



الجمهورية العربية السورية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
جامعة حماة
كلية الطب البيطري
قسم التشريح المرضي

التغيرات التشريحية المرضية الناتجة عن التذيفن الدموي المعوي المسبب بالمطثية الحاطمة عند أغنام العواس

رسالة أعدت لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية
اختصاص التشريح المرضي

اعداد طالبة الدراسات العليا
الدكتورة البيطرية

لولو غالب شعيرة

الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية

بإشراف:

د. أشرف الصالح

(مُشرفاً مشاركاً)

مدرس في قسم الأحياء الدقيقة
كلية الطب البيطري - جامعة حماة

د. واصلف الوسوف

(مُشرفاً علمياً)

أستاذ مساعد في قسم التشريح المرضي
كلية الطب البيطري - جامعة حماة

2025 م - 1446 هـ

Syrian Arab Republic
Hama University
Faculty of Vet.- Medicine



الجمهورية العربية السورية
جامعة حماة
كلية الطب البيطري

هاتف: 2510180 - 2510181 0096333 - فاكس: 00963332510514 - بريد الكتروني: vet-med@net.sy

الأستاذ الدكتور عميد كلية الطب البيطري

بعد الاطلاع على الأطروحة المعدلة من رسالة الماجستير المقدمة من قبل المرشحة لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية الطبية البيطرية طالبة الدراسات العليا لولو شعيرة في قسم التشريح المرضي اختصاص (التشريح المرضي) بعنوان:

**/ التغيرات التشريحية المرضية الناتجة عن التذيق الدموي المعوي المسبب بالمطثية الحاملة عند
أغنام العواس /**

نفيدكم بأن الأطروحة بشكلها الحالي قد استوفت التعديلات التي أشارت لها لجنة الحكم والمناقشة التي عقدت يوم الاثنين بتاريخ 2025/1/20 لمناقشة الرسالة، ونعتبر أن الرسالة بهذه الصورة جاهزة للطباعة بشكلها النهائي.

2025/ /

يرجى الاطلاع

وتفضلوا بقبول فائق الاحترام والتقدير

رئيس اللجنة

أ. د. سامر إبراهيم

عضو

أ. د. وديع شديد

عضو

أ. م. د. واصف الوسوف

رئيس قسم التشريح المرضي

أ. م. د. واصف الوسوف

مصدق

عميد كلية الطب البيطري

أ. د. عبد الكريم قلب اللوز





قرار لجنة الحكم والمناقشة

استناداً إلى قرار مجلس الشؤن العلمية رقم (62) المتخذ بالجلسة رقم (4) للعام الدراسي 2025/2024 المنعقدة بتاريخ 3/ جمادى الأولى / 1446 هـ الموافق 2024/11/5 م القاضي بتشكيل لجنة الحكم والمناقشة لرسالة الماجستير للطالبة لولو شعيره بعنوان:

/ التغيرات التشريحية المرضية الناتجة عن التذيقن الدموي المعوي المسبب بالمطثية الحاطمة عند أغنام العواس /

ويعد عرض الرسالة ومزدها ومناقشتها، اجتمعت لجنة الحكم والمناقشة بتاريخ 2025/1/20 ويعد المداولة قررت اللجنة ترشيح طالبة الدراسات العليا لولو شعيره لنيل درجة الماجستير في العلوم الطبية البيطرية - اختصاص (التشريح المرضي) بتقدير عام (جيد جداً) وبدرجة (75.21) .
وتوصي اللجنة بصرف تكاليف طباعة الأطروحة على نفقة الجامعة نظراً للجهد الذي بذلته الطالبة والتكاليف التي تكبدتها إضافة إلى تناولها موضوعاً حساساً من الناحية الاقتصادية في القطر .

التوقيع

أعضاء اللجنة:

أ.د. سامر إبراهيم
اختصاص تشخيص مخبري
كلية الطب البيطري - جامعة حماة

أ.د. وديع شدييد
اختصاص التشريح المرضي
كلية الطب البيطري - جامعة حماة

أ.م.د. واصف الوصفوف
اختصاص تشريح مرضي
كلية الطب البيطري - جامعة حماة

شكر وتقدير

بسم الله والحمد والشكر لله العليّ القدير الذي أسبغ نعمه ظاهره وباطنه، والذي شرح بنوره الصدور وأقرّ بفضلِهِ العيون، الحمد لله في البدء على ما كان في البدء، والحمد لله على ما أتمّ فبلغت بفضلِهِ حسن مختتم.

