

دراسة تشخيصية وتجريبية لجراثيم الوتدييات 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 الوتدييات الكلوية من إدرار الأبقار والتي شخصت سريريا على أنها مصابة بالتهاب المجاري البولية، إذ شكلت الوتدييات الكلوية أعلى نسبة عزل بلغت ٤٩.٩٩%، في حين شكلت الوتدييات القيقية ٢٤.٢٤% من مجموعة جراثيم الوتدييات ٧٤.٢٣%، كما تم عزل جراثيم المكورات العنقودية الرمية بنسبة ٢٥.٧٥%، ولكون جراثيم الوتدييات الكلوية الأكثر نسبة وأمراضا، تم دراسة امراضيتها من خلال حقنها في الفئران البيضاء السويسرية داخل الخلب، أظهرت النتائج الحالية قابلية جراثيم الوتدييات الكلوية النمط الأول على إحداث الأذى لنسيج الكلية بعد ٤٨ ساعة من الحقن متمثلة بوجود حاله التهاب الكلية الكبيبي الصمي وقليل من عصيات الوتدييات الكلوية يصاحبها ارتشاح خلايا التهابية متعددة الانويه مع وجود حاله الكلاء الكلوي، فضلا عن إحداثها الأذى في نسيج الكبد تمثل بوجود التنكس الفجوي والنخر التجلطي لخلايا الكبد واحتقان 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>

المقدمة

الوتدييات الكلوية ثلاثة انماط مصلية ويعد النمط المصلي الاول والثالث الأكثر إمراضية (٢)، تكون هذه الجراثيم بشكل مهذب وغير مهذب، وتعد الانواع المهذبه ذات أهميه كبيرة بسبب قابليتها على الالتصاق على ظهاره القناه البولية كما وأنها أكثر مقاومة للبلعمة (٣). وتمتلك جراثيم الوتدييات الكلويه مقاومة

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

لقد تم فحص المستعمرات النامية على الأوساط الانتخائية Hoyle's Media و Mannitol salt agar ثم صنفت العزلات باستخدام الاختبارات الكيموحيوية (١٠)، واستخدم اختبار تخمر السكريات لتنميط جراثيم الودتيات الكلوية (١١).

استخدم ١٥ فار ابيض سويسري وبعمر ٢ شهر ووزن ٣٠غم التي تم الحصول عليها من بيت الحيوانات التابع لكلية الطب البيطري، قسمت الحيوانات على خمس مجاميع وبواقع ثلاث فئران لكل مجموعة، حقنت اربع مجاميع بمقدار ٠.١ مل من العالق الجرثومي لجراثيم type I C. renale المعزولة من ادرار الأبقار المصابة والحاوي على تركيز 3×10^8 وحدة تكوين المستعمرة / مل في البريتون، اما المجموعة الخامسة فحقنت بمقدار ٠.١ مل من الوسط المزرعي السائل المعقم بنفس منطقة الحقن، أجريت الصفة التشريحية بعد ٢٤ - ٤٨ - ٧٢ ساعة من الحقن لدراسة التغييرات المرضية للفئران المحقونة للكليتين والكبد والطحال (١ و ٢ و ٣ و ٤ و ٥ و ٦ و ٧ و ٨ و ٩ و ١٠ و ١١ و ١٢ و ١٣).

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

النتائج

بينت النتائج ان أعلى نسبة عزل كانت لجراثيم الودتيات ٧٤.٢٣% تلتها جراثيم المكورات العنقودية الرمية بنسبة ٢٥.٧٥% وكانت الودتيات الكلوية الاعلى في النسبة ٤٩.٩٩%، تلتها الودتيات القبحية ٢٤.٢٤% من مجموعة جراثيم الودتيات جدول رقم (١). الجدول رقم (٢) يوضح نتائج الاختبارات الكيموحيوية للجراثيم المعزولة من ادرار الأبقار المصابة. الجدول رقم (٣) يوضح نتائج تنميط الودتيات الكلوية وذلك حسب قدرتها على تخمير انواع معينة من السكريات.

بعد اجراء الصفة التشريحية للفئران المحقونة بالمعلق الجرثومي لجراثيم الودتيات الكلوية النمط الاول لوحظ شحوب في الكليتين في حين لم تظهر المقاطع النسجية تغييرات واضحة وذلك بعد ٢٤ ساعة من الحقن.

