

دراسة بعض الجوانب المرضية للإصابة التجريبية بطفيلي Blastocystis hominis

في الفئران

أيمان هاشم يوسف الطائي

قسم الأمراض والدواجن - كلية الطب البيطري - جامعة بغداد

الخلاصة

تمت دراسة أمراضه طفيلي Blastocystis hominis في الفئران بعد عزل الطفيلي من أشخاص يعانون من الإسهال عدد (56) ، والمراجعين لمستشفين في بغداد وتتميته على وسط نقيع الكبد، تم أصابه الفئران البيض بعمر (4-6) أسبوع لطفيلي B hominis عن طريق التريج بعد ظهور العلامات السريرية على الفئران المتمثلة بالنحول والهزال والإسهال قتلت حيوانات التجربة ودرست التغيرات المرضية النسيجية في المعدة والأمعاء والكبد والفحص المجهرى اظهر انسلاخ وتوسف الطبقة المخاطية مع ارتشاح الخلايا الالتهابية في معظم طبقات المعدة والأمعاء وخاصة في أماكن تواجد الطفيلي و كذلك لوحظ الخبز في منطقة الطبقة تحت المخاطية وكانت التغيرات المرضية في الأمعاء الغليظة الأكثر شدة من باقي أجزاء الأمعاء ،شاهد الطفيلي في داخل خلايا الكبد وبأطوار مختلفة من النمو والتكاثر مسببا تنخر وتفجي خلايا الكبد مع احتقان الأوردة المركزية وارتشاح لخلايا الالتهابية وحيدة النواة.

Some Pathological Study of Experimental Infection of Blastocystis hominis in Mice

E.H.AL-Taee

Dep. Of. Pathology/Collage of Vet. Medicine/ Baghdad University

Abstract

Blastocystis hominis isolated from patients suffering from diarrhea patients (56) in number visited two hospital in Baghdad were cultured on liver infusion broth to infecting laboratory animals. Albino mice (4-6) wks in age were infected with *Blastocystis hominis* by inculcation and after the appearance of clinical signs (weakness, diarrhea) the mice were killed and pathological studies were done on organs like intestine, stomach and liver, the lesion showed desquamation of mucosa, severe infiltration of inflammatory cells specially around the parasite, this lesion was more severe in large intestine from the other organs.

The parasite was seen in liver cells and appeared with different stages of growth and replication causing vaculation and necrosis in the hepatocyte.

المقدمة

يعد طفيلي *Blastocystis hominis* من الأحياء المجهرية احادية الخلية التي أعيد تصنيفها ضمن الأولي (Protozoa) كنوع من الطفيليات المعوية التي تسبب حالات مرضية للإنسان⁽¹⁾ حيث له القدرة على إحداث الخمج في كل من الأشخاص الأصحاء وذوي الأعراض المرضية المختلفة على حد سواء فهو يعد طفيلي انتهازي يسبب حالات من الإسهال لكل من حديثي الولادة والأطفال والأشخاص الكبار في السن الذين يعانون من القصر المناعي⁽²⁾ أن تقييم الدور المرضي لهذا الطفيلي لم يلاقي الاهتمام لسنين طويلة من قبل العاملين في مجال الطفيليات واعتبروه نوعا من أنواع الخمائر فلا يزال جدال حول تصنيفه وحول بعض القدرات والإمكانيات التي يمتلكه أنواعه المتنوعة في إحداث الخمج^(3,4) لكن البحوث الحديثة والمتقدمة استطاعة أن تشير إليه و تبرز دوره في إحداث حالات الإسهال الكثيرة التي يظهر فيها دون أن يشاركه أي كائن مجهري ممرض آخر و إذا كان غالبا ما يظهر مع طفيليات أخرى تعد أكثر امراضيه منه و بذلك تحجب قدرته الإمراضيه⁽⁵⁾ وقد وجد أن الطفيلي *Blastocystis hominis* يسبب حاله تعرف بـ *Blastocystosis* وهو حدوث إسهال شديد حاوي على عدد كبير من الخلايا الطفيلي ويكون ما بين إسهال حاد أو مزمن واضطرابات معوية من الأم وتحول و فقدان شهيه و أحيانا ترافقها حمى وقد تتفاقم وتتطور الحالة عند الإهمال مؤديه ألي حدوث التهابات معوية *Gastroenteritis*⁽⁶⁾ والتي تستمر لمدته طويلة تتعدى الأشهر عند عدم معالجتها^(7,8,9)

