

دراسة الالهمية المرضية لجراثيم الاشريكية القولونية في الاصابات التنفسية لفروج اللحم

صبا عبدالرحيم حسين و مزاحم ياسين العطار

فرع الاحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل. موصل- العراق

(الأستلام: 29 تشرين الثاني، 2006؛ القبول: 22 اذار، 2007)

الخلاصة

اثبتت هذه الدراسة حدوث التهاب الاكياس الهوائية عند حقن جراثيم الاشريكية القولونية النمط الاول في الاكياس الهوائية الصدرية اليسرى لافراخ فروج اللحم بعمر 12 يوم وبمقدار 0.1 مل من العالق الجرثومي للعزلة الجرثومية النمط الاول والحاوي على تركيز  $10 \times 10^8$  وحدة تكوين المستعمرة /مل بعد 72 ساعة من الحقن. اذ ظهرت اولى العلامات السريرية بعد مرور 3 ساعات من الحقن بشكل علامات تنفسية حادة متمثلة بضيق التنفس، وظهور الاصوات التنفسية. كما أظهرت الصفة التشريحية التهاب الاكياس الهوائية الشديد مع وجود طبقة رقيقة من الليفيين حول القلب بعد مرور 24 ساعة من الحقن فضلا عن بقع النخر المشاهدة على سطح الكبد وزيادة سمك طبقة الليفيين حول القلب والرئتين وعلى الاكياس الهوائية بعد مرور 72 ساعة من الحقن، وقد حصل اول هلاك في اثنين من الافراخ بعد مرور 12 ساعة من حقن العالق الجرثومي. كما اكدت الدراسة حدوث اعلى زيادة في اعداد جراثيم الاشريكية القولونية في كل من الدم والكبد بعد مرور 24 ساعة من الحقن وبعد 12 ساعة من الحقن بالنسبة للرئتين والاكياس الهوائية.

**STUDY OF THE PATHOLOGICAL IMPORTANCE OF *Escherichia coli* IN RESPIRATORY INFECTION OF BROILER CHICKENS**

**S. A. Hussein, M. Y. Al-Attar**

Department of Microbiology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul. Mosul-Iraq

**ABSTRACT**

This study showed airsacculitis when 12 days broilers inoculated in the left thoracic air sacs with 0.1 ml suspension of type-1 *E.coli* that contained  $(1 \times 10^8)$  cfu/ml and noticed after 72 hours. The first clinical signs occur after 3 hours of inoculation as acute respiratory signs including dyspnea and respiratory rales. The pathological changes appear as sever air sacculitis with thin layer of fibrenous surrounding the heart after 24 hours of inoculation, then became more thick layer of fibrenous surrounding the heart, airsac and lungs, and spots of necrosis in the liver after 72 hours of inoculation. The first mortality of chicks occurs after 12 hours of inoculation. In concerted with bacterial count, blood and liver showed highest number of *E.coli* after 24 hours of inoculation and after 12 hours of inoculation in both lungs and airsacs.

### المقدمة

يسمى مرض التهاب الأكياس الهوائية *Airsacculitis* نظراً لأن احد اعراض المرض هو اصابة الاكياس الهوائية، و التهاب الاكياس الهوائية من الأمراض المتعددة الأسباب والتي تعتمد بشكل اساس على التداخل بين المضيف والجراثيم (1). وذكر (2) ان جراثيم الاشريكية القولونية يمكنها احداث التهاب الاكياس الهوائية دون وجود مسببات اخرى، كما تساهم الاشريكية القولونية عاملاً ثانوياً مسبباً لاسيما بعد الاصابة بفايروس التهاب القصبات الخمجي او فايروس النيوكاسل والمايكوبلازما حيث تعمل على تحطيم القناة التنفسية وتصبح اكثر قابلية للاصابة بالاشريكية القولونية (2, 3). وتشير الدراسات الى ان الاصابة بالتهاب الاكياس الهوائية يحدث عن طريق استنشاق جراثيم الاشريكية القولونية (2)، ان القناة التنفسية السفلى (الرئتين والاكياس الهوائية) هي الموقع الاول لدخول الجراثيم الى مجرى الدم في الطيور (4,5).

