دراسة التغيرات التشريحية المرضية عند أغنام العواس المصابة بالتذيفن الدموي المعوي

ط . ب لولو غالب شعيرة[1] ، د. واصف الوسوف[2]
د. أشرف الصالح[3] ، د. عماد الحوراني[4]

(1): طالبة دراسات عليا/ ماجستير. قسم التشريح المرضي، كلية الطب البيطري، جامعة حماة. / الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث حماة. جوال .Email:dr.loloshaira123@gmail.com

(2): أستاذ مساعد. قسم التشريح المرضي، كلية الطب البيطري، جامعة حماة. جوال

(3): مدرس علم الجراثيم. قسم الأحياء الدقيقة، كلية الطب البيطري، جامعة حماة. جوال

(4): دكتوراه في علم التغذية. باحث لدى الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية، مركز بحوث

الملخص :

هدف هذا البحث الى دراسة التغيرات التشريحية المرضية الناجمة عن إصابة أغنام العواس بالتذيفن الدموي المعوي. جمعت العينات المدروسة من (5) أغنام نافقة من قطعان التربية المحسنة في مركز البحوث العلمية الزراعية بحماة ضمن حظائر نصف مفتوحة، واستكملت الدراسة في جامعة حماة– كلية الطب البيطري. تم تشريح الأغنام النافقة ويشتبه بإصابتها بالتذيفن الدموي المعوي. سجلت التغيرات التشريحية المرضيّة العيانية والنسيجية وردود الفعل الالتهابيّة وعزلت جراثيم المطثية الحاطمة من الأمعاء والكبد والكلى وتأكيد هوية الجراثيم بالاختبارات الكيميا حيوية. سجلت الأعراض المرضيّة الظاهرة على الأغنام قبل النفوق وكان أهمها ضعف الشهية والنفاخ والاستلقاء على الأرض والدفع بالقوائم الأربعة للأمام والدفع بالرأس إلى الخلف. كما سجلت التغيرات التشريحية المرضية العيانية السائد عليها التهاب الأمعاء النزفي والتهاب الأمعاء الفبريني

وامتلاء الحويصل الصفراوي واحتقان الأوعية الدموية المساريقية واحتقان في الأعضاء الداخلية ونزف على الكبد والكلية والقلب، كما وجدت آفات رئوية متدرجة من الوذمة والتصلد، واصفرار أو شحوب في الكبد وسوائل مصليّة إلى دمويّة في تجاويف الجسم، لوحظ هشاشة بقوام الكبد والكلية في بعض الحالات وكانت بعض الكلى ذات لون قاتم وقوام عجيني رخو. وثقت التغيرات المرضية النسيجية المعوية مجهريّاً حيث لوحظ التهاب الأمعاء النخري على شكل تآكل في الطبقات النسيجية للأمعاء وبؤر نخرية منتشرة، ووجد التنكس المائي بدرجات مختلفة في الخلايا المبطنة للأمعاء، وحدث ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية في جميع العينات السائد عليها الخلايا العدلات التي تشير إلى سير المرض الحاد.

تبين هذه النتائج أهمية دراسة الصفات التشريحية العيانية والنسيجية في تشخيص الإصابة بالتذيفن الدموي المعوي بالإضافة إلى إجراء الفحص الجرثومي للتّأكد من هويّة المسبب وملاحظة الأعراض الظاهرة على الأغنام قبل النّفوق.

<u>الكلمات المفتاحية:</u> التغيرات التشريحية المرضية، التذيفن الدموي المعوي، أغنام العواس، المطثية الحاطمة.

Histopathological Changes Associated with Enterotoxaemia in Awassi Sheep

Abstract

The aim of this research is to study the pathological changes resulting from the infection of Awassi sheep with enterotoxemia. The studied samples were collected from (5) dead sheep from the improved breeding flocks at the Scientific Agricultural Research Center in Hama within semi-open barns, and the study was completed at the University of Hama - College of Veterinary Medicine. The dead sheep were dissected and suspected of being infected with enterotoxemia. The gross histopathological changes and inflammatory reactions were recorded. Clostridium perfringens bacteria were isolated from the intestines, liver and kidneys, and the identity of the bacteria was confirmed by biochemical tests. The symptoms of disease appearing in sheep before death were recorded, the most important of which were poor appetite, bloating, lying on the ground, pushing with all four legs forward, pushing the head back. Macroscopic pathological changes were also recorded, including hemorrhagic enteritis, fibrinous enteritis, distended gallbladder, mesenteric vascular congestion, congestion in the internal organs, and bleeding in the liver, kidney, and heart. Gradual pulmonary lesions of edema and hardening, yellowing or paleness in the liver, and serous to bloody fluids were also found in body

cavities: Fragility of the liver and kidney texture was observed in some cases, and some kidneys were of a dark color and a soft pasty texture. Histopathological changes of the intestine were documented microscopically, where necrotic intestine was observed in the form of erosion in the tissue layers of the intestine and scattered necrotic foci, and hydrophilic degeneration of varying degrees was found in the cells lining the intestine, and severe cells inflammatory response occurred in all samples that were dominated by neutrophilic cellular, which indicates the course of the acute disease.

These results demonstrate the importance of studying the gross histological characteristics in diagnosing enterotoxemia, in addition to performing a bacterial examination to confirm the identity of the cause and observing the symptoms apparent in the sheep before death.

Keywords: pathological changes, Awassi sheep, Interotoxemia, *Clostridium perfringens*.

المقدمة Introduction

يعد مرض التذيفن الدموي المعوي Clostridial Enterotoxemia في الأغنام أحد أهم الأمراض المعدية المستوطنة والمسببة لخسائر اقتصادية كبيرة في تربية الماشية (Senthilkumar *et al*., 2008) وهو من الأمراض المنتشرة في سورية حيث أجريت العديد من الدراسات على الأغنام المصابة بالتذيفن الدموي المعوي وغالباً ما تم التركيز على هذا المرض من الناحية الجراثيم المسببة للمرض وذيفاناتها (حمد، محمد علي، 2010)، وهو مرض حاد مميت يصيب الأغنام في جميع الأعمار (الحملان الرضيعة، حملان التسمين، الأغنام البالغة) والعجول والماعز وأحيانا" الأمهار، يتصف بالنفوق المفاجئ، تلعب المطثية الحاطمة وذيفاناتها المختلفة الدور الرئيسي في إحداث المرض (Quinn *et al*., 2004).

الدراسة المرجعيّة Literature Review

تعد جراثيم المطثية الحاطمة المسبب لمرض التذيفن الدموي المعوي، هذه الجراثيم المصنفة ضمن جنس *Clostridium*، تمتلك عدة أنماط مصلية (A–B–C–D–E) تختلف في إمراضها (Quinn *et al*., 2004; Letko *et al*., 2021).

