مجلة الزراعة العراقية مجلد١٠ عدد٢ ص١٥٨-١٦٥ أيلول/٢٠٠٥

التغيرات النسيجية المرضية لاجنة اغنام مجهضة لاصابتها بجرثومة البروسيلا

سحر احمد البياتي* طالب عبدالامير مكاوي**
نجلاء كاظم محمد علي* ايمان عبدالرضا علاوي*

الملخص

تمت دراسة التاثير المرضي لجرثومة البروسيلا على انسجة اجنة الاغنام المجهضة وذلك باستخدام ١٥جنيناً مجهضاً لعزل جراثيم البروسيلا وبعد العزل استخدمت بعض اعضاء الاجنة لتحضير الشرائح للدراسة المرضية.

بلغ عدد الاجنة التي عزلت منها جراثيم البروسيلا ١٢ جنيناً مجهضاً وبعد اجراء اختبارات التصنيف ظهر ان البروسيلا المجهضة هي المسبب الرئيس للاجهاض حيث بلغت نسبة انتشارها(٧٥%) بينما بلغت نسبة انتشار البروسيلا المالطية (٢٥%).

اظهر الفحص النسيجي لشرائح انسجة اعضاء الاجنة المصابة بجراثيم البروسيلا تاثر الاعضاء الرئيسية وكالاتي .

الدماغ : انتشار الانزفة المتعددة ضمن متن الدماغ ووجود مناطق اختفاء النخاعين فضلا عن ارتشاح الخلايا الدبقية والعدلات.

الرئـــة :مصابة بافات ذات الرئة الخلالية المتمثلة باحتقان الاوعية الدموية السنخية مع ارتشاحها بخلايا التهابية مؤدية الى تثخن جدران الاسناخ الرئوية.

الكبـــد :توسع حاد في الجيبانيات وامتلائها بالدم مع احتقان الاوردة المركزية وارتشاح الخلايا الالتهابية خاصة العدلات فضلا عن وجود بؤر لتجمعات لمفية ضمن المتن الكبدي وفي بعض الحالات لوحظ حصول تغيرات تنكسية واسعة في نسيج الكبد.

الكليـــة : مصابة بالتهاب الكلية الخلالي المتمثل بارتشاح النسيج الكلوي بين النبيبات الكلوية والكبيبات بالخلايا وحيدة النواة خاصة اللمفية مع احتقان الاوعية الدموية وتغييرات تنكسية في الظهارة المبطنة للنبيبات الكلوية.

الطحال : ظهور نفاذ لمفي في اللب الابيض مع ارتشاح خلايا التهابية ضمن اللب الاحمر.

الخصية : ملاحظة ارتشاح هائل للخلايا الالتهابية المتمثلة بالخلايا اللمفية والعدلات مؤدية الى تثخن الكبسول التي تحيط الخصية مع وجود تنكس وتنخر في بعض النيبات المنوية.

القلـــب : لم يظهر الفحص النسيجي لعضلة القلب تغيرات مرضية مهمة .

المقدمة

تستخدم الاجنة المجهضة عادة لغرض تشخيص الاصابة بداء البروسيلات بالعزل الجرثومي من سائل معده واحشاء الجنين المجهض، وتوجد ضرورة لدراسة التغيرات المرضية في اعضاء الجنين والتي تؤدي الى موته قبيل الولادة او بعدها بقليل. حاول العديد من المهتمين بداء البروسيلات معرفة التغيرات النسيجية المرضية التي تحصل لاناس مصابين بالمرض وعن طريق اخذ خزعات من اكبادهم (٨) وقد ظهر فيها بوادر تكون افة حبيبية غير واضحة المعالم

* الشركة العامة للبيطرة – وزارة الزراعة – بغداد، العراق.
** كلية الطب البيطري – جامعة بغداد– بغداد العراق.
تاريخ تسلم البحث:آذار /٢٠٠٣
تاريخ قبول البحث:شباط /٢٠٠٥

