكل مكورات منفردة وأزواج وعلى شكل سلاسل قصيرة، أما نتيجة فحص شريط API 20 Strep التي تعتمد على قراءة التغيرات اللونية لمحتويات الحجرات فأظهرت أن نوع العزلة هي المكورات المعوية البرازية بنسبة ٩٩% حيث تكتب نتيجة موجب او سالب لكل حجرة بالشريط حسب التغير اللوني على ورقة النتيجة الخاصة بالفحص ثم يحسب الرقم النهائي ويقارن بالفهرست الخاص بالجراثيم (الشكل ٣).

بين اختبار نمو عزلة الجراثيم في وسط مرق نقيع الدماغ والقلب مضاف إليه ملح الطعام NaCl بتركيز 6% ظهور عكارةTurbidity مقارنة مع وسط مرق نقيع الدماغ والقلب مضاف إليه ملح الطعام بتركيز 6% غير المزروع.

العلامات السريرية

أظهرت طيور السمان المخمجة علامات سريرية تمثلت بقلة نشاط ونفوش الريش والخمول والانزواء طيلة فترة الدراسة وأظهر أحد الطيور إسهال ممزوج بالدم.

التغيرات المرضية العيانية

تم إجراء الصفة التشريحية بعد ٣ و ٧ و ١٤ و ٢١ يوم من حقن طيور السمان بالمعلق الجرثومي بالتراكيز الثلاثة وظهرت التغيرات عند التركيز $1X10^9$ CFU إلا أنها كانت أشد بتركيز $1X10^{10}$ CFU عند الفترات ١٤ و٢١ يوم بعد الخمج وتمثلت بتضخم واحتقان القلب وعتامة غشاء التامور وتغير لونه الى كريمي معتم (الشكل ٤) واحتشاءInfarction وشحوب واحتقان الكبد (الشكل ٥) فضلا عن تضخم واحتقان الكلية.

التغيرات المرضية النسجية

القلب

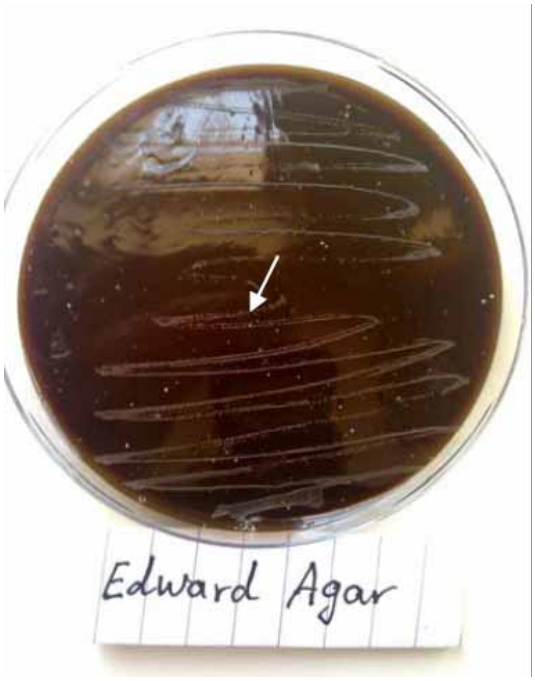
أظهرت المقاطع النسجية للقلب في اليوم ٣ و ٧ و ١٤ بعد الخمج احتقانات في الشعيرات الدموية بين الألياف العضلية وارتشاح الخلايا الالتهابية المتمثلة بالمغايرات ممزوجة بتجمعات من البكتريا فضلا عن التغير الدهني في هيولي الخلايا العضلية القلبية عند التركيز$1X10^9$ CFU (الشكل ٦)، تكررت التغيرات المذكورة سابقا عند اليوم ٢١ من الخمج فضلا عن تزجج الألياف العضلية والنزف (الشكل ٧) وازدادت شدة الآفات عند المجموعة الثالثة التي حقنت بتركيز $1X10^{10}$ CFU من المعلق الجرثومي.