جراثيم المطثية الحاطمة هي عصيات لاهوائية مجبرة كبيرة الحجم ولها أطراف مدورة، إيجابية الغرام قابلة لصبغة بنفسجية الكريستال بشدة، غير متحركة، متمحفظة، متبوغة والبوغ كبير الحجم يتوضع بشكل وسطي أو طرفي، تنمو على الأوساط المغذية في (15–50)مْ وتبدي مستعمرات رمادية اللون دائرية الشكل على منبت (SPS) تقيس بقطر 2–5مم، كما تشكل مستعمرات ملساء لامعة تحيط بها هالة كاملة التحلل الدموي بتأثير الذيفان ثيتا theta–toxin وهالة خارجية من التحلل الدموي الجزئي بتأثير الذيفان ألفا alpha–toxin على منبت الآغار المدمم Blod agar. (Quinn *et al*., 2004; Finni *et al*., 2020)

تتواجد هذه الجراثيم بشكل حر في الطبيعة وتعيش في أمعاء الحيوانات بشكل متعايش وتتواجد في الحيوانات والنباتات المتفسخة (Johansson, 2006).

تتميز هذه الجراثيم بقدرتها على تخمير السكاكر (الغلوكوز، السكروز، اللاكتوز، المالتوز)، تعطي نتائج سلبية لاختبارات الكتالاز والأوكسيداز، وسلبية لاختبار حلقة الأندول وأنزيم الليباز وتحلل الجيلاتين، تحلل اللسيثين (Quinn *et al.*, 2003).

تتميز المطثية الحاطمة بشدة الضراوة فهي تفرز نوعين من الذيفانات كما قسمها الباحث (McDonel, 1986) إلى نوعين، الأول وهو الذيفانات الرئيسية وتشمل الذيفانات الأكثر أهمية(Alpha – Beta– Epsilon– Iota –Beta^{2} –الذيفان المعوي) ، وتصنف اعتمادا" على إنتاجها للذيفانات الأربعة الأولى إلى خمسة أنماط مصلية (A–B–C–D– E)، يمتلك الذيفان ألفا الخواص الأنزيمية للفوسفوليباز (phospholipase C) يحدث انحلالاً دموياً ونخراً وخللاً في نفاذية الأوعية الدموية وتجمع الصفيحات الدموية، كما يسبب الذيفان بيتا نخر في الغشاء المخاطي، ويسبب الذيفان إبسيلون نخر في الخلايا المبطنة للأوعية الدموية وبشكل خاص الخلايا العصبية وهو ذيفان شديد الضراوة وهو المسؤول عن تذيفن الدم القاتل عند الماشية، ويحدث الذيفان أيوتا زيادة في نفاذية الأوعية الدموية (Songer, 2006; Letko *et al.*, 2021)، يرتبط الذيفان المعوي مع بروتينات الموصلات الخلوية للخلايا المبطنة للأمعاء ويسبب الإسهال المصاحب للعلاج بالمضادات الحيوية، بينما الذيفان ثيتا أو Perfringolysin O هو ذيفان حال للخلايا ويشكل مسام في غشاء الخلية ويمكن أن يحلل كريات الدم الحمراء وإن كلاً من الذيفان ألفا والذيفان ثيتا يتدخلان في الاستجابة الإلتهابية للمضيف ويسببان تراكم الكريات البيض في الأوعية الدموية ومنع التدفق الطبيعي للخلايا البلعمية إلى أنسجة المضيف (Letko *et al.*, 2021)، يعمل الذيفان (NetB) على إحداث تقوب في الغشاء الخلوي الأمر الذي يؤدي إلى تدمير خلايا المضيف.

والنوع الثاني من الذيفانات هو الذيفانات الضعيفة، وبحسب (Quinn *et al.*, 2004; Finni *et al.*, 2020) لها تأثير سام كما تساهم في تحطيم الأنسجة، منها (Kappa– Lambda–Tpel–NetB– –Hyaluronidase Mu– (DNase) Nu)

تشترك الأعراض الظاهرة إلى حد ما عند المجترات على اختلاف العائل أو النمط المسبب، ففي الشكل فوق الحاد للمرض يحدث غالبا" النفوق السريع والمفاجئ بدون ظهور أية أعراض، أما في حال الشكل الحاد للمرض فيظهر عليها عادة علامات الخمول وفقدان الشهية وألم بطني وإسهال مدمم وأحياناً تظهر أعراض عصبية متمثلة بتقوس الظهر والاستلقاء والاختلاجات العضلية، تدوم هذه الأعراض بين 2–12ساعة، أما في الحالات تحت الحادة أو المزمنة فتعاني الحيوانات على الأرجح من إسهال مدمى، ويعتبر الشكل المزمن نادر الحدوث (Songer, 2006).

تبين الصفة التشريحية للأمعاء الغليظة والأمعاء الدقيقة قرح عديدة على الغشاء المخاطي وتجمع كبير لسائل مدمم وجلطات فبرينية (Quinn *et al.*, 2004; Nazki *et al.*, 2021)، بينما تحدث (Brown *et al.,* 2007) عن انتفاخ غازي في الأمعاء واحتقانها واحتوائها سوائل داكنة وتورم واحتقان الغشاء المخاطي والطبقة تحت المخاطية وتقرح منتشر واحتقان أوعيتها الدموية، كما وجد مناطق نخرية مع نضح فيبريني (التهاب الأمعاء الدفتريائي الكاذب)، وفي الحالات الأكثر تقدماً يحدث نخر في كل طبقات النسيج المعوي كما ذكر (Songer, 2006).

وجد نزف حبري على عضلة القلب مع تجمع سوائل ليفينية في كيس التامور والتجويف البطني (Songer, 2006)، كشفت عينات الكبد عن بؤر تنكسية أونخرية، اتساع الجيبانات الكبدية واحتقانها(Brown *et al.,* 2007; Nazki *et al.*, 2021). أضاف (Hussein *et al.,* 2013) عن التهاب الأقنية الصفراوية واحتقان الأوعية الدموية الشعرية ما أدى إلى توسعها بتأثير الذيفانات ما أدى إلى زيادة نفاذيتها وانحلال الكبد وتلف أنسجة الكبد.

صنف (Uzal & Songer, 2008) الأعراض والتغيرات النسيجية لتذيفن الدم المعوي حسب نمط المسبب، حيث أشار إلى الإصابة من النمط A الذي يسبب مرض الحمل الأصفر بان الأعراض والآفات ضئيلة ناتجة عن تأثيرات الذيفان ألفا CPA، وكشف عن

تضخم الكبد والطحال وشحوب في لونهما وتفتت مقطعهما، وحدوث التهاب الكبد النخري، واحتقان رئوي مع وذمة رئوية.