أن موقع هذا الطفيلي ظل محط عديد من التناقضات والاختلافات من حيث النشوء المعيشة والتواجد والقدرات على إحداث المرض لكن كان للتفسير و الدراسة التي قام بها⁽¹⁰⁾ التعريف الأكثر قبولا لهذا الطفيلي الذي أعاد وضعه بين المملكة الحيوانية الابتدائية (Protozoa) معتمدا على تنوع أشكاله و نمط معيشته و تركيبية و خصائصه فطفيلي *B.hominis* كائن مجهري لا هوائي صفاته تبتعد كل البعد عن الخمائر والفطريات لما يمتلكه من خصائص فهو عديم الجدار الخلوي (cell wall) كما انه لا ينو على الأوساط الزرعيه الخاصة بالفطريات ويقاوم التراكيز العالية من المضادات الفطرية كالامفوتراسين (Amphotericin B) يتكاثر عن طريق الانقسام البسيط (Binary fission) الذي اعتقد خطأ في السابق انه حاله تبرعم شائع في الخمائر , لذا نجد أن الطفيلي يبعد كل البعد عن الخمائر والفطريات بشكل جذري⁽¹¹⁾ ولغرض تسليط الضوء على بعض أوجه امراضيه الطفيلي أجريت هذه الدراسة التجريبيه على الفئران.

المواد وطرائق العمل

1- عزل وزرع الطفيلي

بعد تشخيص الطفيلي في عينات عدد (250) لأشخاص يعانون من الإسهال والمراجعين لمستشفيات في بغداد (ابن البلدي و مستشفى صدام التعليمي) تم عزل الطفيلي من (56) حالة تحتوي على الطفيلي بصورة نقيه و بأكثر من خمس خلايا في الحقل المجهرى الواحد وبقوه تكبير (X40) في مستنبت (وسط نقيع الكبد) المحضر بحسب طريقه (13) Cleveland and Difco and Collier وحضنت بدرجه حرارة 37م (14) . تم الفحص المجهرى بملاحظة النمو و تزايد الأعداد بشكل ملحوظ في اليوم الثاني والثالث بعد الزرع (15) وذلك بأخذ قطرات من الوسط (بعد مزج مكوناته) بواسطة ماصة باستور معقمه ووضعت هذه القطرات على شريحة زجاجية وفحصت بالمجهر الضوئي تحت قوه التكبير X40 لمشاهده تكاثر خلايا الطفيلي (صوره رقم 1)

2-حيوانات التجربة

أجري الفحص على (16) فأر ابيض ذكر و بعمر يتراوح ما بين (4-6) أسبوع و بوزن (20-30) غم تم الحصول عليها من معهد المصول واللقاحات البيطرية جرى إيواها في كليه الطب البيطري/جامعه بغداد / ووضعت في أقفاص بلاستيكية منفصلة وخضعت الحيوانات للفحص الدوري للتأكد من عدم إصابتها بأي طفيلي قبل التجريع وقسمت إلى مجموعتين:

أ- المجموعة الأولى :وبلغ عددها (8) حيوانات أصيبت عن طريق التجريع بطفيلي

Blastocystis hominis.

ب- المجموعة الثانية : وبلغ عددها (8) حيوانات تركت كمجموعه مسيطرة تم تجريعها بالمحلول الفسلجي 85,0%.

وضعت الحيوانات تحت المراقبة لحين ظهور العلامات السريرييه و ذلك بعد (12) أسبوع أي (90) يوم حيث تم قتل الحيوانات و أخذت المقاطع النسيجية من المعدة والأمعاء والكبد وذلك بحفظها في 10% من الفورمالين المخفف ثم عمل المقاطع النسيجية حسب طريقة Luna and Lee (16) .

