المجلة الطبية البيطرية العراقية ، المجلد التاسع عشر والعشرون ، العدد الثاني ، سنة ١٩٩٥-١٩٩٦

التغيرات المرضية والكيمياوية النسيجية في رئات خنازير غينيا المحمجة تجريبيا بـ Nocardia asteroides .

محمد جويد علوان ،بشرى ابراهيم مصطفى، راجحة عبد الستار عبد الرحمن

فرع الامراض والدواجن – كلية الطب البيطري –جامعة بغداد – العراق

الخلاصة

صممت هـذه التجربة لدراســـة التغيرات المرضيـة والكيمياوية النسيجية لرئات غنازير غينا الناتجة عند حقن جرعـة مقدارهـا $1.5x\ 10^8$ CFU من الجراثيم Nocardia asteroides .

استخدمت ثماني حيوانات وحقنـت داخـل الرئـة مباشـرة اضافـة الـى مجموعـة سيطرة حيث حقنت بالماء المقطر المعقم داخل الرئة ايضا .

كانت التغيرات المرضية العيانية في رئات الحيوانات المحقونة بـالجراثيم علـى شكل عقيدات في معظم فصوص الرئة اليمنى واليسرى واحتواتها على مـواد قيحيـة او متجبنة محاطة بمحفضة نسيجية ليفية بيضاء اللون. اما التغيرات المجهرية فقد اظهـرت وجود اورام حبيبية قيحية فـي رئـات الحيوانـات المحقونـة بـالجراثيم وكـانت التغيرات الكيمياويـة النسـيجية توضـح وجـود المـادة المخاطيـة الحامظيـة نـوع Sialomucin والحامضية الكبريتية Sulfomucin بشكل رئيسي فـي حبيبـات الخلايـا الكاسية والغدد تحت المخاطية لرئات الحيوانات المحقونة بـالجراثيم. امـا فـي حيوانـات السيطرة فـان حبيبات الخلايا الكاسية والغدد تحت المخاطيـة تتكـون مـن المـادة المخاطيـة المتعادلـة neutral mucin والحامضية نوع Sialomucin .

المقدمة

يعد داء النوكارديا من الامراض المهمة اقتصاديا وصحيا حيث يصيب الانسان ومعظم الحيوانات الاليفة والمتوحشة ويأخذ الشكل القيحي الحاد او المزمن او يأخذ شكل الورم الحبيبي.

تعتبر N. asteroides من اهم انواع رجاثيم النوكارديا التي تصيب الانسان والحيوانات المختلفة (Pier et al. ,1961, Mostafa, 1966, Confer et al,. 1981)

تعتبر دراسة التغيرات الكيمياوية النسيجية من الدراسات المهمة، اذ تعطي مؤشرا على وجود التغيرات الوظيفية. ان الطبقة المخاطية تعد من الوسائل الدفاعية اللانوعية للجهاز التنفسي في معظم الفقريات (Croftea & Douglas, 1981) وتعرض هذه الطبقة للعوامل المخدشة الكيمياوية، الفيزياوية، والبايولوجية يؤدي الى تغير في خواصها الكيمياوية والوظيفية. كما في التهاب القصبات المزمن في الانسان (Greg & Jeffery, 1980) . عند تعرض الفئران التجريبي الى دخان السكائر (Lamb and Reid, 1968) وعند الاصابات الطفيلية (Alwan, 1987).

هنالك دراسات قليلة في العراق عن داء النوكارديا في الحيوانات الحقلية والمختبرية (Alwan, 1995) ولم تجري دراسات مرضية عن علاقة الاصابة بداء النوكارديا والتغيرات الكيمياوية النسيجية للطبقة المخاطية لرئات الحيوانات المحقونة بهذه الجراثيم، لذا صممت هذه الدراسة لمعرفة التغيرات المرضية الحادثة في الخنازير غينيا المحقنة تجريبيا بجرثومة N. asteroides .