قليلة نسبيا للمواد الكيمياوية والفيزيوية وتعيش في التربة لفترة ٥٦ يوم ويمكن عزلها من الغبار ومن محيط الحيوانات المصابة (٤). فضلا عن قدرتها على إفراز خميرة اليورايوز وهذه الخميرة تعتبر عامل فوعة (٥)، كما ولها القابلية على تحرير ذيفان سام ولهذا تعد جراثيم سامة (٦،٧).

تصاب الأبقار بخمج الودتيات بعد سن البلوغ وتعد اكثر حساسية للإصابة من الثيران وهناك العديد من العوامل تساعد على حدوث الخمج في الأبقار 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 الإصابة، فضلا عن الاجهاد الحاصل بعد الولادة وقصر طول الاحليل في الأبقار مهينة لحدوث خمج القناة البولية. ويحدث الخمج من خلال الاتصال المباشر، وعند استعمال فرشاة تليقح ملوثة وفي حالة الاستعمال الخاطئ للقسطرة البولية، كما وتنتشر الإصابة زهريا (٤،٨).

وتتمثل العلامات السريرية للتهاب المجاري البولية بالحمى وقلّة الشهية وقلّة انتاجية الحليب والخمول وكثرة التبول ويكون الادرار عكرا وفي بعض الحالات مخضبا بالدم، اما الافات العينية فتتمثل بتجمع القيح في حويص الكلية والحالب وتخن جدار المثانة فضلا عن النزف والتقرح (٦،١).

المواد وطرائق العمل

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

رسبت عينات الادرار في جهاز الطرد المركزي ولقح الراسب على وسط اكار الدم Blood agar و اكار الماكونكي MacConkey agar والاكار المغذي Nutrient agar وحضنت بدرجة حرارة ٣٧م لمدة ٢٤ ساعة ثم فحصت المستعمرات النامية على هذه الأوساط بعد تنميتها بالزرع المتكرر (٩).

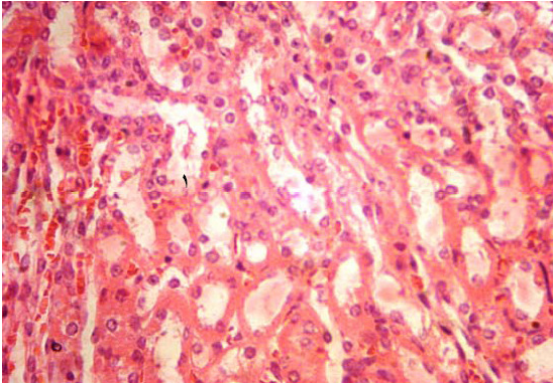
جدول رقم (١) اعداد ونسب الجراثيم المعزولة من ادرار الأبقار.

الرقم	انواع الجراثيم	العدد	العدد الكلي	النسبة %	النسبة الكلية %
١	C. renale	٣٣	٤٩	٤٩.٩٩	٧٤.٢٣
٢	C. pyogenis	١٦		٢٤.٢٤	
٣	Staph. saprophyticus		١٧		٢٥.٧٥
	المجموع		٦٦		

جدول رقم (٢): الاختبارات الكيموحيوية للجراثيم المعزولة.

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

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

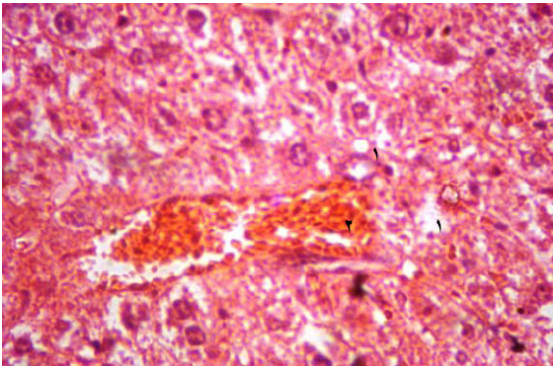


جدول رقم (٣) انماط الونديات الكلوية حسب تخميرها للسكريات.