### المواد وطرائق العمل

أستخدم (60) فرخاً من افراخ فروج اللحم المأخوذة من مفاقس تجارية محلية وتم تربيتها من عمر يوم واحد وحتى وصولها الى عمر اجراء التجربة (12) يوم بواقع (30) فرخاً لعملية الحقن و(30) فرخاً بوصفهم مجموعة سيطرة . حقنت المجموعة الاولى بمقدار (0.1) مل من العالق الجرثومي للعزلة الجرثومية *E.coli* النمط الاول المعزولة من دم دجاج اللحم المصاب والحاوية على تركيز ( $10 \times 10^8$ ) وحدة تكوين المستعمرة / مل ، في الاكياس الهوائية الصدرية اليسرى ، اما مجموعة السيطرة فحقنت بمقدار (0.1) من الوسط الزراعي السائل غير المزروع بالجراثيم وبمنطقة الحقن نفسها (6).

تم متابعة العلامات السريرية الظاهرة على جميع الافراخ المحقونة ، كما اجريت الصفة التشريحية لملاحظة الافات العيانية على الافراخ وذلك بعد مرور 3، 6، 12، 24، 48، و 72 ساعة بعد الحقن، حيث اختير 5 افراخ محقونة لكل مجموعة وبضمنها الهالك وبشكل عشوائي ، كما تم العزل الجرثومي من كل من دم القلب و الرغامى والرئتين والاكياس الهوائية والامعاء الدقيقة للافراخ المحقونة وذلك بوساطة مسحات قطنية معقمة نقلت الى المرق المغذي وحضنت لمدة 24 ساعة بدرجة 37 درجة مئوية، ثم نقلت الى اكار الماكونكي واكار الايوسين المثيلين الأزرق وحضنت بنفس الظروف، ولغرض التشخيص التاكيدي اجريت الاختبارات الكيمياحياتية الخاصة بالجراثيم (7).

تم بعدها حساب عدد الجراثيم في الاكياس الهوائية ، الرئتين ، الكبد والدم بعد عملية الحقن. اجري العد في الاعضاء السابقة بوزن غراماً واحد من هذه الاعضاء كل على حدى بوساطة ميزان كهربائي حساس ، وعلقت بمقدار 5 مل من PBS المعقم (pH 7.4) ، وجانس العالق باستخدام هاون خزفي معقم ثم خفف ، اما بالنسبة للدم فيؤخذ واحد مل من وريد الجناح بوساطة سرنجة معقمة (8).

يؤخذ 0.1 مل من كل من الدم وعلق الانسجة المخففان تخافيف عشارية ( $10/1-10/1$ ) وينشر على سطح طبق اكار الماكونكي بوساطة ناشرة زجاجية معقمة بالكحول واللهب ويحضن بدرجة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة ، ويحسب عدد المستعمرات الجرثومية المتكونة بعد فترة التحضين بالمعادلة الاتية:

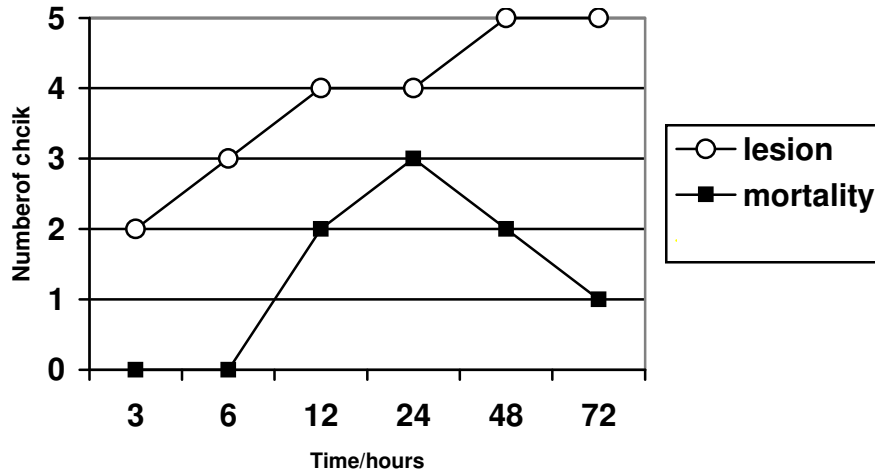
العدد الكلي للجراثيم في 1 مل = عدد المستعمرات النامية في تخفيف معين  $\times$  مقلوب ذلك التخفيف  $10 \times$

وبعد حساب العدد الكلي للجراثيم تم تحويله الى شكل لوغارتمي والعدد الناتج يعتبر هو عدد الجراثيم في غراماً واحداً من النسيج او في مل من الدم (9).