المواد وطرائق العمل

خنازير غينيا :-

استخدم في هذه الدراسة (12) من خنازير غينيا تراوحت اعمارها بين ٣-٢ شهور مناصفة ومن كلا الجنسين، تراوحت اوزانها بين ٤٠٠-٣٥٠ غرام بعد الحصول عليها من معهد المصول واللقاح التابع لوزارة الصحة، ووضعت هذه الحيوانات في اقفاص بلاستيكية ذات ابعاد 40 x 15 x 10 سم بعد تعقيم تلك الاقفاص، ووضعت الحيوانات في غرفة مختبرية وفي ظروف ملائمة من حيث التهوية ودرجة الحرارة وتوفر العلف القرصي والعلف الاخضر. وتركي الحيوانات تحت المشاهدة لمدة اسبوعين كفترة تأقلم، وثم اجراء الفحوصات الازمة كالفحوصات الدموية للتاكد من خلوها من الحالة المرضية .

العترة الجرثومية :-

استخدمت عترة N. asteroides المعزولة سابقا من قبل (Alwan, 1995) من نموذج حليب بقرة مصابة بالتهاب الضرع .

وتم التاكد من صفاتها الكيمياحيوية باستخدام طريقة الباحثين , .(Crwick et al 1975; Collins& Anne; 1988) وتم تعيين الجرعة حسب ما ذكره (Alwan; 1995) .

تصميم التجربة :-

حقنت (8) حيوانات بجرعة $1.5 \times 10^8 \times$ CFU من جرثومة N. asteroides مباشرة بالرئة، واما الاربعة الباقية فأنها استخدمت كحيوانات سيطرة وحقنت بـ (1) ملليتر من الماء المقطر المعقم في الرئة مباشرة ايضا . تم قتل الحيوانات بعد (16) يوم من اصابة وسجلت التغيرات المرضية العيانية لرئات الحيوانات. ثم اخذت نماذج من

الرئات المحقونة بالجراثيم ورئات حيوانات السيطرة وثبتت في 10% من محلول الفورمالين المتعادل ومحلول الكارينويز (Culling, 1963) واستخدمت الصبغات التالية :-

١.صبغة حامض فوق اليوديك (MC Manus, 1948)

٢.الاستلة- حامض فوق اليوديك شف (Culling, 1963)

٣.الاستلة الصوبنة- حامض فوق اليوديك شف (Culling, 1963)

النتائج

اظهرت جميع الحيوانات المصابة اعراض سريرية واضحة في اليوم الثالث بعد الاصابة تميزت بارتفاع درجة الحرارة لتصل الى 45 درجة مئوية وفقدان الشهية وقلة الحركة مع صعوبة التنفس الى ان نفقت بعد اليوم 16 من الاصابة وقبل هلاكها لوحظت علامات عصبية مثل التشنجات واستناد الحيوان الى الاطراف الامامية وانطواء الاطراف الخلفية الى الداخل وسير الحيوان فقط على الاطراف الامامية بعد ذلك.

التغيرات المرضية العيانية :-

شوهدت مناطق تصلد في الفص القلبي والحجابي للرئة اليسرى اضافة الى المناطق نزف واحتقان، كذلك وجود بؤر نخرية وعقيدات ذات لون ابيض سنجابي محاطة بمحفظة من النسيج الضام في الفص الوسيطي والحجابي للرئة اليمنى وتحتوي هذه العقيدات على نضحة قيحية .

التغيرات المرضية النسيجية :-

تميزت بوجود بؤر نخرية متعددة مرتشحة بالعدلات والبلاعم الكبيرة ومحاطة بنطاق من الخلايا الظهارانية والمفية والخلايا العملاقة ومغلفة بمحفظة من النسيج الضام او الاورمات الليفية، كذلك لوحظ زيادة سمك الحواجز بين الاسناخ والفصوص لارتشاحها بالخلايا الالتهابية احتقان الاوعية الشعرية السنخية اضافة الى البؤر النزفية في مناطق متعددة من المتن الرئوي.

لقد اوضح جدول رقم (1) التركيب الكيمياوي النسيجي للمادة المخاطية في رئات خنازير غينيا المصابة تجريبيا بالنوكارديا حيث كانت حبيبات الخلايا الكاسية والغدد تحت المخاطية موجبة التفاعل مع حامض فوق اليوديك شف وسالبة لعملية الاستلة - حامض فوق اليوديك شف الا انها كانت موجبة بعد الصوبنة .