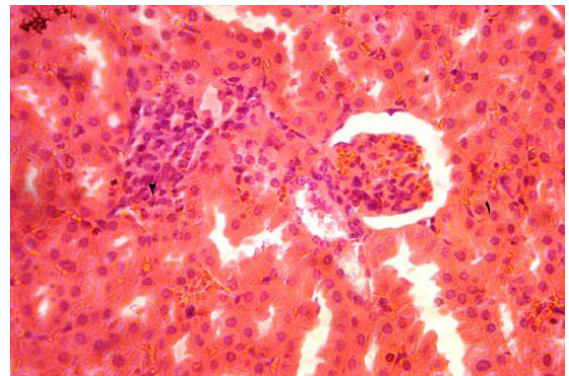
C. renale types	N	U	Acid form		
			glucose	Maltose	Sucrose
C. renale (I)	-	+	+	V	-
C. Polium (II)	+	+	+	-	-
C. cystiti dis (III)	-	+	+	-	-

صورة رقم (٢): مقطع نسجي في كلية فأر خمج بالونديات الكلوية (النمط الاول) بعد مرور ٤٨ ساعة من الحقن، يوضح توسع تجويف النبيبات الكلوية مع ظهور حالة الكلاء الكلوي^١. الهيماتوكسلين والايوسين $\times 450$.

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 للخلايا الالتهابية متعددة النوى في المتن الكلوي صورة (١)، فضلا عن توسع تجويف النبيبات الكلوية مع ظهور حالة الكلاء الكلوي صورة (٢)، اما الكبد فلو حظ التتسكس الفجوي والنخر التجلطي لخلايا الكبد وحول الوريد المركزي مع احتقان الوريد المركزي صورة (٣).



صورة رقم (٣): مقطع نسجي في كبد فأر خمج بالونديات الكلوية (النمط الاول) بعد مرور ٤٨ ساعة من الحقن، يوضح التتسكس الفجوي والنخر التجلطي لخلايا الكبد حول الوريد المركزي^١ مع احتقان الوريد المركزي^٢. الهيماتوكسلين والايوسين $\times 560$.



صورة رقم (١): مقطع نسجي في كلية فأر خمج بالونديات الكلوية (النمط الاول) بعد مرور ٤٨ ساعة من الحقن، يوضح وجود حالة التهاب الكلية الكبيبي الصمي يصاحبها احتقان الاوعية الدموية^١ مع ارتشاح كثيف للخلايا الالتهابية متعددة النوى في المتن الكلوي^٢. الهيماتوكسلين والايوسين $\times 450$.

اما بعد ٧٢ ساعة من الحقن، فشاهد تضخم كل من الكليتين والكبد مع شحوب شديد فيهما اما نسيجياً فقد لوحظ تكرار الافات

الى خسائر اقتصادية لا يستهان بها من خلال ما تسببه من خفض نوعي وكمي في انتاجية الحيوان (١٥) وذلك لانه يساهم في حفظ وتنظيم مكونات السائل الجسدي وازالة الفضلات السامة من الجسم، كما يساهم في افراز الهرمونات التي تشجع نخاع العظم على تكوين كريات الدم الحمر (١٦).

اوضحت نتائج هذه الدراسة ان نسبة عزل جراثيم الودتيات كانت عالية، شكلت الودتيات الكلوية اعلى النسب منها ثلثها الودتيات القححية وهذا مشابه لما توصل اليه Saiek وجماعته (١٧) Braun وجماعته (١٨)، كما اشار Yanagawa الى ان اكثر العزلات تكرر اها هي الودتيات الكلوية وعزى ذلك لكون القناة البولية هي النسيج الاول المستهدف لالتصاقها (١٩)، في حين اختلفت نسبة العزل في دراستنا عن ما حصل عليه زناد والجمالي الذي اجري دراسة مشابهة في الاغنام (٢٠)، وعزى ذلك الاختلاف لكون الابقار اكثر عرضة الى الاصابة بالتهابات المجاري البولية سواء كانت جزءا او اكثر من القناة البولية (٢١)، كما وتعد افراد جنس الودتيات هي المسبب الاول لالتهاب المجاري البولية في الحيوانات وبشكل خاص الابقار، وامتلاك هذه الجراثيم عوامل ضراوة متمثلة بالبروتين الهدي الذي يساهم في الالتصاق بسطوح القناة البولية وبذلك تقاوم جريان البول، فضلا عن امتلاكها انزيم اليوراز Urease (٢٢) كما وان العلاقة التشريحية العميقة بين الجهاز البولي والتناسلي تعطي دلالة على ان المرض الذي يصيب احدهما ممكن ان ينتشر بسهولة الى الجهاز الاخر (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 الودتيات الكلوية فترة طويلة في محيط بولي قاعدي (٣)، كما انها جراثيم انتهازية تمتلك بعض سلالاتها محفظة وتمتلك سلالات اخرى ذيفافات محللة للدم اذ انها تغزو الجلد ومنها تتطور الاصابة الموضعية الى اصابة جهازية عند وصولها الى مجرى الدم ومن ثم تنتقل الى القناة البولية وتصيبها (١٦).