### النتائج

أوضحت النتائج أن اثنين من الأفراخ قد هلكا بعد مرور اثنتي عشرة ساعة من الحقن ، فضلاً عن هلاك ثلاثة أفراخ بعد مرور أربعة وعشرين ساعة، فرخين بعد ثمانية واربعين ساعة، فرخ واحد بعد مرور اثنان وسبعين ساعة من الحقن على التوالي الشكل (1)

الشكل (1) الافات المرضية والهلاكات للأفراخ المحقونة بالنمط الاول من جراثيم الاشريكية القولونية خلال فترة 72 ساعة.



أما العلامات السريرية والتغيرات المرضية فهي موضحة في الجدول رقم (1). وعند إجراء الصفة التشريحية للأفراخ لوحظ التهاب الأكياس الهوائية الشديد على الأكياس الهوائية الصدرية مع وجود طبقة الليفين رقيقة حول القلب بعد مرور أربع وعشرين ساعة من الحقن وازداد الالتهاب وتثخن طبقة الليفين حول القلب وجزء من الرئة بعد مرور ثمان واربعين ساعة من الحقن ، كما شوهدت بقع النخر على سطح الكبد مع زيادة سمك طبقة الليفين حول القلب والرئتين وعلى الأكياس الهوائية ووجود مواد تجبنية داخل الأكياس الهوائية بعد مرور اثنتي وسبعين ساعة من الحقن كما في الشكل رقم (2) بالمقارنة مع مجموعة السيطرة التي لم يلاحظ بها حدوث هلاكات او آفات مرضية.

بالنسبة للعد الجرثومي، فان عدد الجراثيم بدأ بالزيادة في كل من الدم، الأكياس الهوائية والرئتين بعد ثلاث ساعات من الحقن ويصل اعلى عدد بعد أربع وعشرين ساعة من الحقن بالنسبة للدم ، وبعد اثنتي عشرة ساعة من الحقن بالنسبة للرئتين والأكياس الهوائية ويقل بعد ثمان واربعين ، واثنان وسبعين ساعة من الحقن، ماعدا الكبد حيث بدأ بالزيادة بعد ست ساعات من الحقن ويصل اعلى عدد بعد أربع وعشرين ساعة من الحقن ويقل بعد ثمان واربعين ساعة من الحقن، جدول رقم (2).

الجدول رقم 1: العلامات السريرية والتغيرات المرضية للأفراخ المحقونة بالنمط الأول من جراثيم الإشريكية القولونية خلال فترة (72) ساعة من الحقن.

التغيرات المرضية	العلامات السريرية	الزمن بالساعات
احتقان الأوعية الدموية للجسم	مد الرقبة / هز الرأس / خمول	3
عكارة بسيطة إلى متوسطة بالأوكياس الهوائية / احتقان بالرئة اليسرى / بقع نزفية متفرقة على الكبد	نفوش بالريش / خمول	6
الجبنة محتقنة / عكارة متوسطة بالأوكياس الهوائية مع ليفين قليل / احتقان كلا الرئتين / احتقان الكبد	أصوات تنفسية غريبة / ضيق بالتنفس	12
التهاب وتشنج شديد بالأوكياس الهوائية مع طبقة ليفين رقيقة تحيط بالقلب / احتقان شديد بالرئتين والكبد	بطئ الحركة / عدم القدرة على الحركة / صعوبة التنفس	24
طبقة كثيفة من الليفين حول القلب / نخر واحتقان شديدين بالرئتين والكبد / تضخم بالطحال	وجود أصوات تنفسية غريبة / ضيق بالتنفس	48
التهاب وتشنج شديدين بالأوكياس الهوائية / امتداد طبقة الليفين إلى جزء من الكبد مع وجود قطع الليفين حول الرئتين	بطئ الحركة / صعوبة التنفس / الأصوات التنفسية الغريبة	72
-	-	مجموعة السيطرة



الشكل 2: يوضح تكوين طبقة الليفين حول القلب

الجدول رقم 2: أعداد جراثيم الاشريكية القولونية في الأعضاء المفحوصة.