اخذت حبيبات هذه الخلايا اللون الازرق عند معاملتها مع صبغة الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني pH 1.0 ,2.5 وعند استخدام صبغة الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني pH 2.5- حامض فوق اليوديك شف اخذت حبيبات الخلايا الكاسية والغدد تحت المخاطية اللون الازرق فقط (صورة رقم 1). وعند استخدام صبغة الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني pH 1.0- حامض فوق اليوديك شف اخذت بعض حبيبات هذه الخلايا اللون الاحمر واخذت البقية اللون الازرق (صورة رقم 2).

لقد كانت النتيجة سالبة عند استخدام عملية المثيلة صبغة الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني pH 1.0 , 2.5 الا ان النتيجة كانت موجبة في بعض حبيبات هذه الخلايا بعد الصوبنة .

المناقشة

ان داء النوكارديا من الامراض الجرثومية التي لم تلقى اهتماما واسعا من الدراسة والبحث في العراق وذلك لصعوبة تشخيص المرض وكون الجرثومة N. asteroides انتهازية وتاخذ وقتا اطول للنمو بصورة واضحة في الاوساط

الزراعية الاعتيادية . لذلك فان الجراثيم الاخرى الموجودة في نفس النموذج تنمو اسرع من نمو جرثومة النوكارديا وتطغى عليها . لقد سجلت ثورة مرضية لهذا المرض في محطة ابقار الدجيل من قبل الباحث (Alwan 1995) مسببة خسائر اقتصادية كبيرة في انتاج الحليب وهلاك بعض الحيوانات المصابة او نبذها لعدم استجابتها للعلاج بالمضادات الحياتية .

كما ان الاعراض السريرية والافات المرضية في رئات الحيوانات المصابة مطابقة لما وصف للخمج التجريبي في خنازير غينيا من قبل الباحثين (Al- Khafajy, 1664) (Alwan , 1995) , .

ان حالة فرط تنسج الخلايا الكاسية والغدد تحت المخاطية وفرط افراز المادية المخاطية الذي شخص في هذه الدراسة لربما يرجع السبب كأستجابة لتخديش ظهارة الطبقة المخاطية للمرات الهوائية او بسبب تحرر الهستامين (Kaliner et a1, 1984)

لقد اوضحت نتائج استخدام صبغة حامض فوق ايوديك شف بعد الاسئلة والصوبنة بان حبيبات الخلايا الكاسية والغدد تحت المخاطية تحتوي على الكاربوهيدرات حيث ان حامض فوق ايوديك شف عامل مؤكسد قوي لمجموعة الـ glycol 1:2 من المادة الكاربوهدراتية (Sumner, 1969) كذلك اشارت نتائج استخدام صبغة الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني 2.5 ,1.0 pH تبعاتها صبغة حامض فوق ايوديك شف ان حبيبات الخلايا الكاسية والغدد تحت المخاطية في الحيوانات السليمة تحتوي على المادة المخاطية المتعادلة والمادة المخاطية الحامضية نوع Sialomucin وتحولت هذه المادة في الحيوانات المخمجة الى المادة المخاطية الحامضية نوع Sialomcin والمادة المخاطية الحامضية نوع Sulfomucin مما يشير الى تغير الطبيعة الكيمياوية للمادة المخاطية في رئات خنازير غينيا المخمجة تجريبيا بجرثومة النوكارديا .

هناك العديد من الدراسات الكيمياوية النسيجية السابقة اوضحت تضخم الغدد تحت المخاطية والخلايا الكاسية وفرط افراز المادة المخاطية وتغير صفاتها