وإنّي لأشكر والديّ من بعد شكري لله لما أتبع فريضة عبادته بأن نتخذ بالوالدين إحساناً.

والصلاة والسلام على من بعثه هادياً ومبشراً ونذيراً وداعياً إلى الحق بإذنه وسراجاً منيراً.

وإنني أستدرك على ما سبق فأقدّم الشكر إلى السيد العميد الأستاذ الدكتور عبد الكريم قلب اللوز والنائب العلمي الدكتور عبد الكريم حلاق، وكذا الشكر موصول إلى الأساتذة الأفاضل أعضاء الهيئة التدريسية في كلية الطب البيطري والسادة المشرفين على البحث الدكتور واصف الوسوف والدكتور أشرف الصالح والدكتور عماد الحوراني.

كما يوازي ذلك خالص الشكر والتقدير إلى الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية ممثلةً بالسيد المدير العام الدكتور أسامة العبد الله.

ثم أخص بالشكر أعضاء لجنة الحكم والمناقشة كلّ باسمه وكلّ بمقامه:

الأستاذ الدكتور سامر إبراهيم اختصاص التشخيص المخبري في كلية الطب البيطري – جامعة حماة. رئيساً

الأستاذ الدكتور وديع شديد اختصاص التشريح المرضي عميد كلية الطب البيطري فرع درعا- جامعة دمشق- عضواً

الأستاذ المساعد واصف الوسوف اختصاص التشريح المرضي رئيس قسم التشريح المرضي في كلية الطب البيطري في جامعة حماة- مشرفاً وعضواً.

إهداء

مع خالص الامتنان وفائق الاحترام والتقدير أهدي هذا العمل إلى من قدم لي العون والمساندة وكان الكف
الثابت الذي لا يميل، وهم أشخاص كنجوم أضأت لي دربي، وكورود فاح عيرها على طول مسيرتي البحثية.
وهو من كل بستان زهرة.

إلى عائلتي الكريمة وعلى رأسها والدي العزيز المربي الفاضل الأستاذ غالب شعيرة أطل الله في عمره وأسبغ عليه
من واسع فضله.

إلى كلية الطب البيطري وعميد الكلية الأستاذ الدكتور عبد الكريم قلب اللوز حفظه الله ورفع درجاته.

إلى الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية

شهادة

أشهد بأن العمل الموصوف في هذه الأطروحة هو نتيجة بحث قام به المرشح طالبة
الدراسات العليا الطبية البيطرية في الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية لولو غالب
شعيرة أطل الله في عمره وأسبغ عليه من واسع فضله.

أصرح بأن هذا البحث الموسوم بعنوان:
(التغيرات التشريحية المرضية الناتجة عن التذيفن الدموي المعوي المسبب

**لم يسبق أن قبل للحصول على أي شهادة ولا هو مقدم حالياً للحصول على
شهادة أخرى.**

المرشح
لولو شعيرة

DECLARATION

It is hereby declared that this work under title:
"Histopathological Changes Resulting from Enterotoxemia
Caused by *Clostridium perfringens* in Awssi sheep"
has not already been accepted for any degree, nor is being
submitted concurrently for any other degree.

Candidate

إلى كلية الطب البيطري

مقدمه : مديحة محمد جمال صوي الحاصلة على درجة الإجازة في اللغة العربية وآدابها وذلك
بنتيجة امتحانات العام الدراسي 2015- 2014 أود إعلامكم أنني قد أتممت تدقيق بحث
الماجستير العائد لطالبة الماجستير لولو شعيرة الموسوم بعنوان:
التغيرات التشريحية المرضية الناتجة عن التذيق الدموي المعوي المسبب بالمطثية الحاطمة عند
أغنام العواس

يرجى الاطلاع

مقدمه:

