دراسة عن امراضية جراثيم الباستوريلا ملتوسيدا المعزولة من الانسان والحيوانات الحقلية

سوسن سلمان عطية مبارك[1] اسماعيل كاظم شبر[1] عامر سليم رحيم العبيدي[2]

[1] منظمة الطاقة الذرية، [2] كلية الطب البيطري- جامعة بغداد.

تاريخ الاستلام 2001/8/18 تاريخ القبول 2002/5/2

الخلاصة

تضمنت هذه الدراسة وصفاً لطبيعة امراضية جراثيم *Pasteurella multocida* المعزولة من اصابات الانسان واجراء المقارنة بينها وبين الجراثيم المعزولة من اصابات الحيوانات الحقلية، اذ جرى التشخيص البكتريولوجي لجرثومة *P. multocida* بنسبة اجمالية نحو 29.4% من الحيوانات الحقلية ونحو 16.91% من الانسان من المجموع الكلي للعينات والتي بلغت 136 من الانسان وكذلك عدد مماثل من العينات للحيوانات الحقلية. وجد الوسط الزرعي للباستوريلا ملتوسيدا الحاوي على توليرات البوتاسيوم هو الافضل في العزل مقارنة مع بقية الاوساط الزرعية المستعملة في كونه ذا اختيارية عالية. ومن ثم جرى التنميط الحيوي للأنواع تحت الصنف خلال هذه الدراسة للعزلات الجرثومية البالغ عددها 40 عزلة حيوانية و23 عزلة بشرية، بعدها تم تحديد ضراوة العتر المعزولة من خلال حقنها في الفئران. وجد أن هنالك 30 عزلة، 9 من العزلات البشرية مع 21 عزلة حيوانية، كانت ضارية للفئران. أجريت الدراسة التجريبية لتحديد امراضية ثلاث عزلات مختارة، واحدة بشرية وأخرى حيوانية مع ثالثة قياسية، اذ تم حقن الفئران بثلاث طرق مختلفة. أشارت نتائج هذه التجارب الى أن جراثيم الباستوريلا ملتوسيدا المختارة قادرة على استحثاث المرض بضراوة عالية في الحيوان التجريبي. لهذا أظهر الفحص النسيجي للاعضاء بأن العزلة الحيوانية كانت الاكثر امراضية من العترتين الباقيتين.

STUDY ON PATHOGENICITY OF *PASTEURELLA MULTOCIDA* WHICH ISOLATED FROM FARM ANIMALS AND MAN

S. S. A. Mobarak[1] A. K. Shubber[1] A. S. Raheem[2]

[1] Atomic Power organization, [2] College of Vet. Medicine - Baghdad

Summary

This study was described for the nature of the pathpgenesis of bacteria *Pasteurella multocida* which was isolated from infected man made comparison between these bacteria and those from infected farm animals. The percentage of *Pasteurella multcida* diagnosed bacteria from

animals and human was 29.4% and 16.9% respectively. Comparing to other culture media *Pasteurella multocida* selective agar medium was characterized by its selectivity and sensitivity and then was attempt for biotyping species and subspecies of isolated *Pasteurella* from animals and human samples were successfully achieved. Pathogenicity test was performed on mice, only nine human isolatetes and twenty-one animal isolates from *Pasteurella multocida* were virulent. Todistinguish between the pathogenesis of human and animal isolates, one isolated from human and animal were chosed, in addition to the standared strain. The mice had been experimentally infected by three different ways, I/P, I/T, I/Eye. The results were showed that *Pasteurella multocida* can produce lesions as fibrinous suppurative pneumonia in lungs, liver and spleen which were detected histopatho logically. However the animal isolates were more virulent than human or standared strain.