كما وصف عند الإصابة من النمط B الذي يسبب مرض زحار الحملان التهاب الأمعاء النزفي متعدد البؤر، نخر نازف أحمر داكن لمخاطية الأمعاء مع نضح فيبريني، بؤر نخرية واضحة على شكل حلقات مليئة بالدم والفبرين، زيادة السائل المصلي أو الدموي في البطن، ووجود عصيات مختلطة مع الفبرين والخلايا المتوسفة وكريات بيضاء متنوعة، احتقان وتوذم الأمعاء الدقيقة والغليظة وخاصة في الحملان مع ألم بطني ونفاخ طبلي، إسهال دموي، اكتئاب، عدم رغبة بالرضاعة.

أما النمط C فيسبب مرض الصدمة في الأغنام البالغة وعادة ما تبدأ على شكل إصابة الغشاء المخاطي للكرش ويحدث الموت دون أعراض.

كما لاحظ (Uzal & Songer, 2008) عند الإصابة بالنمط D اختلاجات عصبية وارتخاء القوائم والعمى الظاهري ونضح في تجاويف الجسم لتسبب الذيفان إبسيلون في زيادة نفاذية الأوعية الدموية كما يعمل على نخر الخلايا المبطنة وبشكل خاص المبطنة للأوعية الدموية والنبيبات الكلوية والخلايا العصبية مايسبب تلين في نسيج الدماغ والكلية (مرض الكلية الرخوة).

أهمية البحث:

تحتل أغنام العواس مكانة رائدة في قطاع الثروة الحيوانية والإنتاج الحيواني في سورية، وتتعرض بدورها إلى أمراض ومشكلات صحية عديدة من أهمها مرض التذيفن الدموي المعوي والذي يسبب خسائر اقتصادية كبيرة بسبب ارتفاع نسبة الإصابة والنفوق، لذلك أجريت هذه الدراسة.

أهداف البحث Objectives

1- دراسة الحالات المرضيّة المشتبه بإصابتها بالمطثيّات الحاطمة وإجراء الاختبارات الجرثوميّة.

2- دراسة الأعراض المرضيّة الظاهرة على الأغنام والصفات التشريحيّة العامّة.

3- دراسة التّغيّرات المرضيّة النسيجية المعويّة للحالات المصابة.

مواد البحث وطرائقه Materials and Methods

أجريت هذه الدراسة على قطيع من أغنام العواس المربى في مركز البحوث العلمية الزراعية بحماة خلال الفترة الواقعة في أواخر العام 2021 إلى منتصف العام 2022 وهو قطيع محسن بطريقة التهجين والانتخاب للصفات الإنتاجية، يربى ضمن حظائر نصف مفتوحة ونظام رعي مخصص في الصباح الباكر وبعد الظهيرة، تقدم للقطيع أعلاف بخلطات متوازنة (أتبان وأعلاف جافة ومتممات غذائية) ضمن خطة مدروسة.

تضمن البحث دراسة (5) حالات نفوق من القطيع المدروس، التي أعطيت الرموز (A_1-A_5)، و4 أفراد من الأغنام السليمة من البيئة المحلية والتي اعتبرت مجموعة الشاهد للمقارنة و أعطيت الرموز (B_1-B_4) وتنوعت الحالات المدروسة بين 2 ذكور و3 إناث وأعمار مختلفة بعمر يوم واحد إلى 42 يوم، وأوزان مختلفة،. كما في الجدول. (1).

الجدول. (1): الحالات المصابة المدروسة وجنسها وعمرها ووزنها ولقاح المطثية الحاطمة:

رقم الحالة	العمر	الجنس	الوزن\ كغ عند الولادة	لقاح الإنتروتوكسيميا جرعة أولى	لقاح الإنتروتوكسيميا جرعة ثانية
A_1	13 يوم	أنثى	4	-	-
A_2	1 يوم	أنثى	4	-	-
A_3	14 يوم	أنثى	3.5	-	-
A_4	42 يوم	ذكر	4	+	-
A_5	12 يوم	ذكر	4.5	-	-

تم تسجيل الأعراض الظاهرة على الأغنام النافقة والمشتبه بإصابتها بالتذيفن الدموي المعوي قبل نفوقها وتم تسجيل التغيرات المرضية العيانية المشاهدة قبل التشريح وتضمن الفحص الظاهري للجسم كما تمّ تشريح الأغنام المشتبهة مباشرة بعد النفوق وتسجيل التغيرات المرضيّة المشاهدة وتوثيقها بالصور.

تم أخذ عينات بالماسحة القطنية أثناء التشريح مباشرة للتحري عن جراثيم المطثية الحاطمة بالفحص الجرثومي من وسط الأمعاء الدقيقة، الأمعاء الغليظة، متن الكبد ومتن الكلية من كل حالة، ووضعت في أنابيب مجهزة مسبقاً بوسط مرق الثيوغليكولات النوعي لإكثار جراثيم المطثية الحاطمة مسجل عليها رقم العينة وتاريخ أخذ العينة، وتم تحضين العينات لمدة 24–48 سا في وسط لاهوائي بدرجة حرارة 37 مئوية في مخبر الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري(Quinn *et al.,* 2004).

تم عزل وتنقية المطثية الحاطمة بزرع مسحة من وسط الإكثار الثيوغليكولات على أطباق منبت SPS النوعي للمطثية الحاطمة وتحضينها في وسط لاهوائي لمدة (24–48) ساعة على درجة حرارة 37 مئوية لتمييز صفات المستعمرة المعروفة لجراثيم الحاطمة، تم إجراء اختبار اللطخة المباشرة على شريحة زجاجية لفحص الخواص الشكلية والتلوينية المميزة للجرثومة (عصيات إيجابية الغرام ـ على شكل سلاسل قصيرة أوطويلة ـ غير متحركة ـ متبوغة)، تم زراعة مسحة على أطباق الآغار الدموي للتأكد من خاصية المطثية الحاطمة المحللة للدم بظهور هالتين من تحلل ألفا وتحلل بيتا.

تم إجراء الإختبارات الكيمياحيوية على المستعمرات النقية بغية تحديد هوية جراثيم المطثية الحاطمة حيث تم إجراء اختبارات الكاتالاز، والاوكسيداز، وتخمر السكاكر (الغلوكوز، اللاكتوز، السكروز، والمالتوز)، اختبار حلقة الأندول، يتبع ذلك مراحل من التنقية والعزل الجرثومي (Quinn *et al.*, 2004).

تم أخذ عينات نسيجية معوية أثناء التشريح مباشرة بعد النفوق وحالات الشاهد بعد الذبح مباشرة وتثبيتها لدراسة التغيرات التشريحية المرضية النسيجية، تم تثبيت العينات في الفورمالين المتعادل 10% ومن ثم معاملتها مخبريا في مخبر التشريح المرضي بطريقة الإدماج بالبرافين تم تقطيع العينات النسيجية المدمجة بالبرافين بالمبشر بسماكة 3 ميكرون وفردها على شرائح زجاجية، ثم صبغت الشرائح بصبغة الهيماتوكسيلين والأيوزين، وثقت التغيرات النسيجية المجهرية باستخدام مجهر ضوئي وكاميرا خاصة بالتصوير المجهري (Uzal *et al.,* 2022).