مديحة صوي



فهرس المحتويات

الموضوع	الصفحة
الغلاف	i
قرار لجنة الحكم والمناقشة بجاهزية الأطروحة بعد التعديلات المطلوبة	ii
قرار لجنة الحكم والمناقشة بنيل درجة الماجستير	lii
شكر وتقدير	lv
إهداء	v
شهادة	vi
تصريح	vii
كتاب اللغة العربية	viii
فهرس المحتويات	xiii
فهرس الصور	xv
فهرس الجداول	xvi
فهرس المخططات	xvii
الملخص باللغة العربية	xviii
1- المقدمة	1
1-1- أهداف البحث	2
2- الدراسة المرجعية	5
1-2- لمحة تاريخية عن المرض	6
2-2- تاريخ تسمية المطثيات	6
2-3- العوامل المهيئة للإصابة بمرض التذيفن الدموي المعوي	6
2-4- العامل المسبب لمرض التذيفن الدموي المعوي	8
2-4-1- تصنيف المطثيات	8
2-4-2- أنواع الممرضات الكبرى ضمن جنس المطثيات	10
2-5- الصفات الرئيسية للمطثية الحاطمة	11
2-6- عيوشية المطثية الحاطمة	12
2-7- الخواص الجينية للمطثية الحاطمة	13
2-8- ذيفانات المطثية الحاطمة	14
2-8-1- الذيفان ألفا	14
2-8-2- الذيفان بيتا	15

15	2-8-3 - الـذيفان إبسيلون
15	2-8-4 - الـذيفان أيوتا
16	2-8-5 - الـذيفان المعوي
16	2-8-6 - الـذيفان بيتا 2
16	2-8-7 - الـذيفان ثيتا
17	2-9-9 - عوامل الفوعة للمطثية الحاطمة
17	2-9-1 - ذيفان كابا
17	2-9-2 - ذيفان لامبدا
18	2-9-3 - ذيفان NetB
18	2-9-4 - ذيفان Tpel
18	2-9-5 - ذيفان ميو
18	2-9-6 - ذيفان نيو
18	2-9-7 - ذيفان السياليداز
18	2-9-8 - ذيفان الكلوستريين والكولاجيناز
19	2-10 - السراية والحوامل والنواقل للمطثية الحاطمة
20	2-11 - الآلية الإمراضية لجراثيم المطثية الحاطمة ودورها في الإصابة بمرض التذيفن الدموي المعوي
21	2-12 - العلامات الاكلينيكية والصفات التشريحية العيانية والنسجية لأنماط المطثية الحاطمة عند أغنام العواس
21	2-12-1 - التذيفن الدموي المعوي من النمط A
23	2-12-2 - التذيفن الدموي المعوي من النمط B
23	2-12-3 - التذيفن الدموي المعوي من النمط C
25	2-12-4 - التذيفن الدموي المعوي من النمط D
28	2-12-5 - التذيفن الدموي المعوي من النمط E
28	2-12-6 - التذيفن الدموي المعوي من النمط F
28	2-12-7 - التذيفن الدموي المعوي من النمط G
29	2-13 - التشخيص
29	2-13-1 - الأعراض الاكلينيكية والصفة التشريحية
30	2-13-2 - تشخيص ردود الفعل الالتهابية الخلوية

32	2-13-3- وجود الخلايا البدينة في الأنسجة
34	3- مواد وطرائق البحث
35	3-1- المواد
35	3-1-1- بيئة العمل
35	3-1-2- الأغنام المدروسة
36	3-1-3- المواد المستخدمة في الفحص الجرثومي
36	3-1-3-1- المنابت المستخدمة في الفحص الجرثومي
36	3-1-3-1-1- وسط الثيوغليكولات
37	3-1-3-1-2- وسط SPS
37	3-1-3-1-3- وسط الآغار الدموي
37	3-1-3-1-4- وسط ماء الببتون
37	3-1-3-1-5- المواد والوسائط المستخدمة في الاختبارات الكيميائية
37	3-1-3-2- الصبغات المستخدمة في الفحص الجرثومي
37	3-1-3-2-1- صبغة غرام
38	3-1-3-2-2- صبغة راكت
38	3-1-4- المواد المستخدمة في العمل المخبري النسيجي
38	3-1-4-1- المحاليل اللازمة للعمل المخبري النسيجي
38	3-1-4-1-1- الفورمالين
38	3-1-4-1-2- كحول إيثيلي مطلق
38	3-1-4-1-3- الزايلول
38	3-1-4-2- شمع البرافين
38	3-1-4-3- صبغة الهيماتوكسيلين
38	3-1-4-4- صبغة الأيوزين
39	3-1-4-5- صبغة أزرق التلودين
39	3-2- الطرائق
39	3-2-1- طرائق العمل للفحص الجرثومي
39	3-2-1-1- طريقة أخذ العينات
40	3-2-1-2- المسحات المباشرة
40	3-2-1-3- تحضير الأوساط الزرعية المستخدمة في الفحص الجرثومي