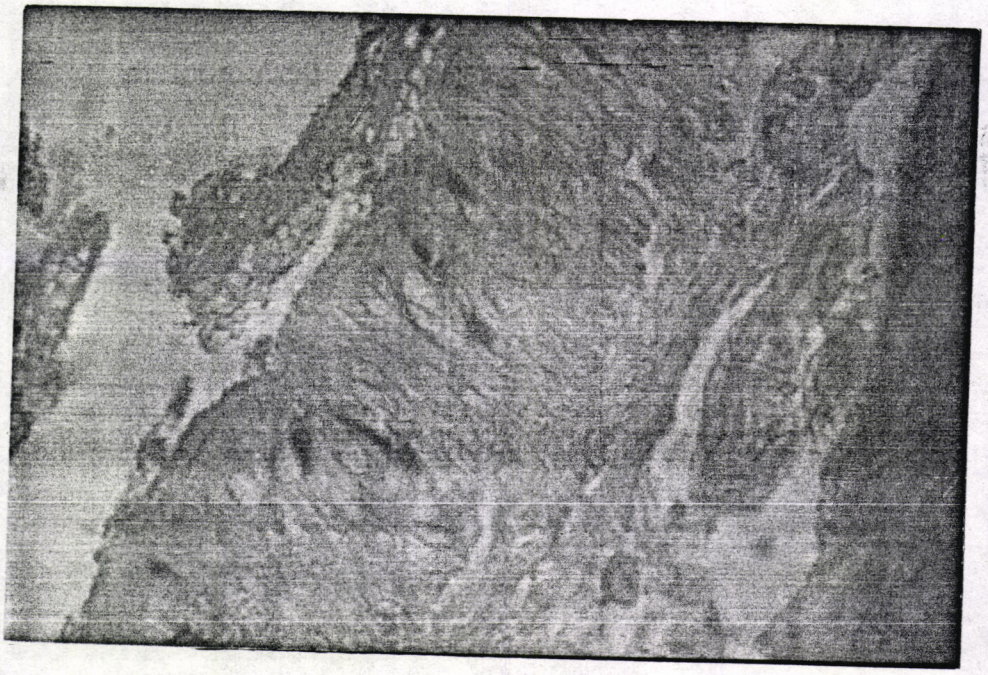
الكيمياوية والوظيفية في المسالك الهوائية في حالة التهاب القصبات المزمن في الانسان (Lamb and Reid, 1968) وفي الكلاب (Spicier et al, 1974) والماعز (Alwan, 1987)

ان ظهارة الطبقة المخاطية للجهاز التنفسي تحتوي على مراكز التصاق خاصة بالجراثيم وان من الوسائل الدفاعية الموضوعية للجهاز التنفسي افراز مادة بروتينية - كربوهدراتية لمنع التصاق الجراثيم بهذه المواقع (Johanson et al, 1979) . ان فرط افراز المادة المخاطية يؤدي الى تغير في طبيعتها الكيمياوية وان وجود Sialic acid يزيد من لزوجة المادة المخاطية والتالي يؤثر على حركة الاهداب ويؤدي الى انسداد الممرات الهوائية بالنضخة الالتهابية ويوفر الظروف الملائمة للمخج الجرثومي والحموي وهلاك الحيوان نتيجة اختناق (Croftea & Douglas, 1981) . لذا فان علاج الامراض التي ترتبط بفرط افراز المادة المخاطية من الجهاز التنفسي يهدف الى تغير كمية افراز المادة المخاطية وتنشيط الجهاز الهدبي المخاطي وتغيير الطبيعة الكيمياوية والوظيفية للمادة المخاطية (Spicier, 1960) .