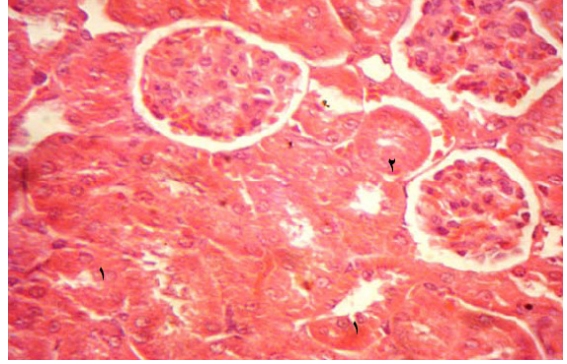
وكانت نتائج الاختبارات الشكلية والكيموحيوية التي اجريت على العزلات مطابقة لما ورد في انظمة التشخيص المعتمدة (٢١).

نظرا لكون الودتيات الكلوية النمط الاول C. renale type I الاكثر امراضية (١٣)، فقد تم اجراء دراسة مرضية نسيجية للتحرري عن الافات التي من الممكن ان يحدثها هذا النمط من الجراثيم في كل من الكلية والكبد والطحال من خلال الحقن في بريوتون الفئران السويسرية البيضاء اذ تعد هذه الطريقة اكثر كفاءة في حدوث خمج الودتيات الكلوية لقلّة ميكانيكية التنظيف الفيزياوي واليات الدفاع الموضعي الاخرى (٢٣).

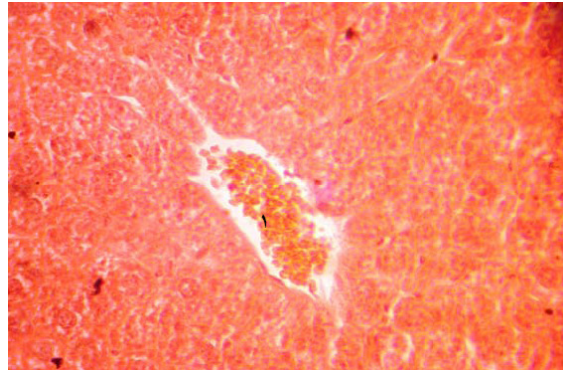
اظهرت الدراسة المرضية لنسيج الكلية قابلية جراثيم الودتيات الكلوية النمط الاول C. renale type I على احداث الاذى خلال الفترات ٤٨-٧٢-٩٦ ساعة من الحقن، اذ لوحظ

المذكورة انفا في الكليتين ولكن بدرجة اكثر شدة، مع تورم الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية والنخر التجلطي صورة (٤)، اما الكبد فلو حظ وجود احتقان الوريد المركزي مع الجيبانيات صورة (٥).

وعند ٩٦ ساعة من الحقن، فقد كان التضخم والشحوب شديدا في كل من الكليتين والكبد ونسجيا فقد تكررت الافات المذكورة انفا في كل من الكليتين والكبد ولكنها اكثر شدة.



صورة رقم (٤): مقطع نسيجي في كلية فأر خمج بالودتيات الكلوية (النمط الاول) بعد مرور ٧٢ ساعة من الحقن، يوضح تورم الخلايا الظهارية المبطنة للنبيبات الكلوية^١ مع نخر تجلطي في البعض الاخر^٢. الهيماتوكسلين والايوسين $560 \times$.



صورة رقم (٥): مقطع نسيجي في كبد فأر خمج بالودتيات الكلوية (النمط الاول) بعد مرور ٧٢ ساعة من الحقن، يوضح احتقان الوري المركزي مع الجيبانيات^١. الهيماتوكسلين والايوسين $500 \times$.