المقدمة

تسبب جراثيم الباستوريلا ملتوسيدا مرض الباستوريلوسس pasteurellosis وهو مرض المهم يصيب الحيوانات ويؤدي الى حدوث خسائر اقتصادية كبيرة، فضلاً عن خطره على الصحة العامة اذ يعد من الامراض المشتركة بين الانسان والحيوان[7، 12، 16]، وتسبب في الابقار والجاموس مرض عفونة الدم النزفية المستوطن ومرض حمى الشحن في الابقار والاغنام ومرض ذات الرئة في الابقار والاغنام والماعز والخنازير [3، 4، 8] وتسبب أيضاً التهاب الضرع في الابقار والاغنام[11] وتسبب أيضاً التهاب الانف الضامر في الخنازير[13،15] كما تسبب مرض الكوليرا الدجاج الذي يسبب خسائر اقتصادية لا يستهان بها خصوصاً في الدجاج البياض[1،25]، وفي الانسان لوحظت اصابات بهذه الجراثيم لاسيما بين الفلاحين والعاملين في حقول تربية الحيوانات ومربي الحيوانات الأليفة عند تعرضهم لعضات الكلاب وخدش القطط اذ تدخل الجراثيم الموجودة في لعاب الحيوانات من خلال الجروح مسببة قراحات موضعية[10،26].

وقد تسبب الجرثومة التهاب الهللي cellulitis والتهاب الزائدة الدودية[27] والتهاب المفاصل[19] والتهاب نخاع العظام[6] وتسبب التهاب السحايا[16] وذات الرئة والتهاب لسان المزمار الحاد[23] وتقيح الدم[24].

يهدف هذا البحث الى دراسة أمراضية جراثيم الباستوريلا ملتوسيدا ومقارنتها مع تلك الجراثيم المعزولة من الانسان والحيوان عن طريق دراسة التغيرات المرضية العيانية والنسيجية وكذلك مقارنتها مع العترة القياسية المستعملة في البحث.

المواد وطرائق العمل

تم جمع العينات البشرية من مرضى راقدين في مستشفى الزهاوي (ابن البلدي) ومن معهد التدرن والامراض الصدرية ومن جهة أخرى جمعت العينات الحيوانية من محطات تربية وحالات فردية.

تم زرع العينات كلها في مرق نقيع القلب والدماغ الاختياري الجديد ومن ثم نقلت الى أطباق بتري من وسط اكار الدم الاختياري الجديد لجراثيم الباستوريلا ملتوسيدا مع وسط اكار الماكونكي وحضنت بدرجة 37م لمدة 24-48 ساعة ثم نقلت الى وسط اكار الدم واكار المغذي لغرض عزلها وتشخيص أشكال المستعمرات لديها وبعدها أجريت الفحوصات الكيموحيوية التفريقية وثم جرى تحديد الأنواع تحت الصنف.

تم اختيار ضراوة العتر المعزولة في الفئران بعد زرعها على وسط مرق مغذي وحضنها بدرجة 37م لمدة 24 ساعة ومن ثم حقنت في الفئران بمقدار 0.2 ملم في البريتون، وبعد هلاك الفئران أخذ دم القلب مباشرة بعد التشريح وعملت منه لطخة وصبغت بصبغة كرام وأخذ قسم آخر للزرع البكتريولوجي.

أخذت 36 فأرة بيضاء وقسمت الى ثلاث مجاميع، الاولى شملت على 9 فئران حقنت بالعترة البشرية بمقدار 0.2 مل من العالق بعد تحديد جرعة LD50 وقسمت المجموعة الى ثلاث مجاميع فرعية يحتوي كل منها على ثلاث فئران حقنت بثلاث طرق مختلفة I.P. ، Intra-eye ، I.T، أما المجموعة الثانية كانت خاصة بالعترة الحيوانية والمجموعة الثالثة بالعترة القياسية وهناك مجموعة سيطرة حقنت بالمحلول الفسلجي المتعادل، شملت هذه المجاميع العدد نفسه من الفئران المذكورة أعلاه وبالكمية المحددة نفسها لكن كل مجموعة لديها LD50 خاص بها وقسمت الحيوانات على أساس التقسيم السابق باختلاف طرائق الحقن.