40	3-2-1-3-1- تحضير وسط ماء الببتون
40	3-2-1-3-2- تحضير وسط الثيوغليكولات
40	3-2-1-3-3- تحضير وسط الآغار الدموي
41	3-2-1-3-4- تحضير وسط SPS
41	3-2-1-4- تحضير الأوساط والمواد اللازمة للاختبارات البيوكيميائية
41	3-2-1-4-1- اختبار الكاتالاز
41	3-2-1-4-2- اختبار الأوكسيداز
41	3-2-1-4-3- اختبار الإندول
41	3-2-1-4-4- اختبار تخمر السكاكر
41	3-2-1-5- إجراءات زرع وعزل المطثية الحاطمة
44	3-2-1-5-1- دراسة الخواص الشكلية والتلوينية
45	3-2-1-5-2- دراسة الخواص البيوكيميائية لمستعمرات المطثية الحاطمة المعزولة
46	3-2-2- فحص التغيرات التشريحية المرضية
46	3-2-2-1- الأعراض الاكلينيكية والصفات العيانية
46	3-2-2-2- تحضير المقاطع النسيجية للفحص النسيجي
49	3-3- التحليل الاحصائي
50	4- النتائج
51	4-1- نتائج العزل الجرثومي
53	4-1-1- نتائج التحليل الاحصائي للعزل الجرثومي
54	4-2- العلامات الاكلينيكية التي ظهرت على الأغنام المصابة
54	4-2-2- التغيرات التشريحية المرضية العيانية الخارجية
55	4-2-3- الوصف التشريحي العياني لأغنام الشاهد السليم
55	4-2-4- الصفات التشريحية المرضية العيانية الداخلية للأغنام المصابة
62	4-3- نتائج التغيرات التشريحية المرضية النسيجية المجهرية
62	4-3-1- الوصف التشريحي والعياني للعينات في مجموعة أغنام الشاهد
62	4-3-2- وجود الخلايا الالتهابية والخلايا البدينة في المقاطع النسيجية لأغنام الشاهد
62	4-3-3- نتائج التغيرات التشريحية المرضية النسيجية للأغنام المصابة
62	4-3-2-1- نتائج التغيرات التشريحية المرضية في نسيج الأمعاء
63	4-3-2-3-1- ردود الفعل الالتهابية الخلوية في نسيج الأمعاء

67	4-3-2-1-2- وجود الخلايا البدنية في نسيج الأمعاء
67	4-3-2-2- التغيرات التشريحية المرضية النسيجية في الكبد
68	4-3-2-2-1- ردود الفعل الالتهابية في نسيج الكبد
70	4-3-2-2-2- وجود الخلايا البدنية في نسيج الكبد
71	4-3-2-3- التغيرات التشريحية المرضية النسيجية في الكلية
71	4-3-2-1- ردود الفعل الالتهابية الخلوية في نسيج الكلية
74	4-3-2-2- وجود الخلايا البدنية في نسيج الكلية
75	4-3-4- نتائج التحليل الاحصائي النسيجي في الأعضاء المدروسة
78	5- المناقشة
89	6- الاستنتاجات
91	7- التوصيات والمقترحات
93	8- المراجع
102	الملخص باللغة الإنكليزية