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 Mosoby. An imprint of Elsevier Ltd. 1999; pp:137-143.
٦. فرج، عيود حسن. دراسة بعض الجوانب المرضية لأمراض الكلية ومسبباتها في الأبقار -6 والعجول. (رسالة ماجستير). بغداد: جامعة بغداد، ١٩٨٠.
7. Prescott ML, Harley PG , Klein AD. Microbiology. 6th 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.
٩. السعدون، عبد الستار سالم. التحري عن الإخماج الجرثومية في الجهاز البولي للأبقار في مدينة الموصل. (رسالة ماجستير)، الموصل: جامعة الموصل، ٢٠٠٦.
10. Brooke GF , Butel JS , Morse SA. Medical microbiology. 23th ed. USA: Mc Graw Hill Co. 2004;pp: 212-217.
11. Mims C, Dockrell MH, Goering VR, Roitt I, Wakelin D, Zuckerman M. Medical microbiology. 3th 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. 3th ed. New York: Mc Grow Hill Back Co. 1968;pp: 38-76.
١٥. رحيمية، ماجد شيال، رشيد، بلسم يحيى، محمود، صفوان يوسف. دراسة المسببات ١٥- الجرثومية والإفات المرضية للجهاز البولي في الأبقار بعد الذبح. المجلة العراقية للعلوم البيطرية. ٢٠٠٧، ٢١ : ٢٩٥ - ٣٠٥ ص.
16. Coles EH. Veterinary pathology. 4th ed. Canada :W. B. Saunders Co. 1986;pp. 448-462.
17. Saiek AH, Sayed A, Rayhib MF. Studies pyelonephitis 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 pyelonephitis corynebacterium renale, Cory. pilosum and Cory. cystitis. Prog Vet Microb Immun. 2:158-174.
٢٠. زناد، محمد مشجل، الجمالي، مدركه محمود حسن: عزل وتشخيص الأنواع الجرثومية المسببة لالتهاب المجاري البولية في الأغنام المذبوحة في مدينة الموصل. المجلة العراقية للعلوم البيطرية. ٢٠٠٧، ٢١ : ٢٦٩ - ٢٨٠ ص.
21. Kunin N, Calvin M. Urinary tract infection detection, prevention and management. 5th ed. Baltimore: Williams and Wilkins. 1997;pp: 312-320.
22. Koneman EW, Allen SD, Dowell VR , Janda WM, Schreckenber PC , jrwcw. Colour atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5th 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. 9th ed. New York: W. B. Saunders Co. 2000;pp: 479-498.
24. McGavin MD, Zachary JJ. Pathologic basis of veterinary diseases. 4th ed. Mosby Elsevier. 2007; pp:664-667.
25. Samuelson DA. Textbook of veterinary histology USA: Saunders, An imprint of Elsevier; 2007.

وجود عصيات جراثيم الوندنيات 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 والذي قد يعود سببه الى اختراق جراثيم الوندنيات الكلوية للخلايا اذ تحرر بعض المواد السامة toxic substances فضلاً عن افراز انزيم اليوراز الذي يعمل على تحلل اليوريا الى امونيا (٢) والتي تسبب اذى المتقدرات وبالتالي تورمها وظهور الخلايا تعاني من التورم الخلوي الحاد، كما لوحظ ارتشاح للخلايا الالتهابية متعددة النوى والذي يعزى الى قدرة الجراثيم على افراز وتحرير بعض الوسائط الكيمائية التي تساعد على حدوث استجابة التهابية (٢٢).

ان ظهور التتسكس 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 تغييرات نسيجية في الطحال وهذا مطابق لما جاء في (١٣) وذلك ربما يعود لامتلاكه للجهاز الشبكي الوعائي الذي يعمل كخط اولي يمنع دخول الجراثيم للخلايا (٢٥،٢٤).

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

شكر وامتنان

يتقدم الباحث بالشكر والتقدير الى عمادة كلية الطب البيطري وفرع الاحياء المجهرية وفرع الامراض لمساهمتهن 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. 10th 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. 10th ed. Saunders Elsevier An imprint of Elsevier Ltd; 2007. 559-562.
٤. حداد، جاسب جاسم، علم الاحياء المجهرية البيطرية، اساسيات علم الجراثيم. الموصل، 4- العراق :دار الحكمة للطباعة والنشر، ١٩٩١. ١٩٧ - ٢١٠ ص.