سجلت نسبة الهلاكات في الفئران ولوحظت الآفات العيانية في الحيوانات النافقة ومن ثم أخذ دم القلب للفحص الجرثومي وجرى أخذ عينات من الرئتين والطحال والكبد والتي ظهر عليها آفات مرضية اذ وضعت في محلول النورمالين بتركيز 10% لأغراض التثبيت ومررت في جهاز Histokinete وبعدها غمرت بالشمع ثم قطعت الى شرائح بسمك 6 مايكرون ثم صبغت بصبغة الهيماتوكسين - ايوزين[14].

النتائج

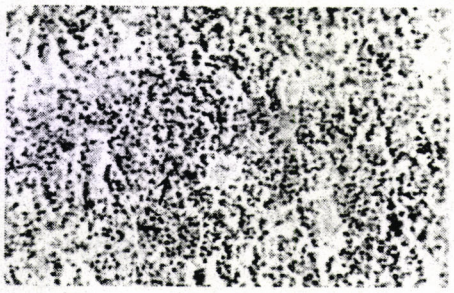
تم فحص 136 نموذجاً مرضياً في كل من الانسان والحيوانات الحقلية اذ كانت الجراثيم المعزولة هي من نوع الباستوريلا ملتوسيدا وكانت النسبة الاجمالية للعزل في الانسان نحو 6.9% من مجموع 23 عينة موجبة، أما في الحيوانات الحقلية فكانت النسبة الاجمالية للعزل نحو 29.4% من مجموع 44 عينة موجبة، وقد أظهرت هذه العينات بعض الاختلافات الثانوية في عدد من الاختبارات الكيموحيوية التفريقية وبعدها تم تقسيم العتر الموجبة الى الأنواع تحت الصنف.

جرى فحص العتر المعزولة اذ أظهرت نتيجة الفحص وجود 9 عتر جرثومية بشرية من مجموع 23 كانت ضارية للفئران وسببت هلاكها خلال 12-24 ساعة، ووجود 21 عترة جرثومية حيوانية من مجموع 44 عترة كانت أيضاً ضارية للفئران. ظهرت في فئران المجاميع كلها آفات عيانية واضحة اختلفت شدتها من حيوان الى آخر ومن مجموعة الى اخرى وتميزت باحتقان الرئتين وتضخم الطحال وأحياناً احتقان الكبد مع وجود مناطق شاحبة على سطحه.

أظهرت نتائج الفحص النسيجي آفات التهابية اختلفت في شدتها وتباينت بين مجاميع العتر المحقونة في الفئران وعلى النحو الآتي:

1. مجموعة الحقن بالعترة القياسية

تميزت الآفات النسيجية باحتقان الاوعية الدموية في جدار الأسناخ الرئوية وارتشاحها بخلايا التهابية متعددة النوى واحتواء تجويف الاسناخ على نضحة التهابية مع وجود الليفين مع كريات الدم الحمراء (الشكل1).

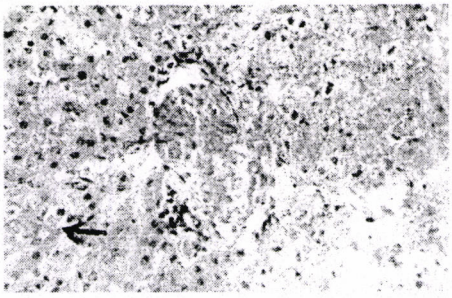


الشكل 1: مقطع في نسيج الرئة بعد الحقن في البريتون بالعترة القياسية يلاحظ تجمعات هائلة لخلايا متعددة الأنوية وامتلاء الأسناخ الرئوية مسببة التهاب ذات الرئة الليفيني القيحي.