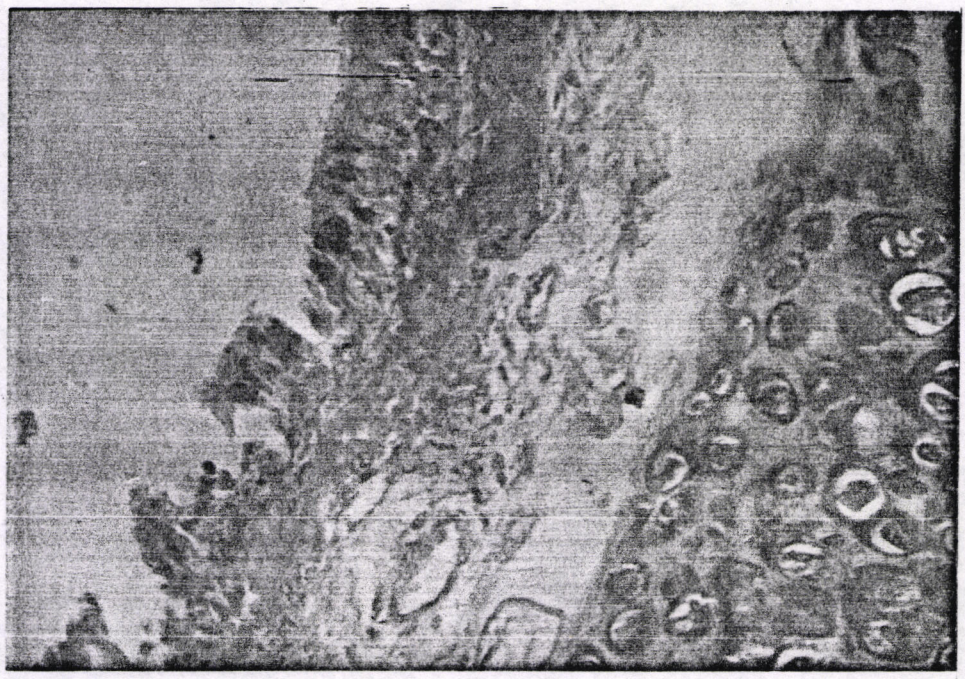
جدول رقم (1) يبين الصفات الكيمياوية النسيجية للخلايا الكاسية والغدد تحت المخاطية ورئات خنازير غينيا الطبيعية والمخمجة بـ Nocardia asteroides

ت	الصبغة	الخلايا الكاسية	الغدد تحت المخاطية	الخلايا الكاسية	الغدد تحت المخاطية
١	حامض فوق اليوديك شف Periodic Acid shiff	احمر ارجواني	احمر ارجواني	احمر ارجواني	احمر ارجواني
٢	الاستيك - حامض فوق اليوديك شف	-	-	-	-
٣	الامستلة - الصوبنة - حامض فوق اليوديك شف	احمر ++	احمر ++	احمر ++	احمر++
٤	الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني pH 1.0	ازرق +++	ازرق +++	ازرق +++	ازرق +++
٥	الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني pH 1.0	ازرق +	ازرق +	ازرق ++	ازرق ++
٦	الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني pas-ph 1.0	احمر ++ ازرق++	احمر ++ ازرق ++	ازرق ++	ازرق ++
٧	الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني PAS-PH	ازرق + -	ازرق + -	ازرق ++ احمر ++	ازرق ++ احمر ++
٨	المثيلة - الشين الزرقاء	-	-	-	-
٩	المثيلة - الصوبنة الشين الزرقاء PH 1.0, 2.5	ازرق ++ -	ازرق ++ -	ازرق + -	ازرق + -

• +++ شديد التفاعل ،++ متعادل التفاعل، + ضعيف التفاعل ، - عديم التفاعل



صورة رقم (١) : معظم الخلايا الكنسية اخذت النون الازرق . صبغة الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني pH 2.5 - حامض فوق اليوديك شف (20X)



صورة رقم (٢) : بعض الخلايا الكنسية اخذت اللون الازرق . والقسم الاخر اخذت اللون الاحمر المزرق . صبغة الشين الزرقاء ذات الاس الهيدروجيني pH 2.5 -حامض فوق اليوديك شف (20X)

REFEENCES

1-AL- Khafajy, S. A. (1994) . Experimental pathological study of Nocardia asteroides in guinea pigs. Msc. thesis, University of Bagdad, Iraq .

2- Allan, E. M.; PIRIE, H. M. dan Wheeldon, E. B. (1987) . Histochemical study of mucosubstances in the bovine respiratory tract with special references to cuffing pneumonia. Fotia Veterinariatinas,7:133-135 .

3- Alwan, M. J. (1987). Histopatholgical and histochemical changes in the respiratory tract in goats experimentally infected with D. filaria. Msc. thesis, University of Baghdad, Iraq.

4- Alwan, M. J. (1995).Pathogene of N. asteroides Ph.D. Thesis, University of Baghdad, Iraq .

5- Baker, A. P.; Charkria , L. W.; Munro, J. R. and Hillegrass, I. M. (1973). Levels of glycosyll- traansferases in canine respiratory tissue in an experimentally induced hyper-secretory state. fed. proc. 3: 560- 565.