الكبد

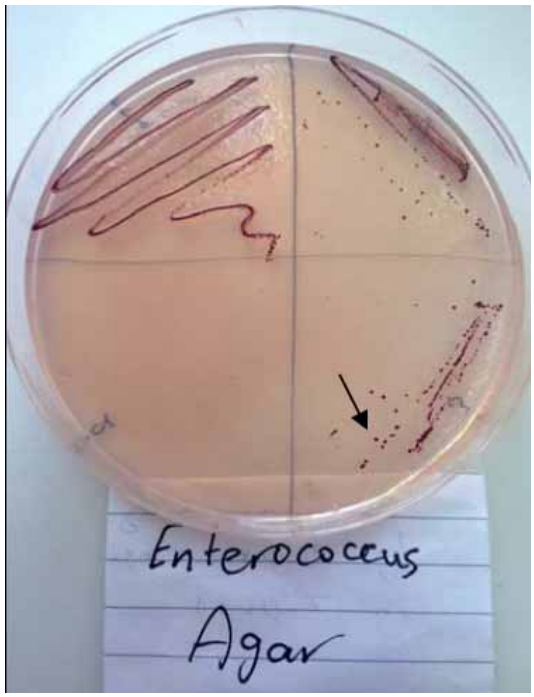
أظهرت المقاطع النسجية لكبد السمان المحقون بالمعلق الجرثومي بالتركيز$1X10^9$ CFU وجود التورم الخلوي الشديد واحتقان الوريد المركزي و الجيبانيات عند اليوم الثالث من الخمج فضلا عن موت خلوي مبرمج (Apoptosis) (الشكل ٨)، وعند اليوم ٧ و ١٤ تكررت الافات المذكورة سلفا صاحبها تغير دهني شديد وتموضع الخثرة الحديثة Recent thrombus بالوريد المركزي وارتشاح الخلايا الالتهابية حول الوريد المركزي فضلا عن نخر الخلايا الكبدية (الشكل ٩) وكانت هذه التغيرات اكثر وضوحا عند المجموعتين التي حقنت بالتركيزين $1X10^9$ CFU و $1X10^{10}$ CFU، أما عند يوم ٢١ بعد الخمج فكانت التغيرات أقل تمثلت بالتنكس الفجوي الطفيف وتورم الخلايا الكبدية مع تثخن جدران الأوعية الدموية وارتشاح الخلايا الالتهابية بالتركيز$1X10^9$ CFU (الشكل ١٠).

الكلية

أظهرت المقاطع النسجية لكلية السمان بعد ثلاثة أيام من الخمج التي حقنت بالتركيز $1X10^9$ CFU وجود تغيرات مرضية تمثلت بالتورم الخلوي للخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية القاصية والدانية مع احتقان الأوعية الدموية و موت خلوي مبرمج (الشكل ١١)، أما عند الأيام ٧ و ١٤ و ٢١ فكان التورم الخلوي أشد مع ارتشاح الخلايا الالتهابية المتمثلة بالمغايرات (Heterophiles) (الشكل ١٢).

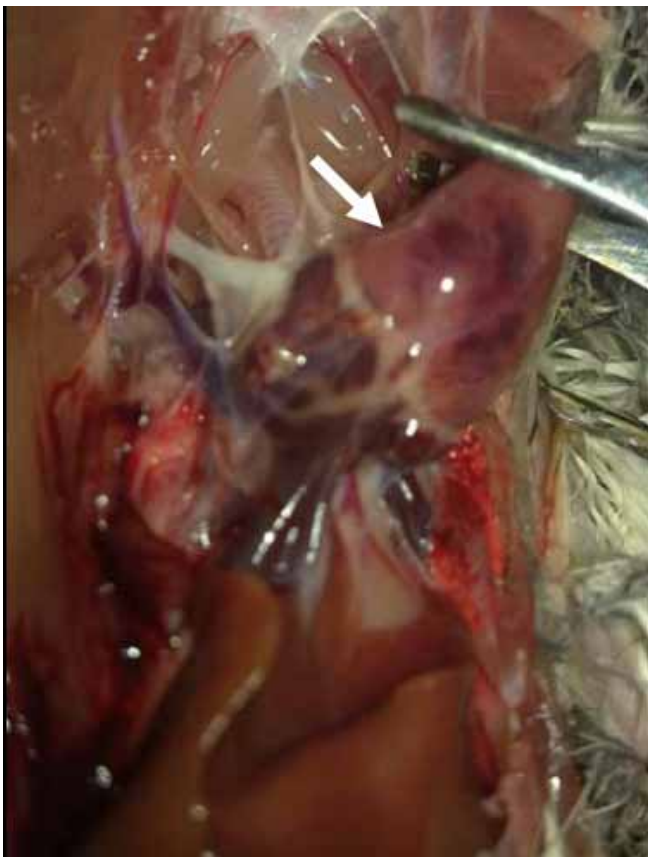


الشكل ١: الوسط الانتخابي (Edward agar).