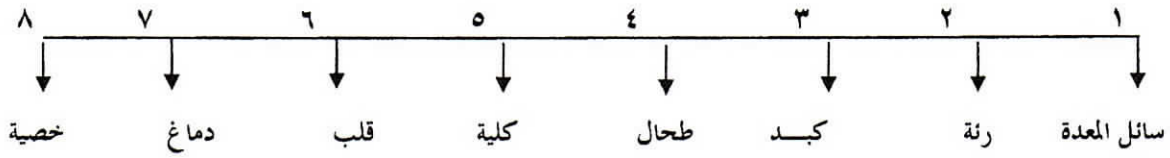
(Granulomatous lesions) متمثلة بوجود الخلايا وحيدة النواة في داخل الجيبانيات الكبدية وبتطور الحالة تصبح بشكل (Histiocytic Granuloma) قبل ان تكون ورم حبيبي بالغ. (Mature Granuloma) بينما أشار باحثون آخرون (٩) ان العمليات الالتهابية منتشرة في نسيج الكبد بشكل مشابه لما يحصل في التهاب الكبد مع وجود خلايا وحيدة النواة متعبثرة في نسيج الكبد تتجمع لتكون ورم حبيبي غير واضح المعالم وفي حالات متطورة يكون أكثر وضوحاً.

ان تلك الدراسات كانت لاصابات اعتيادية في البشر اما بالنسبة للحيوانات فلا توجد دراسات مرضية نسيجية لاصابات اعتيادية لكن توجد بعض الدراسات لاصابات تجريبية على حيوانات التجارب مثل دراسة استخدمت فيها الفئران وجد خلالها تاثر معظم الاعضاء الرئيسية (الكبد،الرئة،الدماغ،الطحال،العقد اللمفاوية) بسلسلة من التغيرات المرضية فيما لم تتاثر بعض الاعضاء مثل القلب، المعدة والامعاء (٣). وفي دراسة صممت من اجل معرفة التغيرات النسيجية المرضية التي تحصل لخنازير غينا بعد احداث اصابة تجريبية فيها وجد خلالها ان التغيرات المرضية كانت بهيئة استجابة التهابية حبيبية وفي انسجة معظم الاعضاء وهي تمثل (براي الباحث) مؤشرا واضحا لفعالية الاستجابة اللمفية الخلوية في الانسجة (٢) .

لكن ماذا يحدث طبيعياً في الاجنة الذي يؤدي الى موتها حتى وان تمكنت من ان تولد بشكل طبيعي؟ سؤال حاولنا الاجابة عنه من خلال هذه الدراسة والتي تهدف إلى التعرف على التغيرات النسيجية المرضية لاعضاء الجنين المجهض من جراء اصابته بجرثومة البروسيلا .

المواد وطرائق البحث

تم استخدام ١٥ جنيناً اغناماً مجهضة، اخذت من كل جنين ٨ عينات وضعت اجزاء من تلك العينات ومن رقم ٢ الى رقم ٨ في محلول فورمالين الدارئ المتعادل بتركيز ١٠% لحين ظهور نتيجة الزرع الجرثومي، حيث تم اهمال عينات الاجنة التي لم يتم عزل جراثيم البروسيلا منها .



زرعت اجزاء من رئات وسائل معدة تلك الاجنة على وسط اكار البروسيلا وحضنت هوائيا وبوجود ٥-١٠% CO_2 وبدرجة ٣٧°م وحسب الطريقة الموصوفة من قبل الباحث (٥). تمت متابعة النمو على تلك الاوساط والمستعمرات المشكوك بها التي تمت بعد ٧٢ ساعة وتحمل المواصفات المظهرية الخاصة بمستعمرات البروسيلا، خضعت للفحوص الكيمياحيوية للتاكد من كونها مستعمرات بروسيلا التي هي (الاوكسيديز، الكاتاليز، النمو على وسط المكونكي ، تحلل الدم ، انتاج الاندول ، تحلل اليوريا).

بعد التأكد من كونها مستعمرات بروسيلا اخضعت لاختبارات التصنيف، المذكورة في الجدول، علماً ان اختبار التصنيف العائي تم اجراؤه في معهد المصول واللقاح وحسب الطريقة الموصوفة من قبل الباحث (٥).

استخدمت أعضاء الاجنة التي تم عزل جراثيم البروسيلا منها للتقطيع النسيجي وتحضير الشرائح للدراسة المرضية بعد ان تم تمريرها بتراكيز الكحول المختلفة من ٧٠-١٠٠% والزايلول وبعد ان صبت في شمع البرافين بهيئة

قوالب وقطعت بجهاز التقطيع النسيجي Microtome بسمك ٦ مايكرون وصبغت بصبغ الهيماتوكسلين والايوزين والمايرهيماتوكسلين والايوزين (٨) .