2. مجموعة الحقن بالعزلة البشرية

تميزت الآفات النسيجية في الفئران المحقونة عن طريق الرغامي بأن كامل الرئتين في احتقان وتثخن جدار الاسناخ وحصول النزيف، وتميزت آفات الكبد بكبر حجم الخلايا الكبدية واختفاء الجيبانيات

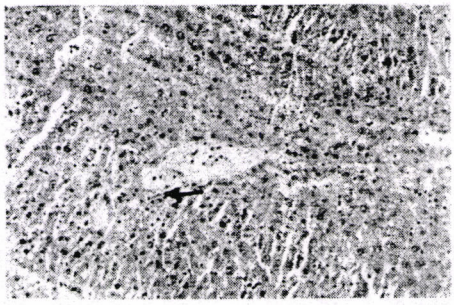
وفقدان الخلايا لأنويتها، أما الحقن في البريتون فتميزت الآفات بكبر حجم الخلايا الكبدية وتنكس قسم منها لا سيما القريبة من الوريد المركزي ووجود النزيف واحتقان الاوردة المركزية (الشكل 2).



الشكل 2: مقطع في نسيج الكبد لمجموعة الفئران المحقونة داخل البريتون بالعزلة البشرية، يلاحظ كبر حجم الخلايا الكبدية وتنكس بعض منها مع احتقان الوريد المركزي ووجود النزف.

3. مجموعة الحقن بالعزلة الحيوانية

تميزت مجموعة الحقن في البريتون بافات في الرئتين وحصول انتفاخ وامتلاء الأسناخ بالخلايا الالتهابية متعددة الأنوية وتثخن الاسناخ الرئوية وارتشاحها بالخلايا الالتهابية واحتوائها على نضحة التهابية مع الليفين، أما الكبد فتميزت الآفات بحصول الاحتقان في الاوردة المركزية وتورم الخلايا الكبدية وتنكس قسم منها ووجود الهيموسدرين وارتشاحها بخلايا التهابية متعددة الانوية بأعداد هائلة مسببة بؤر تنخرية مؤدية الى حصول التهاب الكبد القيحي وكانت الآفات أكثر شدة من باقي المجاميع (الشكل 3).



الشكل 3: مقطع في نسيج الكبد لمجموعة الحقن في البريتون بالعزلة الحيوانية يوضح كبر حجم الخلايا وارتشاحها بخلايا العزلات مؤدية الى التهاب الكبد.

المناقشة

أظهرت الدراسة أن أحسن نموذج يؤخذ لعزل هذه الجراثيم هي المسحات الأنفية البلعومية والرغامية في الحيوانات وهذا مؤشر طبيعي لأن الجراثيم تتمركز في المجاري التنفسية العليا للحيوانات وهذا يتفق مع ما ذكره كل من[7، 6، 22، 2] اذ تم عزل 40 عترة جرثومية بنسبة 29.4% من الحيوانات أما في الانسان فان عدد الحالات الموجبة 23 بنسبة اجمالية قدرها 16.91% ، وان أحسن نماذج مأخوذة

لعزل الجراثيم من الانسان هي جروح وقشع المرضى وهذا يتفق مع ما أورده[28، 18، 5، 9،20]، ومن الجدير بالذكر انه جرى اختبار ضراوة العتر المعزولة من الانسان والحيوان وظهر أن ضراوة العتر المعزولة تختلف باختلاف شدة المرض ومصدر العزل وهناك علاقة بين درجة ضراوة العتر ودورها في احداث الاصابة بوصفها مسبباً رئيسياً أو ثانوياً وهذا يتفق مع ما ذكره[30].