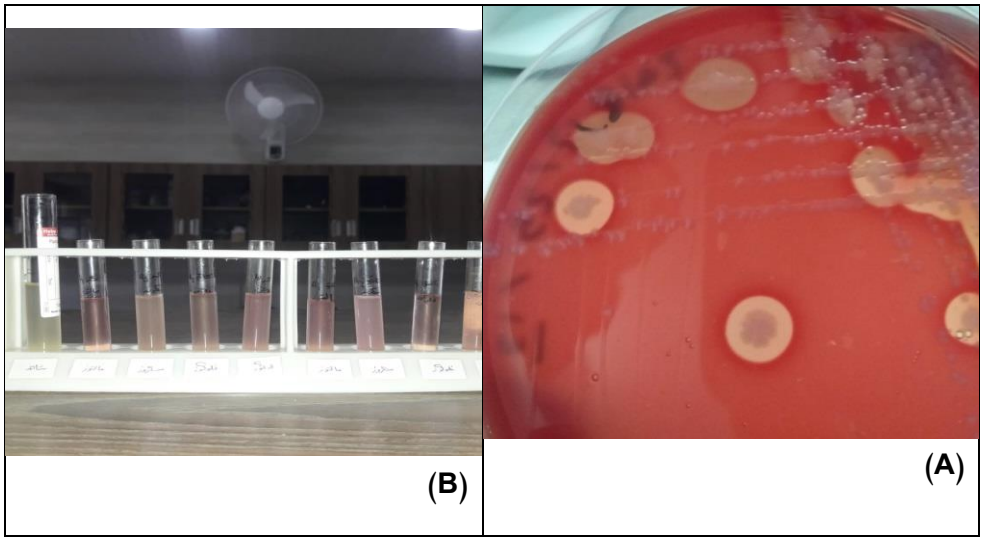
النتائج Results

1-نتائج الزرع الجرثومي

مجموعة الأغنام النافقة والمشتبه بإصابتها: أبدت نتائج الفحص الجرثومي إيجابيتها لوجود جراثيم المطثية الحاطمة في العينات المأخوذة من محتويات الأمعاء الدقيقة والأمعاء الغليظة في كل الحالات، وقد أعطت نتيجة الزرع على بيئة SPS مستعمرات دائرية مسطحة flat رمادية اللون grayish، وبالزرع على بيئة الآجار المدمى كانت المستعمرات محاطة بهالتين من التحلل الدموي كما في الشكل. (A1)، نطاق ضيق من تحلل دموي تام (B-Haemolysis) حول المستعمرات وتحت المستعمرات ونطاق واسع من تحلل دموي جزئي (a-Haemolysis).

وعند إجراء الإختبارات الكيمياحيوية العامة والنوعية التي طبقت على المستعمرات الجرثومية وهي اختبار الكاتلاز والأوكسيداز واختبار حلقة الأندول، فقد كانت النتائج سلبية لكل منها، بينما كانت العزولات مخمرة لسكريات الغلوكوز والمالتوز والسكروز واللاكتوز، كما في الشكل (B1).

وجدت بعض الحالات التي اشتركت في النتيجة الإيجابية في جميع عينات الأمعاء الغليظة والدقيقة (5 حالات)، وبعض الحالات كانت إيجابية في المسحات المأخوذة من الكلى والأمعاء (3 حالات)، وبعضها إيجابية في المسحات المأخوذة من الكبد والأمعاء (3 حالات).



الشكل. (1): اختبارات الفحص الجرثومي للحالات النافقة. (A): التحلل الدموي ثنائي النطاق على الآغار الدموي. (B): اختبار تخمر السكاكر.

2- الأعراض المرضية الظاهرة على الأغنام المصابة قبل النفوق:

لوحظ على أغلب الحالات المريضة أنها كانت تعاني من أعراض عامة مثل الخمول Dullness وصعوبة في التنفس واللهاث والإستلقاء على الأرض Recumbeney وبعض الأعراض الهضمية كضعف الشهية والمغص المفاجئ كما لوحظت بعض حالات الاختلاج العصبيّة Convulsions مثل تقوس الظهر Opisthotonos ودفع الرأس إلى الخلف والأرجل إلى الأمام أو ارتخاء في القوائم الأربعة وتكزز الفم في واحدة

من الحالات، وقد استمرت هذه الأعراض لعدة ساعات أو يوم واحد أو يومين ثم النفوق، وفي البعض منها كانت في مرحلة الغيبوبة ما قبل النفوق Terminal coma، وفي حالة واحدة منها لم يلاحظ عليها أي عرض مرضي سوى قفزة مفاجئة قبل النفوق، وقد كان من الواضح على اثنتين منها الحالة الصحية الجيدة جدا وأنها الأفضل من بين أقرانها.

3- التغيرات المرضية العيانية الخارجية

وجد لدى دراسة التغيرات المرضية العيانية الخارجية قبل البدء بالتشريح للحالات المدروسة بعض الصفات أهمها الإفرازات الرغوية المدممة كما في الشكل. (A 2).

الشكل. (2): افرازات دموية رغوية من الأنف والفم.

4- التغيرات التشريحية المرضية العيانية المشاهدة بعد تشريح الأغنام النافقة

وجد لدى تشريح الأغنام النافقة عدة صفات مرضيّة عيانية كما في الجدول. (4) أهمها نفاخ غازي في الأمعاء في جميع الحالات ونفاخ في الكرش في حالة واحدة كما في الشكل. (4 A)، وقد لوحظ في بعض الحالات احتقان في الأوعية الدموية المساريقية والتهاب الأمعاء المخاطي كما في الشكل (4 B)، ووجد في جميع الحالات وتبيغ دموي في أجزاء متفرقة من الأمعاء وقد كان شديداً في الحالة A3 كما في الشكل (4 B)، بالإضافة إلى نقاط نزفية في الحالة A4، وتمدد في الأمعاء مع وجود محتويات بشكل سائل بلون أصفر إلى بني، كما وجد احتقان في الأوعية الدموية المساريقية، ونزف وتآكلات مختلفة الشدة في الغشاء المخاطي المعوي، الشكل (C4).

كما شوهد في أغلب الحالات سوائل مصلية إلى جيلاتينية في البريتون كما في الشكل (4 A)، ووجدت سوائل مصلية إلى دموية في تجويف الصدر، وسوائل مصلية في كيس التامور في أغلب الحالات. لوحظ في بعض الحالات احتقان دموي في الأعضاء الداخلية وقد كان الإحتقان شديداً في الكبد مع ارتخاء في العضلة القلبية في الحالة A5.