فهرس الصور

الصفحة	عنوان الصورة
31	2-1- صورة توضيحية للخلايا المحببة والخلايا وحيدة النواة
31	2-2- الخلايا الالتهابية في الكبد عند الأغنام
32	2-3- مقطع نسيجي-الخلايا البلعمية في الكبد
32	2-4- الاثنى عشر عند الأغنام-خلايا التهابية مختلفة
43	3-1- مغلفات الزرع اللاهوائي-أنابيب الثيوغليكولات-التحضير اللاهوائي
44	3-2- تحضير أطباق الآغار المدمى
44	3-3- تحضير أطباق وسط SPS
45	3-4- الزرع والتنقية
47	3-5- العينات المثبتة في الفورمالين
48	3-6- تمرير العينات في الكحول والزايلول
48	3-7- الإدماج بشمع البرافين
48	3-8- صبغة أزرق التلودين
52	4-1- مستعمرات رمادية على وسط SPS
52	4-2- تحليل دموي ثنائي النطاق على الآغار الدموي
52	4-3- مستعمرات المطثية الحاطمة سلبية الأوكسيداز
52	4-4- عصيات المطثية الحاطمة إيجابية الغرام
53	4-5- اختبار تخمر السكاكر
55	4-6- نزف دموي من الأنف والفم عند الأغنام المصابة
55	4-7- الصفات التشريحية العيانية لأغنام الشاهد
59-60-61	4-8- التغيرات التشريحية المرضية العيانية للأغنام المصابة
64	4-9- احتقان الأوعية الدموية المعوية
64	4-10- تنكس مائي في نسيج معوي
64	4-11- تآكل في الزغابات المعوية- نخر في الأمعاء
64	4-12- نخر في الأمعاء -لطخ باير
65	4-13- وجود كثيف للخلايا العدلة في نسيج معوي
65	4-14- خلايا التهابية في نسيج معوي
66	4-15- خلايا التهابية-تنكس بروتيني في نسيج معوي

67	4-16- خلية بدينة في نسيج أمعاء شاهد
67	4-17- خلايا بدينة في نسيج أمعاء لأغنام مصابة
69	4-18- احتقان الجيبانات الكبدية -تغلظ الأنوية
69	4-19- تنكس بروتيني في الكبد
69	4-20- تورم غيمي- تنكس فجوي-تنكس دهني في الكبد
69	4-21- نخر في خلايا الكبد
70	4-22- خلايا التهابية-تنكس-احتقان في الخلايا الكبدية
70	4-23- خلايا التهابية السائد عليها العدلات-تنكس دهني في الكبد
70	4-24- خلية بدينة في نسيج الكبد-شاهد
70	4-25- الخلايا البدينة في نسيج الكبد لأغنام نافقة
72	4-26- احتقان - تغلظ الأنوية في نسيج الكلية
72	4-27- تنكس مائي فجوي في ظهارة النبيبات الكلوية
72	4-28- خضاب الدم في لمعة الأنابيب الكلوية والأوعية الدموية الكلوية
72	4-29- نخر في بطانة النبيبات الكلوية
72	4-30- احتقان شديد-نزف شديد-نخر شديد-خضاب الدم في لمعة النبيبات الكلوية
73	4-31- خلايا التهابية في نسيج الكلية لأغنام مصابة
73	4-32- وجود كثيف للعدلات في وعاء دموي في الكلية
73	4-33- نخر في الكلية مع وجود كثيف للعدلات
73	4-34- نخر -اتساع في فراغ بومان-وجود كثيف للعدلات
74	4-35- خلية بدينة في نسيج الكلية-شاهد
74	4-36- خلايا بدينة في نسيج الكلية-أغنام مصابة
88	5-1- تظهر خلية قاعدية إلى جانب خلية بدينة بصبغة أزرق التلودين

فهرس الجداول

الصفحة	عنوان الجدول
11	2-1- الأنواع الخمس الأكثر خطورة من الممرضات الكبرى من جنس المطثيات
17	2-2- الذيفانات الأكثر أهمية في التأثير الإيمراضى لجراثيم المطثية الحاطمة
19	2-3- عوامل الفوعة الأكثر أهمية لبعض ذرارى المطثية الحاطمة
36	3-1- الحالات المشتبهة المدروسة وجنسها وعمرها ووزنها وشهر النفوق ولقاح الحاطمة
43	3-2- الاختبارات الكيمياءحيوية للمطثية الحاطمة
51	4-1- نتائج الفحص الجرثومى للعينات من الشاهد والعينات من الأغنام المشتبهة
57-56	4-2- التغيرات التشريحية المرضية العيانية فى الأغنام المشتبهة
63	4-3- أنواع الخلايا الالتهابية فى مقاطع نسيج الأمعاء للأغنام المصابة
68	4-3- أنواع الخلايا الالتهابية فى مقاطع نسيج الكبد للأغنام المصابة
71	4-3- أنواع الخلايا الالتهابية فى مقاطع نسيج الكلية للأغنام المصابة