أما ما يخص نتائج الآفات النسيجية لأعضاء الفئران استنتج بأن العتر المعزولة من الانسان والحيوانات الحقلية قادرة على استحثاث المرض في الحيوان التجريبي الانموذجي وبشكل حاد تؤدي الى هلاكه اذ جرى عزلها من رئات جميع مجاميع الفئران وكذلك من كبد وطحال الحيوانات الهالكة وان الآفة الموجودة في الرئة هي من نوع ذات الرئة الليفيني القيحي يرجع ذلك الى أن الذيفان الداخلي للجرثومة يحطم بطانة الاوعية الدموية ويزيد نفاذيتها مما يؤدي الى وجود خثار في فصوص الرئة المصابة والاوردة والشرايين والاوعية اللمفاوية مما يؤدي الى تخثر ذوي وبالتالي الى تحفيز عملية المتمم البديلة ومن ثم زيادة في قابلية النضوح الوعائي وزيادة في عوامل الجذب الكيمياوي للعزلات مع وجود معقدات المستضد والضد، فضلاً عن أنها تحرر انزيماتها الى المقطنة خلال عملية الالتهام وبالتالي تسبب أذى كبيراً للنسيج. فقد كانت العزلة الحيوانية أكثرها شدة من العزلتين الباقيتين وهذا يتفق مع نتائج[31،17،21،29].

كانت طريقة الحقن في العين غير مؤثرة في احداث المرض لكنها تحدث الاصابة في العين بعد التعرض الى جروح أو اصابة مباشرة في العين تؤدي الى دخول الجرثومة واحداث الاصابة[27]، أما الطرائق الاخرى فقد كانت فعالة في داخل أعضاء الحيوانات اذ ظهرت جلياً التغيرات النسيجية الحادة في أعضاء الفئران اذ أنها تتكاثر بحرية في سوائل الجسم وتنقل افرازاتها عن طريق الدم الى الكبد والطحال والرئتين مسببة تغيرات مرضية شديدة.

References

1. Ahmed, W. A.; Rasool, H.S. (1990) Isolation and identification of *Pasteurella maltocida:* Caustive agent of fowl cholera in poultry farms in Iraq. The second conference of foundation of technic Institute. 37-91.
2. Al-Darraji, A.M.; Cutlip, R.C. lehmkuhl, H.D.; Graham, D.L. (1982). Experimental Infection of Lambs with bovine respiratory syncytial virus and *Pasteurella haemolytica*: Pathologic studies. Am. J. Vet. Res.43: 224-229.

3. Al-Sultan, I.I. (1976) Pathology of some bacterial preumonia in sheep in Iraq with special reference to *Pasteurella* infection. M.Sc.Thesis, College of Veterinary Medicine-University of Baghdad.
4. Bain, R.V.S.; Dealwis, M.C.I.; Carter, G.R.; Gupta, B.K. (1982) Haemorrhagic septicaemia, FAO Agric. Studies, No. 33.
5. Calverley, P.M.A.; Doglas, N.J.; Buchunan, D.R.; Wilson, A.M.M. (1983) Ventilatory failure after *Pasteurella multocida* pneumonia.Thorax.39:954-955.
6. Collee, J.G.; Fraser, A.G.; Marmion, B.P.; Simmons, A. (1996). Fractional Medical Microbiology. 14th ed. Mackie & McCartneg, Churchill, Livingston, New York.
7. Davis, B.D.; Dulbecco, R.; Esin, H.N. and Ginsberg, H.S. (1973) Microbiology. 2nd ed. Harpent International Edition.
8. Dealwis, M.C.I. (1984). Haemorrhagic septicaemia in cattle and buffaloe. Rev. Sci., Tect. Aff. Int. Epiz. 3: 707-730.
9. Drvden, M.S.; and Dargliesn, D. (1996). *Pasteurella multocida* from a dog causing Ludwing's angina. Lancet. 347: 123.
10. Guibourdenche, M.; Lambert,T. and Riou J.Y.(1989) Isolation of *Niesseria canis* in mixed culture from a patient after a bite.J.Clin.Microbiol.27:1673-2674.
11. Gupta, R.S.; Joshi, D.V. and Baxi, K.K. (1977). Isolation of *Pasteurella multocida* from a case of bovine mastitis. Indian Vet. J. 54: 769.
12. Jawetz, E.; Melnick, J. L. and Adberg, E.A. (1998) Medical Microbiology. 21th, ed. Printed in Lebanon by typo press.
13. Love, R.J.; Wilson, M.R. and Tasler, G. (1985). Porcine atrophic rhinitis. Aust. Vet. J. 62: 377-378.
14. Luna, L.G.; (1968). Manual of histological staining methods of the armed forces Institute of Pathology. 3rd ed. McGraw-Hill Book Company New York. USA.
15. Merey, A.R.; Salerian, M.; Uoyd, J.M.; Richards, R.B. and Robertson, G.M. (1986). Isolation of toxigenic *Pasteurella multocida* from an outbreak of a trophic rhinitis in pigs. Aust. Vet. J. 63: 256-258.
16. Minton, E.J. (1990) *Pasteurella pneumotropica*: Meningitis following a dog bite. Postgrad. Med. J. 66: 126.
17. Morrison, R.B.; Pijoan, G.; Hillery, H. D. and Rapp, V. (1985) Microorganisms associated with pneumonia in slaughter weights wine. Cand. J. Comp. Med. 49: 129-137.