النتائج والمناقشة

نتائج العزل الجرثومي للاجنة المجهضة:

تم عزل جراثيم البروسيلا من (١٢) جنيناً مجهضاً من الاجنة التي شملتها الدراسة وقد تم التأكد من كونها من جنس البروسيلا بعد ان اظهرت نتائج الاختبارات تطابق في الصفات المظهرية والكيمياحيوية مع صفات جراثيم البروسيلا ام تحديد النوع والنمط الحيوي للعزلات فقد تم بالاعتماد على نتائج اختبارات التصنيف المبينة في الجدول (١).

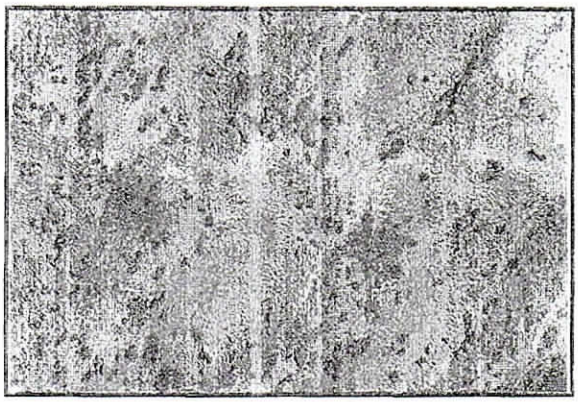
جدول ١: نتائج اختبارات التصنيف على عزلات البروسيلا والنوع والنمط الحيوي للعزلات

رقم العزل	التاج H_2S	احتياج CO_2	النمو على اوساط حاوية على الصبغات المثبطة للنمو البكتيري		التلازن مع المصل احادية الخاصية		التحلل العائي	نوع ونمط العزلات
			الثايونين ٥٠,٠٠٠	الفوكسين القاعدي ٥٠,٠٠٠	A	M		
١	−	−	+	+	+	+	−	B.melitensis – 3 -
٢	+	−	−	+	−	+	+	B. abortus – 4 -
٣	−	−	+	+	−	+	−	B.melitensis – 1 -
٤	−	−	+	+	+	+	−	B.melitensis – 3 -
٥	−	−	+	+	+	−	+	B.abortus – 6 -
٦	−	−	+	+	−	+	+	B.abortus – 5 -
٧	−	+	+	+	+	−	+	B.abortus – 8 -
٨	−	−	+	+	−	+	+	B.abortus – 5 -
٩	−	+	+	+	−	+	+	B.abortus – 8 -
١٠	−	−	+	+	−	+	+	B.abortus – 5-
١١	−	−	+	+	+	−	+	B.abortus – 6 -
١٢	+	+	−	+	+	−	+	B.abortus – 1 -

يظهر من الجدول ان البروسيلا المجهضة هي المسبب الرئيس للاجهاض في الاغنام حيث بلغ عدد العزلات ٩ من مجموع ١٢ أي بنسبة ٧٥% بينما بلغت نسبة انتشار جراثيم البروسيلا المالطية ٢٥%. وان نسبة عزل جراثيم البروسيلا عموماً من الأجنة المجهضة بلغت ٨٠% وهذا يدل على ان جرثومة البروسيلا هي المسبب الرئيس للاجهاض في الاغنام، وفي الابقار الوضع لا يختلف كثيراً ففي دراسة أجريت لمعرفة الأسباب الجرثومية لاجهاض ١٤٤ بقرة وجد ان أعلى نسبة للاجهاض كانت بسبب جرثومة البروسيلا (١). الملاحظ أيضاً ان نسبة انتشار البروسيلا المجهضة أعلى من نسبة انتشار المالطية على الرغم من كون الاغنام هو المضيف الأساس للبروسيلا المالطية وليس المجهضة (٦) وهذا ان دل على شيء فانما يدل على ان مصدر إصابة الاغنام بالمرض هي الابقار (المضيف الأساس للمجهضة). وفي دراسة عن المرض في الابل وجد أيضاً ان البروسيلا المجهضة هي المسبب الرئيس للمرض فيها (٤) على الرغم من طبيعة رعي الابل البعيدة عن الابقار والقريبة من الاغنام، وهذا يدل على طبيعة انتقال المرض من الابقار إلى الاغنام فالابل، أما مصدر إصابة الابقار فقد يكون بسبب استيراد ابقار من مصادر اجنبية من غير التأكد من خلوها من المرض وهي سياسة كانت متبعة في السابق من أجل تحسين الاداء الانتاجي الوراثي وهو استنتاج توصل إليه في السابق الباحث(١٠) المهتم بدراسة وبائية المرض في الشرق الأوسط.