فهرس المخطاط

الصفحة	عنوان المخطط
54	4-1- النتائج الإحصائية للزرع الجرثومي
75	4-2- النتائج الإحصائية للتغيرات المرضية العيانية
75	4-3- النتائج الإحصائية للتغيرات المرضية العيانية
76	4-4- النتائج الإحصائية لوجود الخلايا الالتهابية والتنكس والنخر في الأمعاء
76	4-5- النتائج الإحصائية لوجود الخلايا الالتهابية والتنكس والنخر في الكبد
77	4-6- النتائج الإحصائية لوجود الخلايا الالتهابية والتنكس والنخر في الكلية
77	4-7- النتائج الإحصائية لوجود الخلايا البدنية في الأنسجة المدروسة

التغيرات التشريحية المرضية الناتجة عن التذيفن الدموي المعوي المسبب بالمطثية الحاطمة عند أغنام العواس

الملخص:

يُعد مرض التذيفن الدموي المعوي المسبب بجراثيم المطثية الحاطمة أحد أهم الأمراض المعدية التي تصيب قطعان الأغنام وبخاصة الأغنام في سورية وهو يسبب خسائر اقتصادية فادحة نتيجة النفوق المفاجئ للأغنام وارتفاع تكاليف الوقاية والسيطرة، ومن هنا كان هذا البحث الذي هدف الى دراسة التغيرات التشريحية المرضية العيانية والمجهريّة وردود الفعل الالتهابية الناتجة عن الإصابة بجراثيم المطثية الحاطمة عند أغنام العواس المدروسة.

جمعت العينات من (16) رأس من الأغنام النافقة بشكل مفاجئ من قطعان التربية المحسنة في مركز البحوث العلمية الزراعية بحماة ضمن نظام تربية شبه مكثفة في حظائر نصف مفتوحة، واستكملت الدراسة في جامعة حماة- كلية الطب البيطري.

تم عزل وتحديد هوية جراثيم المطثية الحاطمة من جميع العينات المأخوذة من الحالات النافقة المشتبهة بالمرض، وقد أظهرت الحالات المدروسة أعراضاً إكلينيكية كان أهمها الاختلاجات العصبية والاستلقاء على الأرض والدفع بالقوائم الأربعة للأمام والرأس إلى الخلف. كما لوحظ صفات تشريحية مرضية عيانية كان أهمها التهاب الأمعاء النخري والنزفي، وامتلاء الحويصل الصفراوي واحتقان الأعضاء الداخلية، وقد لوحظ نزف على الكبد والكلية والقلب وأعضاء أخرى، كما لوحظ شحوب الكبد والكلية وهشاشة في قوامها، وسوائل مصلية إلى دموية في تجاويف الجسم في أغلب الحالات، كما وجدت الكلية بلون قاتم بقوام عيني رخو (الكلية الرخوة) في بعض الحالات. سجلت التغيرات التشريحية المرضية المجهريّة في الأمعاء والكبد والكلية، حيث وجد تآكل في الطبقات النسيجية للأمعاء وتنكس فجوي وبروتيني في خلايا الأنسجة المدروسة، كما وجد نخر في بطانة النبيبات الكلوية، ولوحظ في المقاطع النسيجية للكبد احتقان الجيبانات الكبدية والأوردة المركزية ونزف في بعض الحالات. شوهد في جميع العينات ارتشاح شديد للخلايا الالتهابية السائد عليها الخلايا العدلات، بالإضافة إلى وجود بعض البلاعم في بعض الحالات وبعض الخلايا المصورية في بعضها الآخر وبعض اللمفاويات في أخرى. كما لوحظ وجود كثيف لخلايا التهابية متنوعة تحت محفظة الكلية، وتنكس ونخر في بطانة النبيبات والكبيبات الكلوية مع وجود كثيف للعدلات، والتهاب في النسيج الخلالي الكلوي مع تجمعات لخلايا التهابية من عدلات وحمضات ولمفاويات وبلاعم. كما وُجد تنكس ونخر في الخلايا الكبدية مع كثافة للخلايا العدلة والمصورية في بعض الحالات، وقد ترافق مع كثافة في الخلايا العدلة كثافة الخلايا البلمعية في أخرى، ووجود كثيف للعدلات في أشباه الجيوب الكبدية وبعض الخلايا المصورية في أخرى، كما لوحظ تنكس مع وجود لخلايا التهابية السائد عليها العدلات مع بعض الحمضات والبلاعم في أخرى. لوحظ زيادة الخلايا البدينة بالإضافة إلى ما سبق، حيث وجد زيادة في أعدادها التي تراوحت ما بين 2 إلى 70 خلية في المقطع النسيجي الواحد من العينات المأخوذة من الحالات النافقة.