الكبد Cfu/g	الاكياس الهوائية Cfu/g	الرئتين Cfu/g	الدم Cfu/ml	الزمن بالساعات
$10^8 \times 1$	$10^8 \times 1$	$10^8 \times 1$	$10^8 \times 1$	صفر
_____	$10^8 \times 2$	$10^5 \times 4$	$10^{10} \times 2$	3 ساعة
$10^6 \times 2$	$10^9 \times 1.5$	$10^8 \times 1$	$10^9 \times 2$	6 ساعة
$10^6 \times 5.4$	$10^{10} \times 1.5$	$10^8 \times 3$	$10^{10} \times 2$	12 ساعة
$10^7 \times 3$	$10^6 \times 3$	$10^6 \times 3$	$10^{10} \times 3$	24 ساعة
$10^6 \times 2$	$10^6 \times 1$	$10^6 \times 1$	$10^8 \times 2$	48 ساعة
_____	$10^5 \times 5.4$	$10^5 \times 3$	$10^6 \times 1.5$	72 ساعة

#### المناقشة

من أجل دراسة ديناميكية الخمج الجرثومي استخدمت طريقة الحقن في الاكياس الهوائية الصدرية اليسرى كونها طريقة تزيد معنوياً من نسبة حدوث الخمج لاحتتمال حدوث احباط في ميكانيكية التنظيف الفيزيائي واليات الدفاع الموضعي الاخرى للجهاز التنفسي العلوي عند استخدام الطرق الاخرى، وبالنتيجة هذا النموذج التخميحي لا يحتاج الى عوامل مؤهبة للاصابة (6)، فضلاً عن متابعة حدوث العلامات السريرية والافات المرضية في الاعضاء المختلفة للافراخ المصابة تجريبياً بالنمط الاول من جراثيم الاشريكية القولونية الممرضة وربطها مع العد والعزل الجرثومي من تلك الاعضاء المصابة ، حيث ظهرت العلامات السريرية على الافراخ المحقونة بعد مرور ثلاث ساعات من الحقن وازدادت شدة هذه العلامات بعد مرور اثنتي عشرة ساعة من الحقن والتي تزامنت مع حدوث الهلاكات عند هذه الفترة ، وهذه النتائج متفقة مع نتائج الباحثين (10,11)، كما شوهد تثخن الاكياس الهوائية بعد مرور اربع وعشرين ساعة من الحقن ، والتهاب محفظة الكبد مع التهاب الاكياس الهوائية بعد مرور ثمان واربعين واثنتين وسبعين ساعة من الحقن وهذه النتائج تبدو مطابقة لنتائج الباحثين (6) من حيث وقت ظهور الافة وشدتها.

ان قدرة الجراثيم على احداث الافات السابقة قد يعود لقابلية الجراثيم على الالتصاق على الاسطح المختلفة بوجود الاهداب او مقاومتها للبلعمة (6)، كما ان الحقن في الاكياس الهوائية يؤدي الى مستوى عال من الاستعمار الجرثومي للاكياس الهوائية والرئتين ، فضلاً عن الاعضاء الداخلية وهذه الحالة من غير الممكن مشاهدتها عندما يتم الحقن في الرغامي (10). وبالتالي مشاهدة الافات العيانية المرضية لحالة الانتانية المعوية Colisepticemia في الافراخ المحقونة بالاكياس الهوائية بنسبة (75-100%)، بينما كانت الافات بنسبة (30-55%) فقط عند الحقن في الرغامي (6).

وبالنسبة للعد الجرثومي الجدول رقم (2) للنمط الاول من جراثيم الاشريكية القولونية المحقونة تجريبياً في الافراخ ، فانه يؤكد بدء انتشار الجراثيم خلال القناة التنفسية العليا والدم بشكل سريع وخلال اقل من ثلاث ساعات بعد الحقن ،عدا الكبد الذي لوحظ العد الجرثومي فيه بعد ستة ساعات من الحقن ، ان عدد الجراثيم في الاعضاء المحقونة يزداد مع الوقت وحسب طبيعة كل عضو، حيث يصل عدد الجراثيم الى اعلى عدد بعد اثنتي عشرة ساعة من الحقن في الاكياس الهوائية والرئتين بسبب الطبيعة الوعائية العالية للمنطقة الشعيرية للرئتين والتي تعمل كطريق اولي لدخول جراثيم الاشريكية القولونية وكذلك قلة البلعيمات التنفسية في رئة الطيور بالمقارنة مع رئة اللبائن وبالتالي قلة القابلية البلعمية للخلايا الظهارية للمنطقة التنفسية ، فضلاً عن ضعف ميكانيكية الدفاع الخلوي للجهاز التنفسي بالدواجن (12)، وهذا يشرح جزئياً الاستعمار الجرثومي للرئتين والاكياس الهوائية في الدواجن.