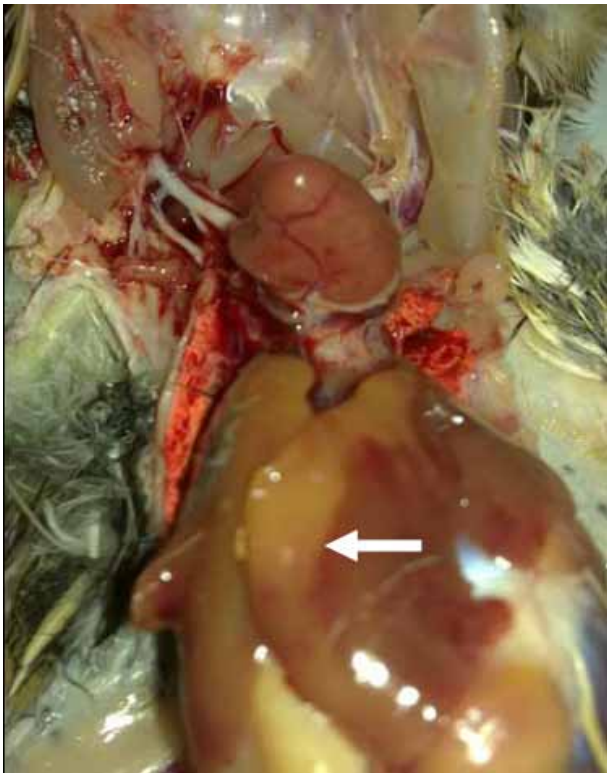


الشكل ٢: الوسط الانتخابي (Enterococcus agar) يظهر المستعمرات الجرثومية بلون ابيض يظهر المستعمرات الجرثومية حمراء – بنية اللون بحجم رأس الدبوس.

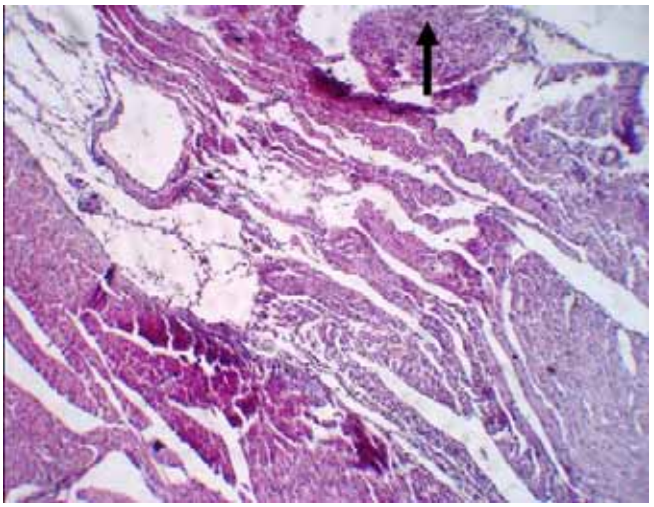
الشكل ٣: فحص شريط API 20 Strep للاختبارات الكيموحيوية بعد ٢٤ ساعة من اضافة البكتريا النقية الى الحجرات وتظهر التغيرات اللونية لمحتويات الحجرات وتكتب النتيجة الموجبة أو السالبة في ورقة النتيجة بالأسفل ويقارن العدد النهائي مع الفهرست الخاص بهذه الجراثيم اذ بينت النتيجة المكورات المعوية البرازية *E. faecalis* بنسبة ٩٩%.



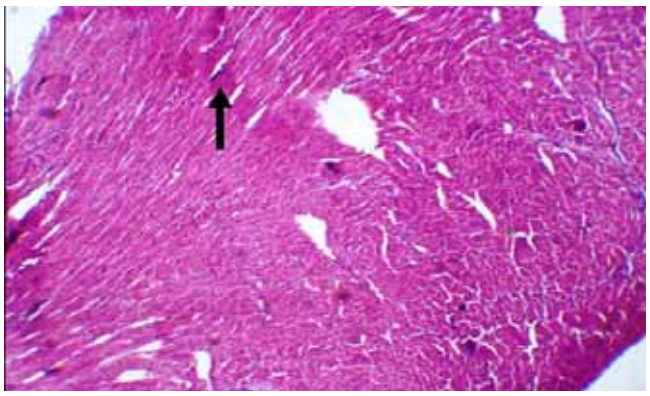
الشكل ٤: احتقان القلب (←) وعتامة غشاء التامور وتغير لونه الى كريمي معتم في طير سمان مخمج بالمكورات المعوية البرازية بتركيز $1X10^{10}$ CFU عند اليوم ١٤ من الخمج.



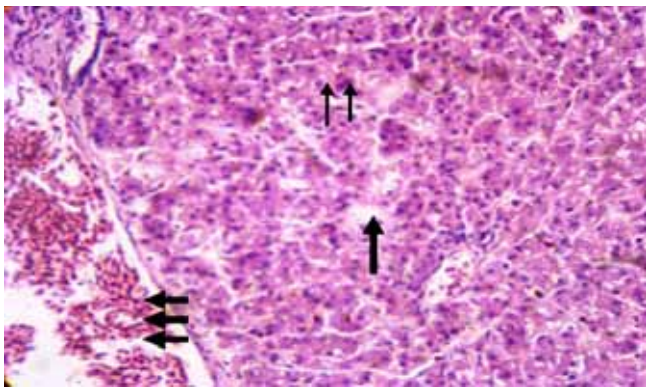
الشكل ٥: احتشاء Infarction الكبد (←)في طير سمان مخمج بالمكورات المعوية البرازية بتركيز $1X10^{10}$ CFU عند اليوم ١٤ من الخمج.