الدراسة النسيجية المرضية:

اظهر الفحص النسيجي للأجنة المجهضة المشمولة بالدراسة سلسلة تغيرات نسيجية مرضية شملت الأعضاء الرئيسة (الدماغ، الكبد، الرئتين، الطحال، الكلية، الخصية) وهذه التغيرات كانت واسعة تشمل كامل نسيج العضو وفي بعض الحالات كانت بالغة الضرر، فالتغيرات التي احدثتها الجرثومة على نسيج الدماغ مثال لما تقدم حيث يمكن ملاحظة وجود أنزفة متعددة ضمن متن الدماغ ووجود مناطق اختفاء النخاعين بسبب التنخر الذي احدثته البكتريا مع وجود ارتشاح العدلات والخلايا الدبقية التي كونت مجموعات صغيرة (focal gliosis) (شكل ١).

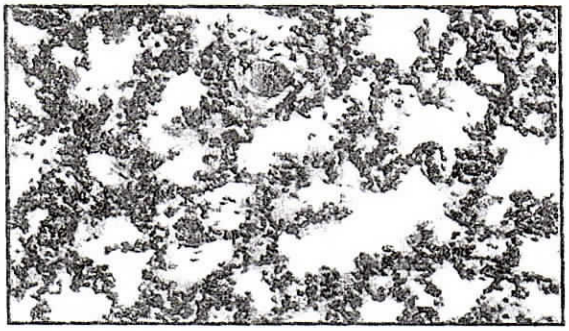


شكل ١: مقطع لدماغ جنين اغنام يظهر الانزفة المنتشرة في نسيج الدماغ (MH&E) 40 X

لا يقل الضرر الحاصل في نسيج الكبد عن الدماغ فنجد الاحتقان الوريدي وتوسع الجيبانيات الكبدية نتيجة امتلائها بالدم وفي بعض الحالات حصلت تغيرات تنكسية واسعة بحيث لا يمكن تمييز الجيبانيات، كما وجد ارتشاح الخلايا الالتهابية في نسيج الكبد وخاصة العدلات والخلايا وحيدة النوى وخلايا كفر كما وجدنا تجمعات لتلك الخلايا مكونة بؤر لآفات مستقبلية لتكون على شكل ورم حبيبي Granuloma (شكل ٢) كالتي وصفت في بعض حالات المرض في الانسان من قبل عدد من الباحثين (٨، ٩).

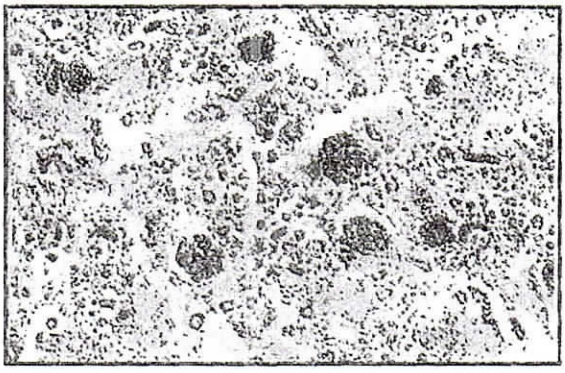
شكل ٢: مقطع لكبد جنين يظهر احتقان الاوعية الدموية وانتشار الانزفة مع ارتشاح العدلات وزيادة اعداد خلايا كفر ووجود بؤر للخلايا اللمفية (MH&E) 20 X

وجدت الرئتان وفي كل الحالات المفحوصة مصابة بآفات ذات الرئة الخلالية المتمثلة باحتقان الأوعية الدموية السنخية مع ارتشاحها بالخلايا الالتهابية مؤدية إلى تثخن جدران الاسناخ الرئوية ان هذا النوع من الآفات مرتبط بالنوع تحت الحاد وهو أهم من النوعين الحاد أو المزمن إذ انه يؤدي إلى تضييق الفجوات التنفسية (شكل ٣).