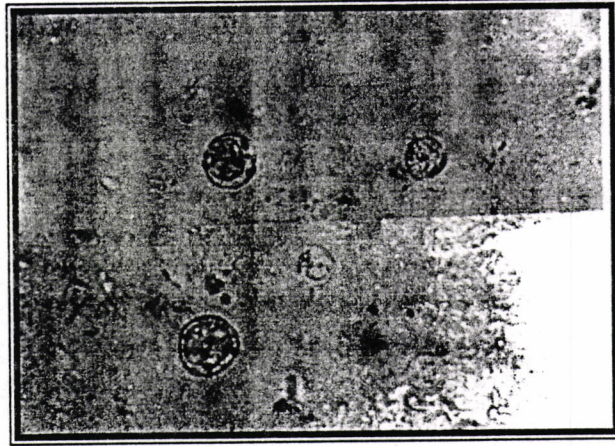
3-حساب جرعة الإصابة تم تجريع الحيوانات وذلك بإعطاء جرعة متساوية من الكمية والتركيز متمثلة بـ(1) ملتر من معلق طفيلي B hominis حاوي على 10×6 وتعطى هذه الجرعة مرة واحدة يوميا لمدة 8 أيام وذلك حسب ما جاء في (17)prowazek .

النتائج

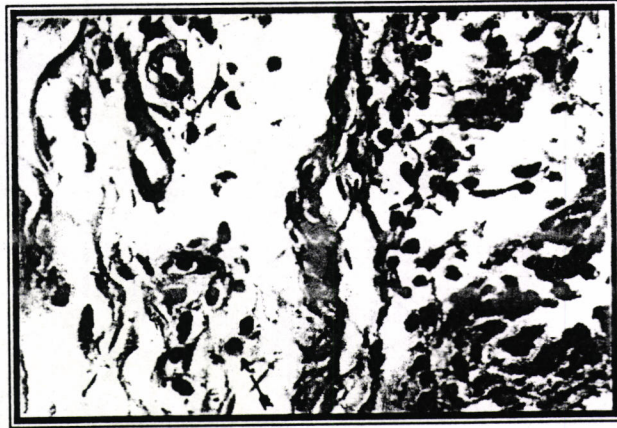
ظهرت العلامات السريرية على الفئران المصابة بعد (90) يوم من آخر جرعه وكانت النحول والهزال وإسهال المخاطي

شملت التغيرات المرضية العيانية والأمعاء والاحتقان في الأوعية الدموية على طول الجدار للمعدة والأمعاء ولوحظ شحوب متن الكبد مع وجود الاحتقان في بعض من المناطق شوهدت التغيرات المرضية المجهرية في المعدة وتمثلت في حصول انسلاخ في بعض من مناطق الطبقة المخاطية مع حصول فرط في التنسج في مناطق أخرى بالإضافة إلى زيادة في إفراز مادة الـ (Mucine) والتي كانت تغطي الطبقة المخاطية بكثافة واضحة وقد كانت أعداد الطفيلي بكثرة داخل تجويف و مخاطية المعدة ومحاطة بخلايا الالتهابية وحيدة النواة اللمفية والبلعمية كما لوحظ احتقان الأوعية الدموية في الطبقة المخاطية ولم يلاحظ تغيرات أخرى في باقي طبقات المعدة وكانت التغيرات المرضية للأمعاء الغليظة أكثر شدة مما في الأمعاء الدقيقة وقد تمثلت بحصول التسوف للطبقة المخاطية بالإضافة إلى فرق تنسج الزغابات الموجودة في الطبقة المخاطية ولوحظ وجود الطفيلي في الطبقتين (المخاطية وتحت المخاطية) محاطا بأعداد كبيرة من الخلايا اللمفية والبلعمية (صورة رقم 3,2) كما لوحظ الخبزب في الطبقة تحت المخاطية والاحتقان بالأوعية الدموية لجميع طبقات الأمعاء ولوحظ آفة الطفيلي للغدد المعوية وكانت أعداده كبيرة في الغدد المعوية.

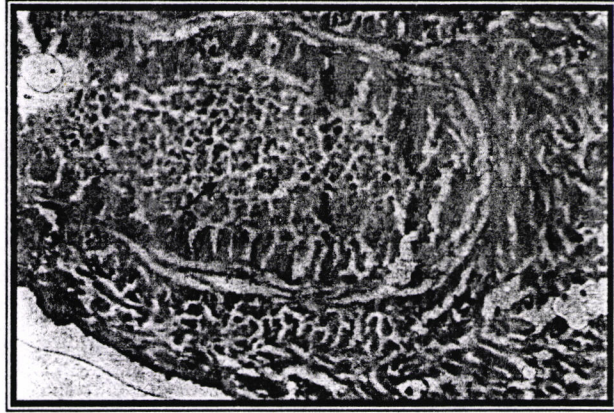
تأثرت الخلايا الكبدية تأثرا كبيرا بالصابة حيث لوحظ تفجي الخلايا الكبدية المتضخمة مع وجود مراحل تنكسيه متعددة للخلايا كذلك لوحظ التتخر في الخلايا الكبدية مع الأوردة المركزية كما شوهد الطفيلي في داخل الخلايا الكبدية المتتخرة في مراحل نمو انقسام ثنائي وارتشاح للخلايا الالتهابية وحيدة النواة (الخلايا اللمفية والبلعمية) خاصة داخل الوريد المركزي حول الطفيلي الذي لوحظ أيضا داخل الوريد المركزي (صورة رقم 4).