تُبين هذه النتائج أهمية دراسة الصفات التشريحية العيانية والنسجية في تشخيص الإصابة بالتذيفن الدموي المعوي بالإضافة إلى إجراء الفحص الجرثومي للتأكد من هويّة المسبب وملاحظة الأعراض الظاهرة قبل النفوق.

الكلمات المفتاحية: التغيرات التشريحية المرضية، ردود الفعل الالتهابية، التذيفن الدموي المعوي، أغنام العواس، المطثية الحاطمة.

المقدمة

Introduction

1- المقدمة Introduction:

يتمتع قطاع الانتاج الحيواني بأهمية مميزة في الاقتصاد السوري حيث يسهم بشكل كبير في الناتج الوطني ويعد أحد الدعامات الأساسية في الاكتفاء الذاتي لما يؤديه من دور أساسي في توفير المواد الغذائية للمجتمع السكاني سواء من الحليب أو اللحم حيث يتراوح عدد سكان سورية 28525333/ نسمة، حسب المكتب المركزي للإحصاء (28/11/2023).

تعد تربية الأغنام والأبقار والماعز عماد الانتاج الحيواني في سورية حيث تم احصاء أكثر من 17847163/ رأس من الأغنام وأكثر من 1190000/ رأس من الماعز في سورية وذلك في عام 2022 (المجموعة الإحصائية لعام 2022_ وزارة الزراعة (2022)).

إنّ من أهم العوامل التي تعيق تطور الثروة الحيوانية هي الأمراض المعدية وما تسببه من خسائر اقتصادية كبيرة نتيجة النفوق وانخفاض كفاءة الإنتاج، كما تساهم أدوات السيطرة ومعالجة الأمراض في زيادة تلك الخسائر (Senthilkumar et al., 2008) ويعد مرض التذيفن الدموي المعوي Enterotoxemia Clostridial أحد أهم الأمراض المعدية المستوطنة المسببة للموت المفاجئ والتي تصيب قطعان الأغنام والماعز محدثة خسائر اقتصادية كبيرة سواء بارتفاع تكاليف العلاج والسيطرة والوقاية أو بمعدل النفوق المرتفع والذي قد يصل إلى 100% في الحالات الحادة للمرض (Songer, 2006).

تسبب جراثيم المطثية الحاطمة *perfringens* *Clostridium* مرض التذيفن الدموي المعوي وما تفرزه من ذيفانات خارجية، حيث تمتلك جراثيم المطثية الحاطمة سبع أنماط مصلية وهي (A, B, C, D, E, F, G) وبدورها تفرز العديد من الذيفانات الخارجية والأنزيمات والتي تعد أهم عوامل إمرضيتها، حيث يرتبط الذيفان ألفا *Alpha toxin* *Clostridium* (CPA) الذي تفرزه المطثية الحاطمة من النمط A ومن جميع الأنماط مع الأمراض المعوية للإنسان والعديد من الحيوانات الثديية، كما يسبب الذيفان بيتا *Beta toxin* *Clostridium* (CPB) والذيفان إبسيلون *Epsilon toxin* *Clostridium* (ETX) اللذان تفرزهما المطثية الحاطمة من النمط B التهاب الأمعاء النخري النزفي عند الأغنام في أغلب الحالات، إلا أنه قد بينت بعض الدراسات أن هذه الأنماط قد تتسبب في مرض التصلب المتعدد لدى الإنسان.

ويسبب الذيفان (CPA) والذيفان (CPB) المفرزان من النمط C التهاب الأمعاء النخري عند الإنسان وعند الحيوانات، في حين تنتج الذراري من النمط D الذيفانات (CPA)، (CPB) and (ETX) تسمم الدم المعوي عند الأغنام والماعز والماشية، ولكن من غير المثبت أنها تسبب مرضاً لدى البشر.