شكل ٣: رئة جنين اغنام مجهض لاصابته بداء البروسيلات (H&E) 20X

ظهر كذلك ان الكلى حصل فيها احتقان شديد في الأوعية الدموية وانتشار الانزفة ضمن المتن الكلوي مع تنكس الظهاره المبطنة للنبيبات الكلوية وارتشاح النسيج الكلوي بين النبيبات الكلوية والكبيبات بالخلايا الالتهابية وخاصة اللمفاوية وبعض البلاعم الكبيرة، وقد شخصت الحالة على انها التهاب نسيج الكلية الخلالي (شكل ٤).



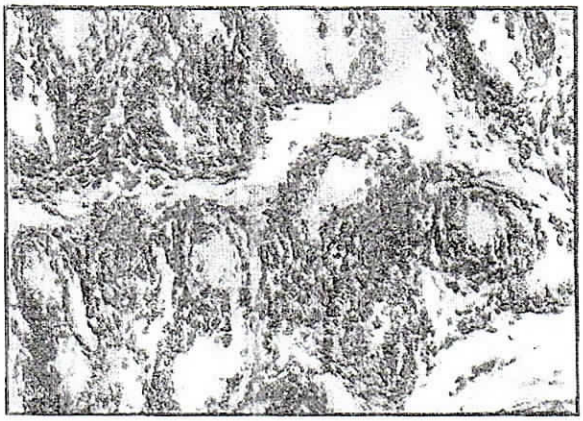
شكل ٤: كلية جنين اغنام مجهض لاصابته بداء البروسيلات (MH&E) X 20

لم يسلم الطحال من الاضرار حيث لوحظ في جميع العينات المفحوصة ارتشاح الخلايا الالتهابية، يتمثل في نفاذ لمفي في اللب الابيض مع ارتشاح خلايا التهابية ضمن اللب الأحمر (شكل ٥).

شكل ٥: طحال جنين اغنام مجهض لاصابته بداء البروسيلات (H & E) 20X

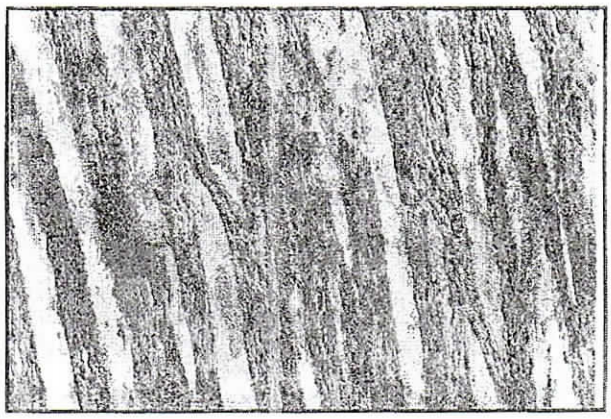
كما ان الخصية ورغم انها في الاطوار الأولى لتكوينها فقد أصابها ما أصاب بقية الأعضاء من تغيرات مرضية مؤثرة، حيث وجدنا ان هناك ارتشاح هائل للخلايا الالتهابية ضمن وصول نسيج الخصية مؤدياً إلى تثخن جدار الكبسول التي تحيط الخصية، مع وجود تغيرات تنكسية وتنخرية في بعض النبيبات المنوية (شكل ٦ و ٧).

لم تظهر عضلة القلب تغيرات مرضية (شكل ٨) وقد يعود السبب إلى عدم تفضيل الجرثومة للتموضع في العضلات.



شكل ٦: ارتشاح الخلايا الالتهابية ضمن نسيج الخصية لجنين مصاب بداء البروسيلات (MH&E) 40 X

شكل ٧: تثخن جدار الكبسول لخصية جنين مصاب بداء البروسيلات (MH&E) 40 X



شكل ٨: العضلات القلبية لجنين اغنام مجهض لاصابته بداء البروسيلات (H&E) 20 X

ان الجنين الكامل المفروض ان يكون مهيأ لاستقبال الحياة الجديدة بتحدياتها بالقدرة على التنفس ، الهضم ، الابراز وغيرها من الفعاليات الحيوية الطبيعية ، لكن في حالة الاصابة فان الجنين من قبل ان يولد وهو يعاني من التهاب الدماغ والكبد والكليتين وذات الرئة مما يعطي انطباع بانه يولد ليموت وهو ما حاصل فعليا .