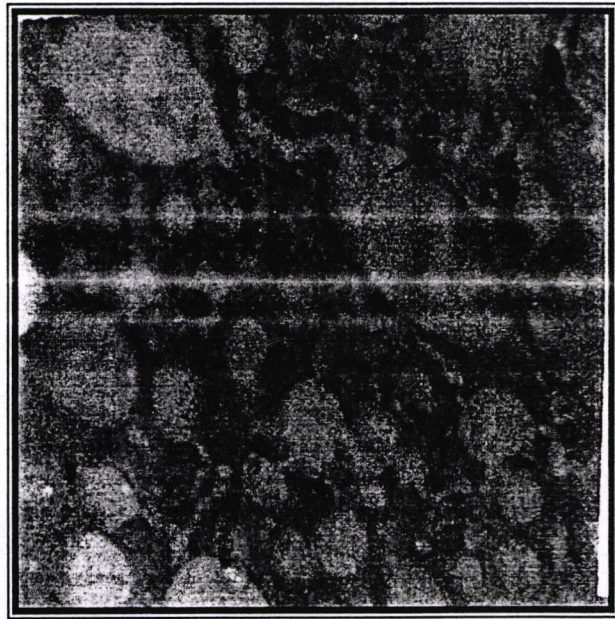
صورة رقم (1) الطفيلي Blastocystis hominis من الوسط الزرعي مصبوغ بصبغة اللوكل
أيودين (X40)



صورة رقم (2) مقطع نسيجي في الأمعاء الغليظة في فأر يلاحظ وجود طفيلي (سهم) في الطبقة
تحت المخاطية مع وجود الوذمة والاحتقان (H&E stain X400)



صورة رقم (3) الانسلاخ (التسوف) للطبقة المخاطية ولاستجابة الالتهابية مع وجود كثيف للنضحة الالتهابية داخل تجويف الأمعاء (سهم) لفأر مصاب بطفيلي (*B hominis* (H&E stain X40)



صورة رقم (4) ارتشاح الخلايا الالتهابية في تجويف الوريد المركزي مع تنخر واضح لخلايا الكبد ووجود الطفيلي داخل خلايا الكبد (سهم). (E&H stain X40).

المناقشة

يعد طفيلي Blastocystis hominis من الطفيليات الواسعة الانتشار في العالم حيث يبلغ نسبة انتشاره 18,3%⁽⁵⁾ في العراق نسبة الإصابة في الأطفال 10%⁽¹⁸⁾ ويعد انتقال كمية صغيرة من الغائط الحاوي على الطفيلي إلى الماء أو الطعام كفيلة بأحداث وباء في المضيف لمنطقة محددة⁽¹⁹⁾ لذا كانت إمكانية عزل الطفيليات من المصابين بسيطة جدا وذلك لانتشاره بصورة واسعة في قطرنا^(21,20) أما التشخيص الطفيلي فقد كان بالشكل الفجوي فهو السائد في التشخيص وهذا مطابق لما ذكره Suresh et al.⁽¹⁵⁾ والذين عدوا الشكل الفجوي الأكثر سيادة من حيث التواجد ضمن عينات الغائط والأوساط الزرعية. أما عملية الاستنبات داخل الوسط الزرعي (وسط نقيع الكبد) فقد كانت متفقة مع ما ذكره^(24,22) وذلك لان هذا الوسط غني بالعناصر والمركبات التي يحتاجها الطفيلي للنمو والتكاثر.