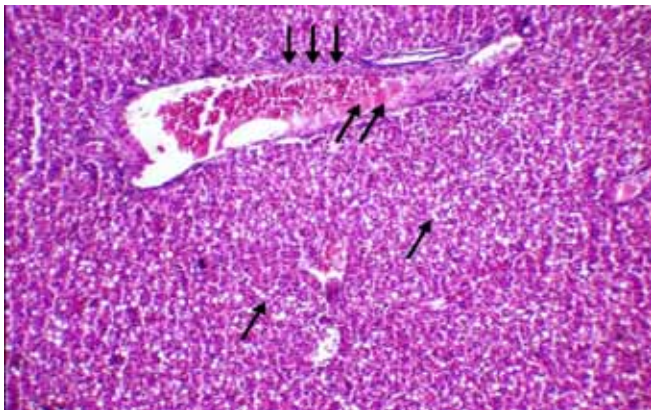
الشكل ٦: (القلب) احتقانات في الشعيرات الدموية بين الألياف العضلية القلبية وارتشاح الخلايا الالتهابية المتمثلة بالمغايرات ممزوجة بتجمعات من البكتريا ↑، لطير سمان مخمج بتركيز $1X10^{9}$ CFU بعد ١٤ يوم من الخمج 90X.



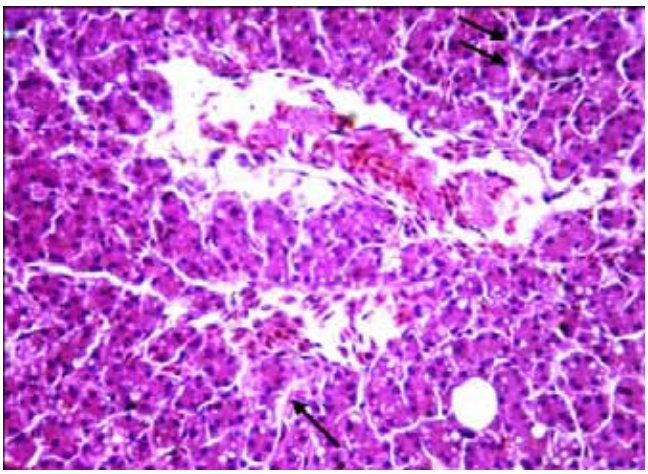
الشكل ٧: (القلب) تزجج الألياف العضلية القلبية ↑ لطير سمان مخمج بتركيز $1X10^{9}$ CFU بعد ٢١ يوم من الخمج 90X.



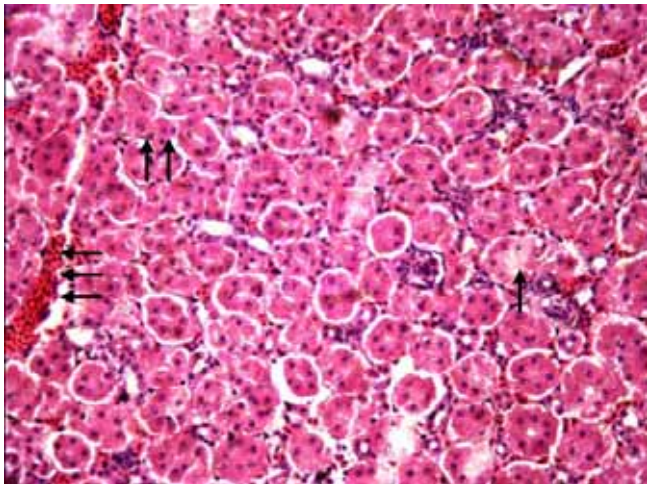
الشكل ٨: (الكبد) التورم الخلوي الشديد↑ والموت الخلوي المبرمج ↑↑ واحتقان الوريد المركزي والجيبانيات↑↑↑ لطير سمان مخمج بتركيز $1X10^{9}$ CFU عند اليوم الثالث من الخمج 90X.



الشكل ٩: (الكبد) التغير الدهني ونخر الخلايا الكبدية ↓ وتموضع الخثرة الحديثة بالوريد المركزي↓↓ وارتشاح الخلايا الالتهابية حول الوريد المركزي↓↓↓ لطير سمان مخمج بتركيز $1X10^{10}$ CFU عند اليوم14 من الخمج 56X.



الشكل ١٠: (الكبد) تنكس فجوي طفيف↓ وارتشاح الخلايا الالتهابية↓↓ لطير سمان مخمج بتركيز $1X10^9$ CFU عند اليوم 21 من الخمج 370X.