كما وجد نزف نقطي على الكبد في حالتين، والكبد باهت مصفر وقوامه هش سهل التفتت في أخرى، وتضخم الحويصل الصفراوي وامتلاءه بالعصارة الصفراوية في جميع الحالات.

شوهد نزف نقطي منتشر على القلب وقد كان كثيفاً في المنطقة العلوية من البطين الأيمن في الحالة A4، ولوحظ تصلد الرئة الأبيض والتصلد الأحمر كما لوحظ احتقان الفصوص الأمامية للرئة في بعض الحالات، وسهولة نزع محفظة الكلية في حالتين.

وجد نزف حبري على الكلية في بعض الحالات كما في الشكل (E4) وكدمي بؤري في الحالة A5، كما وجدت الكلية هشة سهلة التفتت في الحالة A3، أو عجينية رخوة في الحالة A5 كما في الشكل. (D4)، وقد بدت الكلية في بعضها بلون باهت رمادي، ولوحظ امتلاء المعدة لحملان نافقة بالحليب المتجبن بكميات كبيرة مما يدل على الرضاعة الزائدة لدى بعض الحملان كما في الشكل (F4).

(A)

(B)

(E)

(D)

(C)

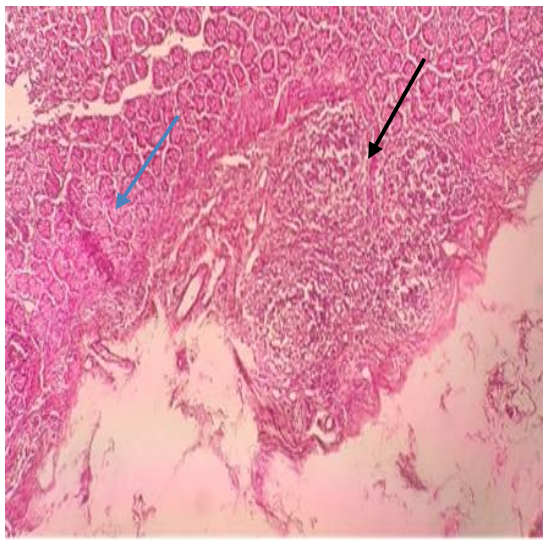
(F)

الشكل. (4): أعضاء وأجهزة الجسم في الحالات المصابة، (A): نفاخ غازي وسوائل فيبرينية في تجويف البطن، (B): احتقان الأوعية الدموية المعوية +التهاب الأمعاء المخاطي، (C): احتقان الأوعية الدموية المساريقية والتهاب الأمعاء النخري، (D): الكلية عجينية رخوة، (E): نزف نقطي على الكلية، (F): امتلاء معدة حمل نافق بالحليب المتجبن.

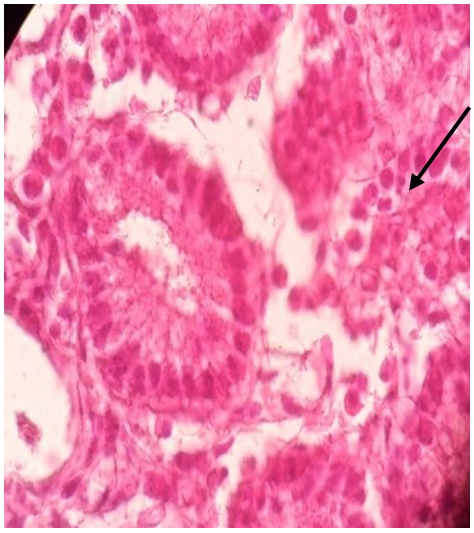
التغيرات التشريحية المرضية النسيجية المعوية:

وجد عند فحص المقاطع النسيجيّة للأمعاء من الأغنام النافقة تغيّرات مرضيّة Pathological changes تضمنت التهاب الأمعاء النخري Necrotic enteritis كما في الشكل (5 A)، و وجد النخر في خلايا قمم الزغابات المعوية Villi والتي لوحظ تآكل في جزء كبير منها، كما وجد في بعض الحالات توسف كامل للزغابات المعوية Erosion وأحياناً زوال الزغابات بشكل كامل، بينما كان النخر ممتداً إلى الطبقة المخاطيّة وتحت مخاطيّة في نسيج الأمعاء في حالات أخرى كما في الشكل (5 C).

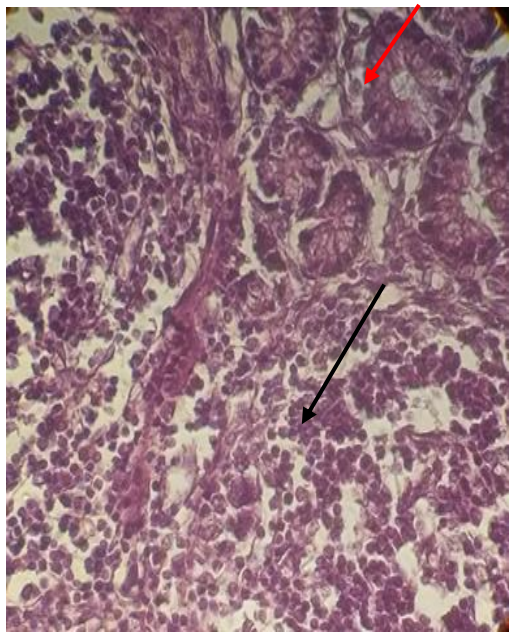
وجدت تغيرات مرضيّة مختلفة على مستوى الخلية في المقاطع النسيجيّة المدروسة من حالات للتنكس المائي Hydropic degeneration كما في الشكل. (5 B) وتغيرات في الأنوية مثل تكثف كروماتين الأنوية Pyknosis في الخلايا المتنخرة وزوال النواة Nucleus absence حيث تترك تجويف كبير دائري، ولوحظ احتقان في الأوعية الدمويّة Vascular congestion في بعض الحالات، كما في الشكل. (5 A)، كما وجد ارتشاح لخلايا التهابية من العدلات والحمضات والمصوريّات واللمفاويات والبلاعم إلا أن الخلايا العدلات كانت السائدة في جميع المقاطع النسيجية مما يدل على سير المرض الحاد، مع ظهور أو غياب الخلايا الأخرى مثل البلاعم واللمفاويات والحمضات كما في الشكل. (5 D).