6- Confer, A. W.; Coxttu, Koand peter, C. C. (1981). Disseminated Nocardiosis in arabian foal. J. Am. Vet. Med. Ass. 179: 481-484 .

7- Collins, C. H. and Anne, H. C. (1988). Presumptive identification of Nocardia in a clinical laboratory. J. Appl. Bact. 65: 55 - 59 .

8- Croftea, J. and Douglas, A. (19810. Respiratory disease thirded. Oxford.London .

9- Crwick shank, R. Dugwid, J. P. Marmion B. P. and Swain, R. H. (1975). Medical Microbiology 12 thed . Churchill Livingston. vol. 1. pp. 37-43

10- Culling, G. F. (1963). Handbook-fhistopathological techniques. 2nd ed. - Butterworth, London .

11- Greg, N.; Agers, M. and Jeffrey, Poke (1980). The effect of indomethacia on the response of bronchial epithelium to tobacco smoke. J. Path. 132: 1-8 .

12- Johanson, W. G., Woods, J. D. and Chaudhuri, T. (1979). Association of respiratory tract colonization with adherence of gram - negative bacteria to epithelial cells. J. infect. Dis. 139: 667- 672 .

13- Kaliner, M. Maron, Z. potow, g. and Shelhamerity (1984). Human respiratory mucus. J. Allerg. Clin. Immune. 73: 312 - 323 .

14- Kanatuinea M. and Korhonoen, L. K. (1969). The effect of substituted enzylamine on mucosubstance production. Sonderduck and Naunga - Schmiede bergaarchirfur .

15- Lamb, D. and Reid, L. (1968). Mitotic rates of goblet cells increase and histochemical changes in mucin in rat bronchial epithelium during exposure to sulfur dioxide. J. Path. Bact. 96: 97 - 102.

16- Littie, R. D. (1954) . Histopathological technique and practical histochemistry. p. 42. New York, Blakiston , Co., Inc.

17- McManus, J. F. A. (1948). Histological and histochemical use of periodic acid stain technique. 23: 99 - 108 .

18- Mostafa, I. E. (1966). Bovine Nocardiosis (cattle farcy). Areview. Vet. Bull. 36: 189 - 193 .

19- Mouty, R. W. (1956). Alcian blue technique ror the histochemical study of acid carbohydrates. J. Histoch. 4: 407- 412 .

20- Pier, A. C. X. ; Mejia, M. L. and willers, E. H. (1961). Nocardia asteroides as mammary pathogen of cattle. I. The disease in cattle and the comparative virulence of isolated. Am. J. Vet. Res. 22: 502 - 517 .

21- Spicier, S. S. (1960). A correlative study of the histochemical properties of rodent acid mucopolysaccharide. J. Hist. Cytochem. 8: 18-25 .

22- Spicier, S. S. ; chakrin, I. W. and Wardell, J. R. (1974).Effect of chronic sulpherdioxide inhalation on the carbohydrate histochemistry and histology of the canine respiratory tract. Am. Rev. Res.Dis. 110: 13 - 20 .

23- Sumner, A. T. (1969). A. laboratry manus of microtechnique and histochemistry. Blackwell scientific publication: Oxford and Edinburgh .

المجلة الطبية البيطرية العراقية ، المجلد التاسع عشر والعشرون ، العدد الثاني ، سنة ١٩٩٥-١٩٩٦

HISTOPATHOLOGICAL AND HISTOCHEMICAL CHANGES IN THE IUNG OF GUINEA PIGS EXPERIMENTALLY INFECTED WITH NOCARDIA ASTEROIDES

M. J. ALWAN, B. I. ALKAISIE AND R. A. ABDUL RAHMAN

Department of pathology and poultry, College of Vertinary Medicne, University of Baghdad, Iraq

Summary

The pathological and histochemical changes in the lung of ten guinea pigs have been investigated after using viable Nocardia asteroides in a dose of 1.5 x 10^8 cfu, the bacteria was injected intrapulmonary. Lesions of pyogranuloma were developed. Histochemical studies showed that the granules of goblet cells and mucos glands of lung contain a mixture of neutral and sialomucin normal animal, these types of mucin changed to sialomucin and sulfomucin in the infected animals .