بينت نتائج الدراسة إن المدة التي استغرقها ظهور العلامات السريرية , في الفئران المصابة تجريبيا أهمها الإسهال وما رافقتها من مضاعفات بعد (90)يوما من آخر تجريب تقع ضمن المدة التي سجلها porowazek⁽¹⁷⁾ وهي (2-180)يوم , في حين إنها أطول من باقي الجرعات المستخدمة من قبل باحثين آخرين حيث كانت (10) أيام و(20.4) يوم (24,23) وربما سبب ذلك يعود إلى الجرعة المستخدمة في التجريب او كونهم اعتمدوا التجريب على معلق حاوي على الطور المتكيس فقط ولذلك فور ابتلاعه من قبل المضيف ووصوله إلى المعدة والأمعاء يتحلل بفعل الأحماض المعدية (Gastric acid) وأنزيمات الأمعاء (Intestinal enzyme) وتتبقى منه الخلايا البنوية (Daughter cell) محدثة الإصابة⁽²⁵⁾ وان سبب طول المدة قبل البانئة Prepatent period في الدراسة الحالية فربما يعود لامتلاك طفيلي Blastocystis hominis لعدد من السلالات المرضية قادرة على إحداث الإصابة الذي قد يكون ذو تأثير مباشر والبعض الآخر قد يتطلب مدة طويلة للتبني لإحداث المرض والآخر منها قد يكون مرضي وهذه الأسباب تتفق مع ما أشار إليه Suresh et al.⁽²³⁾ و Kain and Noble⁽²⁶⁾ وان قدرة الطفيلي الإمبراضية ترجع إلى إن لكل سلالة من سلالات الطفيلي B hominis بروتينات خاصة تختلف من نوع آخر في الواحد أو اكثر منها هذا الاختلاف يعكس قدرته الإمبراضية.

أظهرت نتائج الفحص النسيجي المرضي للمعدة والأمعاء حدوث انسلاخ في الطبقة المخاطية مع ارتشاح الخلايا الالتهابية خاصة حول أماكن تواجد الطفيلي , ولوحظ وجود الخبز في الطبقة تحت المخاطية مع احتقان الأوعية وكانت هذه التغيرات متفقه مع ملاحظة⁽¹⁷⁾ Prowazek

في التجربة التي أجراها على خنازير غينيا كذلك مع Moe et al .⁽²⁷⁾ في الفئران المختبرية وان شدة التغيرات المرضية في الأمعاء الغليظة بالذات كانت موافقه لنتائج Vennila et al⁽²⁴⁾ و Suresh et al⁽²³⁾ إن تواجد طفيلي Entamosda histolytica مع B hominis في الهامستر الذهبي حيث استطاعوا إن يثبتوا وجود الطفيلي داخل خلايا الكبد وهذا ما تم تسجيله في هذا البحث مما يؤكد غزو الطفيلي لهذا العضو و بالنسبة للتكاثر والانقسام إنما يعود إلى غني بالمواد الملائمة لنموه مما مكن الطفيلي من استغلالها والاستفادة منها في النمو والتكاثر .

المصادر

- 1- Baron, E.J and finegold ,S.M. (1990). Diagnostic microbiology. 8th ed Thec.v. Mosby. pp.777-816.
- 2- Garavelli.P.I and Libanore,M(1990). Blastocystis hominis in immunodifficiency disease .Reviews of infection disease,12(1):158.
- 3- Stenzl, D.J and Behrman, P, F.I. (1996). Blastocystis hominis Revisited. Clinical Microbiology Reviews, 9(4): 563-584.
- 4- Chen, X. Q.; Sigh, M. Ho, L. C; Tan, Singh, M. Ho, L. C;S. W and Yap, E. H (1997). A survey of Blastocystis ratti. Parasitology ,118:151-160.
- 5- Nelson, W. E;Behrman ,R.Kliegman ,R. M. and Arvin ,A.M. (1996). Text book of pediatrics. Vol. 2, 15th ed. W. B. Saunders Company .pp466-480.
- 6- Morgan, D; Whitworth, J; Eotu,H;Omodine, N. and Moor M. (1996). Gastrointestinal parasite infection. Lancet, 348 (9032) :965-966.
- 7- Sun,T;Kats, S ;Tanenbaum,BandSchenone,C.(1989). Questionable clinical significance of Blatocystis hominis infection.Am J.Gastroenterol.84(7): 154-157.
- 8- Tsang,T.K;Levin,B .S .andMorse,S .R.(1989) Terminal Ileitis associated with Blatocystis hominis infection. Am.J. Gastrointestinal .84(7): 789-799.
- 9- Giacometti ,A.; Cirioni, Fiofentini , A.Fortuna, M.and Scalise,G.(1999). Irritable Bowel Syndrome in patient with Blastocystis hominis Infection .Eur. J . Gun .Microbiol .Infec .Dis .,18 :436-439.
- 10-Zieredt ,C .H.;Rude ,W .5. and Bull ,B . S.(1967) .Protozoan .characterstics of Blastoc stis hominis.The Am .J. Clinic pathol,48(5):495-501.
- 11-Anonymous. H. (1991).Blastoc stis..hominis_ ;Commensal or pathogen?The Lancet,3 37:521-522.
- 12-Difco,(1953)Manual of Dehydrated culture media and peamt for Microbiology and Clinical laboratory procedures.9th ed .Difco labratories incorporated U .S.A .pp 96-98.
- 13-Cleveland, L . R. and Collier ,B.(1930) .Various improvements in the cultivation of Entamaeba histolytica .Am .J .Hyg.,12:606-6 13.