اما عدد الجراثيم في الدم فيصل اعلى عدد بعد اربع وعشرين ساعة من الحقن وكونه وسطاً ملائماً لنمو الجراثيم بشكل عام والاشريكية القولونية بشكل خاص فقط لوحظ ارتفاع العد الجرثومي فيه بنسبة كبيرة ، اما الكبد فيصل العد الجرثومي فيه الى اعلى عدد بعد اربع وعشرين ساعة من الحقن ايضاً وذلك لامتلاكه للجهاز الشبكي الوعائي الذي يعمل كخط دفاعي اولي ولهذا السبب ايضاً يلاحظ بدأ انتشار الجراثيم في الكبد بعد مرور ست ساعات من الحقن (10,13).

ويمكن تفسير ديناميكية خمج جراثيم الاشريكية القولونية على انه غزو جراثيم الاشريكية القولونية للجهاز الوعائي من خلال الطبقة المحطمة للاكياس الهوائية او غزو الرئة عبر الممر الهوائي ودخول الجراثيم الى مجرى الدم ثم الى عضلة القلب والاعضاء المرشحة وفيما بعد كيس التامور وبالنتيجة التهاب التامور ومحفظة الكبد الليفيني (11).

#### المصادر

1. Gjessing KM, Berkhoff HA. Experimental reproduction of air sacculitis and septicemia by aerosol exposure of 1-day-old chicks using Congo Red-positive *Escherichia coli*. Avian Dis 1989; 33: 473-478.
2. Gross WB. Colibacillosis. In: Disease of poultry. 9<sup>th</sup> ed. Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, Reid WM, Yoder HW, eds. Iowa: Iowa State University Press, Ames, 1991: 138-144.
3. Jordan FTW, Pattison M. Enterobacteriaceae In: Poultry diseases. 4<sup>th</sup> ed. Harcourt Brace and Company Asia PTE LTD, India 1998; 39-43.
4. Rosenberger JK, Fries PA, Cloud SS, Wilson RA. *In vitro* and *in vivo* characterization of avian *Escherichia coli*. II factors associated with pathogenicity. Avian Dis, 1985; 29: 1094-1107.
5. Barnes HJ, Gross WB. Colibacillosis. In: Disease of poultry. 10<sup>th</sup> ed edited by calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDougald LR, Saif YM, eds. Iowa: Iowa State University Press, Ames, 1997:131-141.
6. Poubakhsh SA, Boulianne M, Martineau-Dozie B, Dozois CM, Desautels C, Fairbrother JM. Dynamics of *Escherichia coli* infection in experimentally inoculated chickens. Avian Dis. 1997b; 41: 221-233.
7. Brooke GF, Butel JS, Morse SA. Medical microbiology. 22<sup>nd</sup> ed. McGraw-Hill companies, USA, 2001: 219-228.

8. Koneman EW, Allen SD, Jauda WM, Schreckenberger PC, Winn WS. Color atlas and textbook of diagnostic microbiology. 5<sup>th</sup> ed. Lippincott-Raven Published, Philadelphia, USA 1997.
9. Baron EJ, Peterson LR, Tenover FC, Tenover FC. Diagnostic microbiology. 9<sup>th</sup> ed. C.V. Mosby Publishing Company 1994: 168-385.
10. Dozois CM, Chanteloup N, Dho-Moutin M, Bree A, Dessautels C, Fairbrother JM. Bacterial colonization and *in vivo* expression of F1 (Type 1) fimbrial antigens in chickens experimentally infected with pathogenic *Escherichia coli*. Avian Dis 1994; 38: 231-239.
11. Arne P, Marc D, Bree A, Schouler C, Dho-moulin M. Increased tracheal colonization in chickens without impairing pathogenic properties of avian pathogenic *Escherichia coli* MT78 with a *fim H* deletion. Avian Dis 2000; 44: 343-355.
12. Toth TH, Siagel PB. Cellular defense of the avian respiratory tract: paucity of free-residing macrophages in the normal chicken. Avian Dis 1986; 30: 67-75.
13. Pourbakhsh SA, Boulianne M, Martineau-Doize B, Fairbrothers JM. Virulence mechanisms of avian fimbriated *Escherichia coli* in experimentally inoculated chickens. Vet Microbiol 1997a ; 58: 195-213.