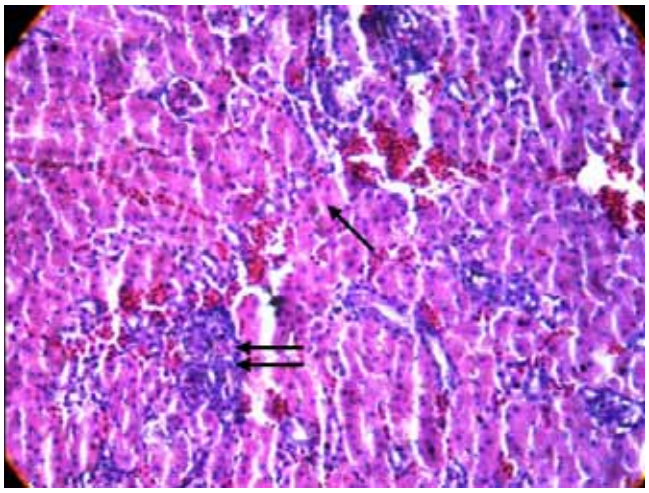


الشكل ١١: (الكلية) التورم الخلوي للخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية↓ مع الموت الخلوي المبرمج↓↓ واحتقان الأوعية الدموية↓↓↓ لطير سمان مخمج بتركيز $1X10^9$ CFU عند اليوم الثالث من الخمج 370X.

المناقشة

تعتبر طيور السمان في الوقت الحاضر من الحيوانات المختبرية الجيدة وذلك لصغر حجمها واستهلاكها القليل للعلف ونضوجها السريع ودورة حياتها القصيرة والكلفة القليلة للتربية وتكيفها مع الظروف المختلفة.

أظهرت نتائج العزل الجرثومي ان العزلة التي أخذت من الأمعاء الدقيقة و الأعور لطيور السمان هي عائدة لنوع المكورات المعوية البرازية *E.faecalis* بعد زرعها على الأوساط الزرعية التفريقية والانتخابية وصبغها بصبغة الكرام وإجراء فحص API 20 Strep حيث ان هذا النوع هو السائد من بين أنواع المكورات المعوية الأخرى وهذا يتفق مع ما ذكره الباحثين (17,16,15,8).



الشكل ١٢: (الكلية) التورم الخلوي الشديد↓ مع ارتشاح الخلايا الالتهابية المتمثلة بالمغايرات Heterophiles ↓↓ لطير سمان مخمج بتركيز $1X10^9$ CFU عند اليوم21 من الخمج 280X.

تم اختيار ثلاثة تراكيز من المعلق الجرثومي وهي $1X10^8$ CFU و $1X10^9$ CFU و $1X10^{10}$ CFU وذلك بالاعتماد على دراسات أخرى للخمج التجريبي بجراثيم المكورات المعوية البرازية حيث ذكرSchlievert وجماعته (18) أن الجرعة القاتلة LD_{50} لهذه الجراثيم في الفئران تبلغ 3.2×10^8 CFU – 2.2×10^8 CFU عن طريق الحقن بالتجويف الخلبي ويسبب هذا التركيز نفوق الفئران بعد ٢٤-٣٦ ساعة، الا انه في هذه الدراسة تم اختيار هذا التركيز من المعلق الجرثومي وتراكيز أعلى حقنت بالتجويف الخلبي في طيور السمان في تجارب أولية لكنها لم تسبب النفوق لذلك تم اعتمادها في الخمج التجريبي.

أشارت نتائج الخمج التجريبي ظهور علامات سريرية متمثلة بإسهال ممزوج بالدم وقلة نشاط ونفوش الريش والخمول والانزواء وهي مشابهة للعلامات التي تظهر في أفراخ الدجاج عند الإصابة بالمكورات المعوية (11) لكن بشكل أقل حدة، أما التغيرات المرضية العيانية والنسجية في طيور السمان عند الفترات ٣ و ٧ و ١٤ و ٢١ من الخمج التجريبي فإنها تؤكد حدوث الخمج بجراثيم المكورات المعوية البرازية بدءا من اليوم الثالث للخمج حيث بينت آفات القلب بداية ظهور التهاب شغاف القلب وهذا ما يميز هذه الجراثيم من كونها أحد المسببات الشائعة لالتهاب شغاف القلب في مختلف المضائف (19,8,3) حيث بين الباحثMegran (20) أن هذه الجراثيم هي المسبب الرئيسي

الثالث لالتهاب شغاف القلب في الانسان بعد جراثيم المكورات السبحية (Streptococci) والمكورات العنقودية (*S. aureus*).

ان وصول الجراثيم الى القلب والأعضاء الأخرى مثل الكبد والكلية قد يكون حصل بعد حصول تجرثم الدم (Bacteremia) عند حقن الجراثيم في التجويف الخلبي وتم التأكد من هذا عند أخذ مسحة معقمة من داخل القلب وإعادة العزل الجرثومي (Reisolation) حيث أظهرت النتيجة وجود جراثيم المكورات المعوية البرازية.