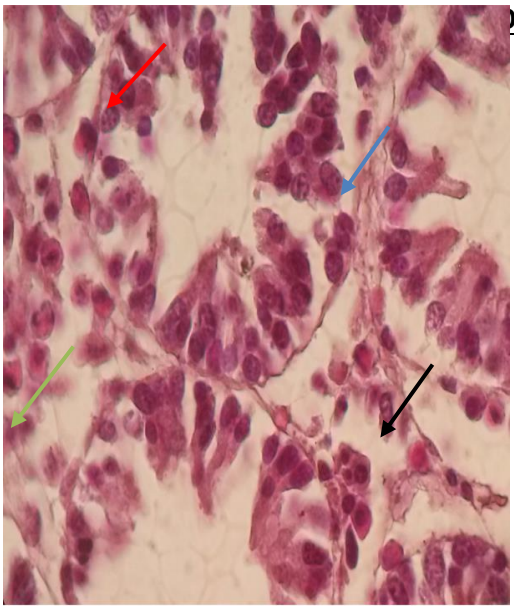
H&E x 10 :(A)



H&E x 60 :(B)



H&E x 40 :(C)



H&E x 100 :(D)

الشكل (5): التغيرات التشريحية المرضية المجهرية:

(A): نخر بؤري في غدد ليبركون Liberkuhn(سهم أزرق)_تواجد طبيعي للطخ باير (سهم أسود). (B): تنكس مائي فجوي في خلايا الغدد الخبيئة. (C): تنكس مائي في خبايا ليبركون (سهم أحمر) – لطخ باير في الطبقة تحت المخاطية. (D): نخر في خلايا الغدد المعوية لابريكان، خلايا التهابية مختلفة من عدلة (سهم أحمر). مصوريّة (أخضر). حمضات (أسود). بلعمية (أزرق).

المناقشة Discussion

أظهرت نتائج الفحص الجرثومي وجود المسبب المطثية الحاطمة من الجنس *Clostridium* في العينات المأخوذة من وسط الأمعاء الغليظة في جميع الحالات المصابة وفي 50% من حالات الشاهد السليمة، حيث تشكل الأمعاء الغليظة الوسط الذي تتواجد فيه جراثيم المطثية الحاطمة بشكل متعايش من الفلورا الطبيعية، وقد ترجع النتائج السلبية في 50% من أمعاء الغليظة للشاهد إلى انخفاض كبير في نسبة هذه الجراثيم في وسط الأمعاء الغليظة مما أدى إلى تعذر نموها على المنابت الجرثومية وهذا ما يتوافق مع (Quinn *et al.*, 2003).

دلت النتائج السلبية لوجود المسبب في جميع العزولات من الأمعاء الدقيقة المأخوذة من حالات الشاهد السليمة أن مكان تواجد جراثيم المطثية الحاطمة الطبيعي (السليم) في الأمعاء الغليظة فقط، وأن تواجدها خارج الأمعاء الغليظة تشكل الحالة المرضية، وهذا ما يتوافق مع (Songer, 1996). ويؤكد ذلك النتائج الإيجابية لتواجدها في جميع العزولات من الأمعاء الدقيقة المأخوذة من الحالات المدروسة النافقة، حيث أن تواجد جراثيم المطثية الحاطمة في الأمعاء الدقيقة يدل على أن الجراثيم المتعايشة في الأمعاء الغليظة أصبحت ممرضة عندما توفرت البيئة الغنية لتكاثر جراثيم المطثية الحاطمة المتعايشة طبيعياً في الأمعاء الغليظة (العوامل المهيئة) مما أدى إلى ارتفاع تعدادها الجرثومي وارتفاع في ضراوة المسبب مما أدى إلى انتشارها باتجاه الأعلى إلى الأمعاء الدقيقة وهذا ما يتوافق مع (Songer, 1996).

إن تزايد وجودها في الأمعاء مع إنتاج كميات كبيرة من الذيفانات يؤدي إلى زيادة امتصاصها إلى الدم ومن ثم حدوث تذيفن الدم المعوي، كما تسبب تخريباً نسيجياً كبيراً موضعياً في بطانة الأمعاء والأوعية الدموية المعوية ما يؤدي إلى نزوح عصيات المطثية

الحاطمة أيضاً إلى الدم وانتشارها إلى أعضاء الجسم كافة فيما بعد في أغلب الأحيان، وهذا ما أيده (Quinn *et al.,* 2004). وهذا ما يفسر ايجابية نتائج عزل جراثيم المطثية الحاطمة من الكبد والكلى في معظم الحالات النافقة، الأمر الذي يؤكد إيجابية الإصابة ويدل على شدة الإصابة وسيرها المرضي.

إن الأعراض الظاهرة على الأغنام المصابة بالتذيفن الدموي المعوي، والتي سجلت بشكل خمول وتعب وانخفاض في الشهية والمغص المفاجئ والرقود والاستلقاء على الأرض واللهاث، تعزى إلى تراجع الفاعلية الوظيفية لأعضاء الجسم وعملياته الحيوية وذلك تحت تأثير تسمم الدم بذيفانات المطثية الحاطمة التي تعمل على نخر الأنسجة لا سيما الذيفان ألفا (CPA) الذي يفرز من كل أنماط الحاطمة بتأثيره المباشر على الموصلات الخلوية والشحوم المفسفرة في الغشاء الخلوي وفي الخلايا المبطنة للأمعاء والأوعية الدموية والكريات الدموية الحمراء والكريات الدموية البيضاء والخلايا العضلية والصفيحات الدموية على وجه الخصوص وتشكيل مسام فيها مسبباً تفجي الخلية وتحللها بتأثيره الناخر والحال للدم وهذا ما أيده (Songer, 2006).

كما يعمل الذيفان ألفا (CPA) على تراص الصفيحات الدموية الأمر الذي يعيق جريان الدم ويسبب نقص التروية ونقص الأكسجة الخلوية، وقد تؤدي تأثيراته المختلفة بالإشتراك مع تاثيرات ذيفانات أخرى للحاطمة إلى الصدمة والموت بدون أي عرض سابق وذلك ما تم ملاحظته في اثنتين من الحالات المدروسة (2/5) ويعزى السبب في ذلك لمضاعفات قلبية وعائية أو عصبية دماغية وهذا ما أيده كثير من الباحثين منهم (Timoney *et al.,* 1988).

كما لوحظ على بعض الأغنام المصابة قبل نفوقها اختلاجات عصبية تسبب ارتخاء في القوائم الأربعة وعدم القدرة على الوقوف وارتخاء الفم والرأس والدفع بالأرجل إلى الأمام

والراس إلى الخلف وفي بعض الأحيان تكزز عضلات الفكين والارتعاش، يمكن أن يفسر ذلك بتأثير الذيفانات الكبير على الجهاز العصبي المركزي حيث تتسبب في تحلل وتنكس بطانة الخلايا المبطنة الوعائية مسببة انتفاخ ومن ثم تفجي الخلايا النجمية ما يؤدي إلى تلين الدماغ البؤري أو المنتشر كما يحدث خسارة لبروتينات البلازما وتسرب سريع لمصل الدم ما يسبب ضغط مرتفع داخل الدماغ وتطور مناطق التنكس والنخر فيه يعبر عنه باختلاج الأغنام والترنح والارتجاف والعمى الجزئي أو الكلي وهذا ما يتوافق (Finnie *et al.,* 1999).