ان معرفة التغيرات النسيجية التي تحصل من جراء الاصابة بجراثيم البروسيلا تساعدنا في فهم مدى الضرر الناشئ عنها وجدوى ووقت العلاج ، حيث ان اجهاض حيوان واحد يعد خسارة اقتصادية كبيرة فكيف اذا كان هذا الاجهاض معدي واكثر من هذا وذاك فانه يشكل خطر صحي باحتمال انتقاله الى البشر.

المصادر

1- الشمري ، محمد فرحان (١٩٩٠). دراسة حول المسببات البكتيرية للاجهاض في الابقار . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد، العراق .

2- الصوفي، ليث عبدالمجيد (٢٠٠١). التغيرات المرضية المصاحبة لحمج البروسيلا المجهضة في خنازير غينيا الممنعة بلقاح REV-1 المنتج محليا . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد، العراق.

3- العويني ، بشائر عبداللطيف (٢٠٠٠). دراسة التصاق جرثومة البروسيلا المجهضة على الانسجة الطلائية في الحيوانات المختبرية . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد، العراق.

4- علي ، سحر احمد (١٩٩٨). دراسة جرثومية ومصلية عن داء البروسيلات في الابل في العراق رسالة ماجستير مقدمة الى كلية الطب البيطري – جامعة بغداد، العراق.

5- **Alton , G.; L. Jones; R . Angus and J. Verger (1988). Techniques for the Brucellosis Laboratory Isted . INRA . Paris.**

6- **Blood, D.; O. Radostits and J. Henderson (1985). Veterinary Medicine. A Text Book of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses , 6th Ed . Bailliere Tindall London , Toranto .**

7- **John, D. and S. Alan (1975). Histopathological Stains and Their Diagnostic Uses . Churchill Livingstone London and New York .**

8- **Luzi. P.; G. Lungarella; L. Leoncini; C. Miracco (1988). Histopathology of the hepatic lesions in brucellosis based on biopsy findings .Qual – Selavo – Diagn., 16(1) : 30 – 93 .**

9- **Michelle, V.; A. Robert (2001). Brucellosis. J. Medicine. Oct., 2(10). (Internet).**

10- **Nicoletti, P. (1982). Diagnosis and Vaccination for the Control of Brucellosis in the Near East . FAO , Ani . Prod . and Hlth Paper . Series No . 38 , Rome .**

Iraqi J. Agric. Vol.10 No.2 pp.158-165 Sep./2005

HISTOPATHOLOGICAL CHANGES IN ABORTED FETUSES INFECTED WITH BRUCELLA ORGANISM

S. A. Al-Bayatti* T. A. Makkawi**
N. K. Mohammad Ali* E. A. Alawi*

ABSTRACT

To study the pathological effect of Brucella organism on the organ's tissues of aborted sheep fetuses, 15 aborted fetuses were used. Brucella organism were isolated and the fetuses which were positive, their organs were used for pathological study. Then Brucella was isolated from 12 aborted fetuses, examination showed that Br. abortus was the main cause of abortion (percentage 75%), while Br. melitensis was 25% .

The histological exam to the organ's of the aborted fetuses which infected with brucellosis showed that the main organs effected was as follow:-

The Brain\ The lesions that was noticed are , diffuse haemorrnhges , focal gliosis and neutrophils infiltration within the parenchyma which was in some spots disappeared.

The Lungs\ Interstitial pneumonia represented by alveolar blood vessels congestion with inflammatory cells infiltration leading to alveolar wall thickness.

The Liver\ Enlargment of the hepatic sinusoids which are filled with blood, the congestion of the central veins with inflammatory cells infiltration especially the neutrophils, also the focuses of small lymphocytic aggregates, and in some cases there was a broad degenerative changes in the hepatic tissue .

The Kidneys\ Interstitial nephritis represented by the monocytes infiltration especially lymphocytes within the interstitial tissue between the glomerulis an the renal tubuls with congestion of the blood vessels and necrotic changes in the renal tubuls.

The Spleen\ Lymphoid hyperplasia of white pulp and inflammatory cells infiltration within the red pulp .

The Testis\ Huge inflammatory cells infiltration especially lymphocyts and neutrophils leading to capsule thicknesses and there is some necrotic and degenerative changes in the seminal tubuls .

The Heart\ The histological exam of heart muscles showed no significant pathological changes.

General Co. of Veterinary Services - Ministry of Agric. – Baghdad, Iraq
College of Vet. Medicine – Univ. Baghdad – Baghdad, Iraq.