ان ظهور التغيرات المرضية قد يتم من خلال تحرير جرثومة المكورات المعوية البرازية للعديد من عوامل الضراوة وهي ترتبط بتكاثر الجراثيم في المضيف والتنافس مع الجراثيم الاخرى ومقاومة الالية الدفاعية للمضيف وحدوث التغيرات المرضية من خلال إنتاج السموم (Toxins) مباشرة او بصورة غير مباشرة من خلال الاستجابة الالتهابية للمضيف، ان عوامل الضراوة الأكثر تأثيرا هي مواد التجمع ومواد الالتصاق بالسطح والفيرمونات الجنسية (Sex Pheromones) وحامض اللايبوتيكويك (Lipoteichoic acids) و السوبر أوكساید خارج الخلايا وأنزيم الجيلاتينيز (Gelatinase) وأنزيم الهايلورونيديز (Hyaluronidase) وحال الدم (Cytolysin (hemolysin وعوامل الضراوة الأقل شدة مثل AS-48 والبكتريوسين (8) حيث تساعد هذه العوامل الجرثومة على التكاثر والالتصاق بجدار الوعاء الدموي ثم الاختراق الى الأنسجة.

ان ظهور آفات التهاب شغاف القلب وتنكس العضلات القلبية يتم من خلال تفاعل بين مواد الالتصاق الجرثومي وخلايا المضيف الهدف حيث ان الأرضية خارج الخلايا (Extracellular matrix ECM) في جميع أنسجة اللبائن تحتوي على كلايكوبروتينات (Glycoproteins) وهي تشمل الكولاجين (Collagen) واللامنين (Laminin) وفايبرونيكتين (Fibronectin) والبروتيوكلايكان (Proteoglycan) والتي تحطم من قبل هذه الجراثيم من خلال تكاثر المستعمرات الجرثومية وبدء الالتهاب (21)، لقد أشارت بعض الدراسات الى دور مواد التجمع Aggregation substances التي تفرزها هذه الجراثيم في حدوث التهاب شغاف القلب وقدرتها على الالتصاق بالكولاجين يظهر دورها الهام في امراضية التهاب شغاف القلب (22).

تميزت الآفات النسجية في الكبد بوجود التورم الخلوي واحتقان الوريد المركزي عن التركيز الأدنى من المعلق الجرثومي $1X10^8$ CFU عند اليوم الثالث للخمج وربما تحصل هذه الآفات بسبب إفراز السموم الأقل شدة والتي تسبب اضطراب في الغشاء الخلوي ومضخة الصوديوم والبوتاسيوم وبالتالي تؤدي للتورم الخلوي، أما عند التراكيز الأعلى للمعلق الجرثومي عند الأيام ٧ و ١٤ و ٢١ للخمج فكانت الآفات أشد وتميزت بوجود التغير الدهني الشديد في هيولي الخلايا الكبدية وتموضع الخثرة الحديثة بالوريد المركزي.

ان ظهور آفات التغير الدهني ربما قد يكون ناتج من الإجهاد التأكسدي الذي تحدثه جراثيم المكورات المعوية البرازية من خلال عوامل الضراوة وخاصة إنتاج السوبر أوكساید خارج الخلايا (Extracellular Superoxide) حيث انه جذر حر يعمل على أكسدة الدهون (Lipid peroxidation) في الغشاء الخلوي مما يؤدي الى تحطم الغشاء الخلوي والشبكة البلازمية مما يؤدي الى قلة تصنيع أبوبروتين (Apoprotein) التي تتحد مع الدهون لتكوين (Lipoprotein) والتي تفرز خارج الخلية الكبدية مما يؤدي الى عدم تحرير الدهون وبقاءها داخل هيولي الخلية وتظهر نسجيا كفجوات (23)، أما تكوين الخثرات الحديثة في الأوعية الدموية فقد يعود الى امتلاك الجراثيم لعوامل الضراوة مثل مواد التجمع وحامض اللايبوتيكويك والتي تسهل التصاق الجراثيم مع الصفيحات الدموية وكريات الدم الحمر على بطانة الوعاء الدموي فضلا عن الأذى الذي تحدثه في خلايا البطانة مما يسهل من تكون الخثرات الدموية وترسب الليفين بفعل افراز البروثرومبين الذي يعمل على تحويل الفايبرونوجين (Fibronogin) الى الليفين(Fibrin) مساعد بذلك على تكوين المستوطنات التخثرية الجرثومية (Bacterial thrombus) (24).