- 14-Faust ,E .C; Russell,P.F and Jung ,R. C.(1970).Clinical Parasitology. 8th ed Lea and Febiger ,Philadel Phia .pp.800-806.
- 15-Suresh K dnit,I;Reuel,P.A;Rajah ,S ;Lokman ,H;Anuuar ,A K.(1998).Glycerol with fetal calf serum-a better cryoprotectant Blastoc stis hominis.Parasitol .Res;84:32 1-322.
- 16-Luna,l-l. T .and Lee ,G (1968) Manual of histological staining methods of the armed forces .Institute of pathology.3th .ed .the Blakiston Division ,McGrew Hill Book Co .New York.
- 17-Prowazek ,S.(1904).Untersuhungen Uber Binige Parasiti sche Flagellaten .Arb .K.Gesundh.,21:1-41 (cited from Zierdt ,1973). Zierdt,C .H.(1973). Studies of Blastocystis hominis . J.Parasitol.20 (1):1 14-121.
- 18-Rahif R.H.and Al.Saadi M.A.Z.(2001) Prevalence and seasonal disturbution of intestinal parasites in children in Baghdad (Iraq) .Veterinarian., 11 (3):1-10.
- 19-Lebar ,W .D.;Larsen ,E.C.and Patal , K.(1985).A febril Diarrhea and . Blastocystis hominis.Annals of Internal Medicine ,103 (2) :306.
- 20 -المفرجي ،سمية ابراهيم (2000) الأوالي الطفيلية Blastocystis hominis في المرضى وذوي العوز المناعي . رسالة ماجستير ، كلية العلوم الجامعة المستنصرية .
- 21-Mahmud , S .A.(1 994)Prevelence of intestinal parasite among primary school children in AL -Shula city Bagdad Tech .Res. J,7(24):1 14-122.
- 22-Zierdt ,C.H.and Swan ,J.C.(1981)Generation time and growth rate of the human intestinal parasite Blastocystis hominis. J.Protozool.,28(4): 483-485.
- 23-Suresh,K..Chong ,S.Y.,Howe,J.,Ho,L.C.; Ng.G.C.;Yap,E.H.and Singh..M.(1995).Tublovesicular element in Blastocystis hominis from the cecum of experimentally infected rats. Int. Parasitol. ,25(1): 123-126.
- 24-Vennila,G. ;Kumer,G.S ;Anur,A.K ;Rajah,S. ;Saminathan,R ;Sivanandan,S. and Ramakrishnan,K.(1999). Irregular shedding of Blastocystis hominis. Parasitol .Res.,85:437-440.
- 25-Zaman ,V.;Zaki,M.;Howe,J. and Ng ,M. (1 999).Postcystis development of Blastoc Mis hominis. Parasitol .Res. ,85:437-440.
- 26-Kain ,K.and Noble,M.(1989).Blastocystis hominis infection in humans .Rev .Infect. Disi I(3):508-509.
- 27-Moe,K.T. ;Sing,M. ;How,J. ;Ho,L.C. ;Tan.,S.W. ;Chen.,X.Q. ;Ng,G.C.and ap,LH.(1997).Experimental Blastocystis hominis infection in laboratory mice.Parasitol.Res.,83:3 19-325.
- 28-Shard.,. ;Petrovici.M.;Panaitescu.D.;Stoiesu.V.(1977) Blastocystis hominis in the liver of Cricetus auratus. Arch Roum pathol Exp Microbiol 36:55-60.