إن حدوث الموت المفاجئ بدون أي عرض سابق الذي لوحظ في واحدة من بين الحالات المدروسة (1\5) رغم أنها كانت ظاهراً بصحة جيدة جداً عندما كانت ترعى مع القطيع بشكل طبيعي، وقامت بالقفز بشكل مفاجئ ومن ثم النفوق، يمكن أن يعزى ذلك إلى التأثير الكبير والمباشر للذيفانات على الدماغ والقلب برد فعل عصبي مميت وهذا ما يتوافق مع (Timoney *et al.,* 1988).

إن المقارنة بين تشريح الأغنام السليمة والأغنام النافقة المشتبه بإصابتها فور نفوقها لدراسة التغيرات التشريحية المرضية، أظهر تغيرات ملحوظة تميز بها المرض.

حيث بدت الأمعاء والمعدة في الحيوانات المصابة بالمرض منتفخة بالغازات ما يؤكد وجود تخمرات غذائية ناتجة عن وجود الكربوهيدرات والتخمة بالإضافة إلى الغازات التي تطلقها جراثيم المطثية الحاطمة في الأمعاء والكرش وهذا ما أكده (Quinn *et al.,* 2004).

كما لوحظ وجود سوائل مصلية إلى فيبرينية أو دموية في تجويف الصدر و/أو في تجويف البطن و/أو في كيس التامور، يفسر وجود تلك السوائل بفعل تأثير الذيفانات (ألفا– بيتا–إبسيلون – ايوتا–بيتا^2 –الذيفان المعوي) المفرزة من جراثيم المطثية الحاطمة

بالإضافة إلى الأنزيمات (الليسيثيناز – السيانيداز –الكلوستربين–الكولاجيناز – Tpel_Net) التي تؤثر في مورفولوجيا الخلية وتحدث تغيير في انتظام الموصلات الخلوية والصفيحة القاعدية في بطانة الأوعية الدموية ما يؤدي إلى تسرب مصل الدم إلى تجاويف الجسم أو البلازما مع الألبومين والفيبرينوجين وبروتينات الدم الأخرى وصولاً في التأذي إلى تسرب دموي مع كريات الدم الحمراء في المنطقة المتضررة وهذا ما يتوافق مع (Songer, 1996) و(Finnie *et al.,* 1999).

كما يمكن أن يفسر ملاحظة انتشار النخر في الغشاء المخاطي للأمعاء بشكل واسع لذات التأثير على الخلايا المبطنة للأمعاء، حيث يقع عليها الضرر الذي ينتج عنه تنكس مائي أو فجوي مختلف الشدّة في الخلايا ومن ثم النخر، حيث يبدأ في الأمعاء من قمم الزغابات المعوية ويتطور إلى نخر في المخاطية وهذا ما يتوافق مع (Popoff, 1984) قد يتطور الالتهاب المخاطي إلى التهاب تقرحي وتجمع كبير لسائل مدمم وخثرات فيبرينية ناتج عن تحطم الخلايا بفعل الذيفانات ما ينجم عنه التهاب الأمعاء الدفتريائي الكاذب وهذا ما يتوافق مع كل من (Quinn *et al.,* 2004) و (UzaL *et al.*, 2022).

يفسر الشحوب في لون الكبد المسجل في أغلب الحالات المدروسة وتضخم حجمه وظهوره بمظهر باهت مصفر ما يدل على تأذي خلوي في الكبد ووجود بؤر تنكسية أو نخرية ويقود ذلك إلى إعاقة في عمل الخليّة الكبديّة وتراكم الغليسيريدات الثلاثية والدهون والغليكوجين التي تسبب تأذي الخلايا الكبدية التي تعمل على عمليات الاستقلاب ومعادلة السموم ما ينجم عن ذلك التنكس الدهني في الكبد وهذا ما أكده (Brown *et al.*, 2007).

كما يعزى وجود النزف النقطي أو الكدمي على القلب وكذلك في الكبد وأنسجة الكلية بفعل التأذي المطبق على أنسجة الجسم بفعل الذيفانات التي تعمل على تضرر الخلايا المبطنة للأوعية الدموية في القلب والخلايا العضلية القلبية ما يسبب تسرب الدم عبر البطانة المتضررة للأوعية الدموية كما فسرها (Songer, 2006)، ويختلف نوع النزف من نقطي إلى كدمي حسب شدة الاصابة وسير المرض.

إن ملاحظة السماكة في محفظة الكلية يدل على حالة الإزمان في الاصابة، الأمر الذي أدى إلى تطور الإصابة وتضرر الأنسجة الشديد الذي سمح بنزوح ألياف الفيبرين مع المصل وتوضعها على محفظة الكلية، وهذا يتوافق مع ما ذكره (Brown *et al.*, 2007) .

كما يفسر حدوث ليونة في قوام الكلية التي كانت عجينية رخوة في ملمسها ومقطعها (في حالة واحدة من حيوانات الدراسة) بتأثير الذيفانات والذيفان إبسيلون (ETX) على وجه الخصوص على بروتينات الخلايا الكلوية والفوسفوليبدات والكولاجين الذي يعمل على تحللها ما يؤدي إلى تلين ورخاوة في أنسجة الكلية، كما تتضرر مكونات الخلايا والأنسجة بفعل الأنزيمات التي تفرزها الجراثيم الحاطمة وتأثيرها المحلل على الجيلاتين والكازائين والهيموغلوبين، وتشير تلك التأثيرات مجتمعة إلى أن نمط الإصابة هو من النمط D الذي يتميز بافراز الذيفان إبسلون المسبب للكلية الرخوة، يتوافق ذلك مع ما وجده كل من الباحثين (Quinn *et al.,* 2004)، (Brown *et al.*, 2007)، (Uzal *et al.*, 2022).

وجد من خلال نتائج الفحص المجهري نخر في ظهارة الأمعاء ونخر في الزغابات المعوية في جميع الحالات الخمس المدروسة وهذا ما يؤكد نتائج الفحص الجرثومي والفحص التشريحي والأعراض الظاهرة وهذا ما يتوافق مع (Uzal *et al.*, 2022)،

حيث تتسبب ذيفانات المطثية الحاطمة بتخريب الخلايا المبطنة للأمعاء كما تسبب نخر في الصفيحة المخصوصة وقد يصل الضرر إلى طبقات نسيج الأمعاء كافةً (Finnie *et al.,* 1999)، حيث لوحظ أيضاً احتقان في الأوعية الدموية وتنكس فجوي في الخلايا المعوية وملاحظة تجمعات لخلايا التهابية مختلفة كرد فعل التهابي ضد المسبب ومن الملاحظ السيادة لخلايا العدلات على الخلايا الأخرى وهذا يدل على سير المرض الحاد، كما ترافقت خلايا العدلات في بعض الأحيان بالخلايا الحمضات التي تتواجد عادة في الإصابات الناتجة عن الإصابات التحسسية أو الطفيلية.