ان ظهور الآفات النخرية الالتهابية في القلب والكبد والاوعية الدموية والكلية قد يكون ناتج من انتقال الجراثيم عبر الدم ووصولها الى هذه الاعضاء وبما انها تمتلك العديد من عوامل الضراوة التي تساعد في حدوث النخر وتحفز الخلايا البيضاء على تحرير الوسيطات الكيميائية المعروفة له دور في الاستجابة الالتهابية والتي تشمل عامل النخر الورمي (TNF-a) والانترلوكينات (Interleukins)مثل IL-1β و IL-6 و IL-8 (26,25) وتحرير البروستاكلاندين PGE2 بواسطة البلعماتMacrophage في الفئران (27)، كما أشار بعض الباحثين الى قابلية خلايا البلعمات في الفئران لتحرير الأنزيمات الحالة وانتاج السوبر أوكساید في الانسان والتي تؤدي الى أذى النسيج او تعمل على جذب الخلايا البيضاء (28).

ان حدوث الموت الخلوي المبرمج في الكلية والكبد والذي ظهر بشكل واضح في الكلية قد حدث بسبب الفعالية السمية للجراثيم وعوامل الضراوة وخاصة حامض اللايبوتيكويك حيث وجد انه يحفز الموت الخلوي المبرمج في مختلف أنواع الخلايا (30,29)، واتصفت الآفات النسجية الأخرى فيها بوجود التورم الخلوي الحاد للخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية وهذا ما تؤكده الدراسات (31-34) عن كون هذه الجرثومة تسبب التهاب المجاري البولية ومنها الكلية من خلال الإجهاد التاكسدي خاصة في الانسان والذي يؤثر على مضخة الصوديوم في متقدرات الخلايا الظهارية وبالتالي تأثيره على أيض البروتين من خلال التأثير على انتاج الطاقة، وتشير الدراسات الى ان المكورات المعوية لها خاصية الالتصاق بالخلايا الظهارية للجهاز البولي بفعل مواد التجمع والالتصاق السطحي والتي تتكون من مواد بروتينية و كاربوهيدراتية خاصة بالالتصاق بالخلايا الظهارية (35).

تستنتج هذه الدراسة بأن عزلة المكورات المعوية البرازية لها القابلية على إحداث الآفات المرضية خلال الفترات ٣ و ٧ و ١٤

و٢١ يوم بعد الخمج وعند كافة التراكيز المستخدمة فضلا عن ان لطيور السمان القابلية على مقاومة الخمج مما يشير الى امتلاكها جهاز دفاعي ومناعي مقاوم (تحتاج دراسات تفصيلية أخرى) بالرغم من ظهور التغيرات المرضية عند الخمج التجريبي بتراكيز عالية من المعلق الجرثومي والتي تسبب الموت في بعض الحيوانات حيث كانت التغيرات المرضية أشد في الأيام الأولى بعد الخمج وعند اليوم ٢١ من الخمج كانت الآفات أقل حدة فضلا عن ان جرثومة المكورات المعوية البرازية تحفز الموت الخلوي المبرمج كآلية للنمو والتكاثر.