18. Nelson, S.C.; and Hammar, G.S. (1981) *Pasteurella multocida* empyema: Case report and review of the literature. Am. J. Med. Sci., 281: 43-49.
19. Nitsche, J.F.; Vaughan, J.N.; Williams, G. and Curd, J.G. (1981). Septic streno-clavicular arthritis with *Pasteurella multicida* and *Streptococcus sanguis.* Arthritis and Rheumatism, 25: 467-469.
20. Penketh, C. (1983) An usual case of *Pasteurella multocida* septiaemia. Postgraduate Med. J. 59: 116-117.
21. Perey, D.H; Bhasin,J.L. and Rosenda L. (1986) Experimental Pneumonia in rabbits incubated with strains of *Pasteurella multocida.* Can. J.Vet. Res.5:36 -41.
22. Quinn, P.J.; Carter, M.E.; Narkey, B.K.; Carter, G.R. (1998) Clinical Veterinary Microbiology. 2nd ed. Walfe Publishing, Mosby- Year Book Inc. Europe Limited.
23. Ryelberg, J.; and White, P. (1993) *Pasteurella multocida* as a cause of acute epiglottitis. Lancet: 341: 381.
24. Sasse, S.A.; Causing, L.A; Mu Migan, M.E. and Light, R.W. (1996) Serial pleural fluid analysis in a new experimental model of empyemia. Chest. 109: 1043-1048.
25. Snipo, K.P. and Hirsh, D.C. (1985)Association of complement sensitivity with virulence of *Pasteurella multocida* isolated form turkeys. Avian Dis., 30: 500-504.
26. Talan, D.A.; Citron, D.M.; Abrahamian, E.M. et al. (1999) Bacteriological analysis of infected cat bites. N. Eng. J. Med. 340: 85-92.
27. Weben, D.J.; Wolfson, J.S.; Swartz, M.N. and Hopper, D.C. (1984) *Pasteurella multocida* infections: Report of 34 cases and review of the literature. Medicine 63: 133-154.
28. Whittle, I.R. and Basser, M. (1982) Otogenic *Pasteurella multocida.* Brain abscess glomus jugulare tumor. Surg. Neurol. 17: 4-8.
29. Williams, E.S.; Rund, D.E.; Mius, K. and Holler, L.D. (1986) Avian cholera in a Gyrfalcon (Falco Rusticolus). Avian Dis. 31: 380-382.
30. Woolcock, J.B. and Collins, F.M. (1975) Immune mechanism in *Pasteurella multocida* infected mice. Infect. Immun. 13: 949-957.
31. Young, J.D; Jr & Griffith, W.J.(1985) Spontaneous *Pasteurella pneumoniae* in adult laboratory goats complicated by super infection with *Corynebacterium pseudotuberculosis* and *Muellerius capillaris.* Lab. An. Sci. 35: 409-411.