الإستنتاجات Conclusions

1. تعد جراثيم المطثية الحاطمة المسببة لمرض التذيفن الدموي المعوي جراثيم انتهازيّة ويدل عزلها من أماكن أخرى من الجسم على تطور الحالة من جراثيم متعايشة إلى جراثيم ممرضة وعلى أن الإصابة مؤكدة في الحيوان.
2. يظهر مرض التذيفن الدموي المعوي أعراضاً حقيلة قبل النفوق أمكن تشخيصها في هذا البحث، تفاوتت شدتها وتكرارها وتنوعها من حالة لأخرى، واشتركت بعض الأعراض في أغلب الحالات المدروسة مثل (اللهاث–الإستلقاء على الأرض–المغص الشديد– الدفع بالأرجل للأمام والراس للخلف–ضعف الشهية– ارتخاء القوائم الأربعة)، بينما أظهرت حالات قليلة النفوق المفاجئ بدون أي عرض سابق (اصابة فوق حادة)، إن تشخيص الإصابة من خلال الأعراض الظاهرة الملاحظة على الأغنام قبل النفوق يفيد في عمل الإحترازات الطبية التي تخفف من نسبة النفوق.

3. بينت الأعراض التشريحية تأثير الممرض على أغلب أعضاء الجسم، إذ يؤدي انتقال الذيفانات إلى مجرى الدم بعد تطور الإصابة إلى التسبب في تحلل الدم والتنكس والنخر والنزف على الأعضاء كافة ما يؤدي إلى تعطل وظائفها ثم نفوق الحيوان.

4. تحدد الأعراض التشريحية سير المرض في أفراد القطيع (فوق حاد أو حاد أو تحت حاد أو مزمن)، إذ ينتشر المرض وتزداد نسب النفوق خلال فترة قصيرة بين القطيع (خلال بضعة أشهر في هذه الدراسة)، وبالتالي ضرورة القيام بالإجراءات الاحترازية لتخفيف نسبة الإصابة والنفوق بهذا المرض.

المراجع العربية:

حمد، محمد علي. (2010). دراسة جرثومية لأخماج المطثيّة الحاطمة عند الأغنام في سورية. رسالة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة حماة، (167 صفحة).

المراجع الإنكليزية:

1. Brown C, DC Baker, IK Baker. (2007). Alimentary System in Jubb, Kennedy Palmer's: Pathology of domestic animals. 5th Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia.

2. Duchesne`s C. PE Granum, MG Menozzi, M Peck, S Pelkonen, M Popoff, E Stackebrandt, R Titball. (2006). European Commission-European Concerted Action QLK2-CT2001-01267: Clostridia in medical, veterinary and food microbiology Diagnosis and typing Key Action 2 – Control of infectious diseases EUR 21463 EN.

3. Finnie JW, PC Blumbergs, J Manavis. (1999). Neuronal damage produced in rat brains by Clostridium perfringens type D epsilon toxin. J Comp Pathol. 120(4): 415-20.

4. Finnie JW, MA Navarro, FA Uzal. (2020). Pathogenesis and diagnostic features of brain and ophthalmic damage produced by Clostridium perfringens type D epsilon toxin. https://orcid.org/0000-0003-0681-1878.

5. Hussein HA, YO El-Amir, AA Aemer, SK Abd Elghaffar. (2013). Bacillary hemoglobinuria in dairy cows: clinical,

hematological, biochemical, and pathological alterations. Comp Clin Pathol 22:1137–1143.

6. Johansson A. (2006). Clostridium perfringens the causal agent of necrotic enteritis in poultry. Doctoral thesis; Swedish University of Agricultural Sciences.Pp; 12-14.

7. Letko A, B Strugnell, IM Häfliger, JM Paris, K Waine, C Drögemüller. (2021). Compound heterozygous PLA2G6 loss‐of‐function variants in Swaledale sheep with neuroaxonal dystrophy. In Molecular Genetics and Genomics. (2021) 296:235–242 https://doi.org/10.1007/s00438-020-01742-1

8. McDonel JL, F Dorner, J Drwes. (1986). Toxins of Clostridium perfrinens types A, B, C, D, and E, p. 477-517. In (ed.), Pharmacology of bacterial toxins. Pergamon Press, Oxford.

9. Nazki S, SA Wani, R Parveen, SA Ahangar, ZA Kashoo, S Hamid, ZA Dar, TA Dar, PA Dar. (2021). Isolation molecular characterization and prevalence of Clostridium perfringens in sheep and goats of Kashmir Himalayas, India.

10. (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

11. 10. Quinn PJ, BK Markey, ME Carter, WJC Donnelly, FC Leonard. (2003). Veterinary Microbiology and Microbial Diseases. Blackwell publi-shing Company .USA.Pp.84-96.

12. 11. Quinn PJ, ME Carter, B Markey, GR Carter. (2004). Clinical Veterinary Microbiology 6th ed. Mosby. Edinburgh, Newyork. Pp. 191-208.

13. 12. Senthilkumar V, M Thirunavukkarasu, G Kathiravan. (2008). Economic losses due to enterotoxaemia in sheep. Indian J.Sci. Techol. 1(6): 1-3.

14. 13. Songer JG. (1996). Clostridial Enteric Diseases of Domestic Animals. Clinical Microbiology Reviewos.9(2): 216-234.

15. 14. Songer JG. C Duchesnes, PE Granum, MG Menozzi, M Peck, S Pelkonen, M Popof, E Stackebrandt, R Titball. (2006). Clostridial abomasitis in: European Commissin-European Concerted Action QLK 2-CT2001-01267: Clostridia in medical, veterinary and food micro-biology Diagnosis and typing Key Action 2-Control of infect. Dis. EUR 21463 EN.

16. 15. Timoney JF, JH Gillespie, FW Scott, JE Barlough. (1988). Hagan and Bruner`s microbiology and infectious diseases of domestic animals. Comstock Puplishing Associates, Ithaca, N.Y. Pp;221-223.

17. 16. Uzal FA, JG Songer. (2008). Diagnosis of Clostridium perfringens Intestinal Infections in Sheep and Goats. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 2008; 20:253-265.

18. 17. Uzal FA, F Giannitti, J Asin. (2022). Yellow Lamb Disease (Clostridium perfringens Type A Enterotoxemia of Sheep): A Review. Animals (Basel). 2022 Jun 20; 12(12). PMID: 35739925; PMCID: PMC9219707

19. 18. Van Metre DC. (2006). Clostridial Infections of the Ruminant GI Tract. In: NAVC Proceedings, North American Veterinary Conference Publi-sher: NAVC (www.tnavc.org).Internet Publi-sher: International Veterinary Information Service, Ithaca NY(www.ivis.org).