المصادر

1. Sutherland WJ, Newton I , Green RE. Handbook of Techniques Bird Ecology and Conservation. Oxford University press, 2004.
2. Diveriese L, Van de kerchove A, and Scheifer H. Characterization and identification of Enterococcus spp. Isolated from animals. Int J System Bacteriol. 1987;37:251-259.
3. Al-Kennany ER, Shamoon GN, and Beyon OS. Pathological study of experimental infection of. *Enterococcus Fecalis* in broiler chicken. Iraqi J Vet Sci. 2005; 19:(2):105-113.
4. Jett BD, Huycke MM, Gilmore MS. Virulence of enterococci. Clin Microbiol Rev. 1994; 7:462-478.
5. Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP. Nosocomial infections in combined medical-surgical intensive care units in the United States. Infect Control Hosp Epidemiol. 2000; 21:510-515.
6. Wisplinghoff H, Seifert H, Tallent SM, Bischoff T, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in pediatric patients in United States hospitals: epidemiology, clinical features and susceptibilities. Pediatr Infect Dis J. 2003; 22:686-691.
7. Hunt CP. The emergence of enterococci as a cause of nosocomial infection. Br J Biomed Sci. 1998; 55:149-156.
8. Kayaoglo G , Orstavik D. Virulence factors of *Enterococcus faecalis* : Relationship to endodontic disease. Crit Rev Oral Biol Med. 2004;15(5):308-320.
9. Huycke M. M. and Moore D. R. In vivo production of hydroxyl radical by Enterococcus faecalis colonizing the intestinal tract using aromatic hydroxylation. Free Radic Biol Med. 2002;33:818–826.
10. Kirkpantur A, Altinbas A, Arici M, Baydar DE, Altun B, and Arslan S. Enterococcal endocarditis associated with crescentic glomerulonephritis. Clin Exp Nephrol. 2007;11:321–325.
11. Kahn C , Line S. The Merck Veterinary Manual. 10th Edition ; Merck Sharp & Dohme Corp., asubsidiary of Merck & Co., Inc. Whitehouse Station, NJ USA. 2011; 978-0-911910-93-3.
12. Quinn, P.J, Markey, B.K., Carter, M.E., donnelly, W.J. and leonard, F.C. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. Oxford : Blackwell Science. 2002; pp:49-52.
13. Miles AA, Misra SS, Irwin JO. The estimation of the bactericidal power of the blood. The Journal of hygiene. 1938 ;38(6):732–49.
14. Luna LG. Manual of histological staining methods of the armed forces institute of pathology. 3rd ed. New York : Mac Graw Hill Book company. 1968; 38-76.
15. Hamad MA, Al-Aalim AM, Al-Dabbagh SYA, Ali HH. Detection of organ bacterial load in quails. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, 2012; 26, Supplement II :47-51
16. Tendolkar PM, Baghdayan AS, Shankar N. Putative surface proteins encoded within a novel transferable locus confer a high-biofilm phenotype to *Enterococcus faecalis*. J Bacteriol. 2006 ;188(6):2063-72.
17. Balish E, Warner T. *Enterococcus faecalis* Induces Inflammatory Bowel disease in Interleukin-10 Knockout Mice. Am J Pathol. 2002; 160(6): 2253–2257.
18. Gentry-Weeks C, Estay M, Loui C, Baker D. Intravenous Mouse Infection Model for Studying the Pathology of Enterococcus faecalis Infections. Infect Immun. 2003; 1434–1441.
19. Schlievert PM, Chuang-Smith ON,. Peterson ML, Cook LC, and Dunny GM. Enterococcus faecalis Endocarditis Severity in Rabbits Is Reduced by IgG Fabs Interfering with Aggregation Substance. PLoS ONE. 2010; 5 (10), e13194.
20. Megran DW. Enterococcal endocarditis. Clin Infect Dis J. 1992; 15:63-71.
21. Westerlund B, Korhonen TK. Bacterial proteins binding to the mammalian extracellular matrix. Mol Microbiol. 1993; 9:687-694.
22. Hienz SA, Schennings T, Heimdahl A, Flock JI. Collagen binding of Staphylococcus aureus is a virulence factor in experimental endocarditis. J Infect Dis. 1996; 174:83-88.
23. McGavin MD, Zachary JF. Pathologic basis of veterinary disease. 4th ed. Mosby Elsevier. 2007; 301.
24. Elsner HA, Sobottka I, Mack D, Claussen M, Laufs R, Wirth R. Virulence factors *of Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* blood culture isolates. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2000;19 (1):39-42.
25. Saetre T, Kahler H, Foster SJ, Lyberg T. Aminoethyl-isothiourea inhibits leukocyte production of reactive oxygen species and proinflammatory cytokines induced by streptococcal cell wall components in human whole blood. Shock. 2001; 15:455-460.
26. Bhakdi S, Klonisch T, Nuber P, Fischer W. Stimulation of monokine reduction by lipoteichoic acids. Infect Immun. 1991; 59:4614-4620.
27. Card GL, Jasuja RR, Gustafson GL. Activation of arachidonic acid metabolism in mouse macrophages by bacterial amphiphiles. J Leukoc Biol. 56:723-728.
28. Harrop PJ, O'Grady RL, Knox KW, Wicken AJ. Stimulation of lysosomal enzyme release from macrophages by lipoteichoic acid. J Periodontal Res. 1994; 15:492-501.
29. Satchell PG, Gutmann JL, Witherspoon DE. Apoptosis: an introduction for the endodontist. Int Endod J. 2003; 36:237-245.
30. Wang PL, Shirasu S, Daito M, Ohura K. Streptococcus mutans lipoteichoic acid induced apoptosis in cultured dental pulp cells from human deciduous teeth. Biochem Biophys Res Commun. 2001; 281:957-961.
31. Kreft, B., R. Marre, U. Schramm, and R. Wirth. Aggregation substance of *Enterococcus faecalis* mediates adhesion to cultured renal tubular cells. Infect Immun. 1992; 60:25–30.
32. Guzman, C. A., C. Pruzzo, G. LiPira, and L. Calegari. Role of adherence in pathogenesis of *Enterococcus faecalis* urinary tract infection and endocarditis. Infect. Immun. 1989; 57:1834–1838.
33. Hirose, T., Y. Kumamoto, N. Tanaka, M. Yoshioka, and T. Tsukamoto. Study on pathogenesis of *Enterococcus faecalis* in urinary tract. Urol Res. 1989; 17:125–129.
34. Hooton, T. M. Pathogenesis of urinary tract infections: an update. J Antimicrob. Chemother. 2000; 46(Suppl. A):1–7.
35. Shankar N, Lockatell CV, Baghdayan AS, Drachenberg C, Gilmore MS, and Johnson DE. Role of *Enterococcus faecalis* Surface Protein Esp in the Pathogenesis of Ascending Urinary Tract Infection. Infect Immun. 2001; 69: 4366–4372.