كما يعمل الذيفان أيوتا (ITX) الذي يفرزه النمط E بالإضافة إلى الذيفان ألفا بالتسبب في مرض التذيفن الدموي المعوي عند العجول والأرانب، والتهاب القولون عند الخيول والتهاب الأمعاء النخري عند الخنازير.

أما النمط F الذي يُدرس حديثاً فيفرز الذيفان ألفا (CPA) والذيفان المعوي (CPE) ويسبب التسمم الغذائي عند الإنسان.

كما يفرز النمط G الذيفان (NetB) بالإضافة إلى الذيفان ألفا (CPA) ويسبب التهاب الأمعاء النخري لدى الطيور، إلا أنه لم يثبت ارتباطه بالإصابة لدى البشر (Uzal et al., 2019; Johansson, 2006).

تصيب هذه الجراثيم جميع أنواع الحيوانات، كما يتسبب النمط F بالإصابة لدى الإنسان، ويرتبط كل نمط منها بمتلازمات مرضية محددة ترتبط بشكل مباشر أو غير مباشر بنوع الذيفانات التي تنتجها، تتصف الأعراض الإكلينيكية ببداية مفاجئة ونسبة نفوق مرتفعة حيث تظهر على الأغنام الإصابة الارتجاف والاستلقاء على الأرض والدفع بالأرجل والرأس إلى الخلف ونخر في الغشاء المخاطي للأمعاء ونضح لسوائل التهابية في تجاويف الجسم. (Navarro and Uzal, 2020; Fleming, 1985). تحدث المطثية الحاطمة إصابات عند الإنسان من خلال إفرازها للذيفانات المسببة للنخر، حيث تفرز ذيفانات معوية enterotoxin في لحظة التبوغ والتي يمكن أن تؤدي إلى حدوث الأمراض المنقولة بالغذاء foodborne disease عند الإنسان (Uzal et al., 2019; Shimizu et al., 2002). أما عند الأغنام فينشأ تذييف الدم المعوي المطثي Clostridial Enterotoxemia في الأمعاء، يتصف بأنه مرض تسممي حاد مميت يصيب الأغنام في جميع الأعمار (الحملان الرضعية، حملان التسمين، الأغنام البالغة)، ويتصف بالنفوق المفاجئ (Jubb, 1993; Simpson et al., 2017). ويظهر المرض بعدة أشكال اعتماداً على الأنماط المصلية الخمسة الشائعة للجرثوم المسبب في الأغنام وهي: تذييف الدم المعوي أو مرض الحمل الأصفر Yellow Lamb Disease (النمط A)، مرض زحار الحملان Lamb Dysentery (النمط B)، مرض الضربة أو الصدمة Shock (النمط C)، ومرض الكلية الرخوة Pulpy Kidney من النمط D أو ما يسمى بمرض التخمّة (Navarro and Overeating Disease, 2020; Uzal, 2020).

تنتشر المطثيات بشكل واسع في التربة والماء وفي الرواسب البحرية Marine وهي تعد من النبيت الطبيعي المتعايش في الأمعاء، وهي عصيات إيجابية الغرام Gram Positive كبيرة الحجم متبوغة والأبواغ بيضاوية الشكل حجمها أكبر من حجم العصية الأم وتوضع تحت نهائي Subterminal مسببة انتفاخ الخلية الأم، غير متحركة، مغلفة بمحفظة مكونة من عديد سكريد، تحتاج هذه الجراثيم حتى تنمو لظروف لاهوائية ولمنابت غنية (Quinn et al., 2003; McClane, 2001).

نظراً لانتشار العديد من أنواع جراثيم المطثيات في البيئة وكنبيت جرثومي طبيعي متعايش وانتهازي في أمعاء البشر وكذلك الحيوانات فإن الإصابة بأمراض المطثيات تمثل تهديداً مستمراً، وكون مرض التذييف الدموي المعوي من الأمراض المستوطنة والذي يهدد قطعان الأغنام وخاصة في نظم التربية المكثفة... لذلك أجريت هذه الدراسة على الأغنام العواس بهدف دراسة التغيرات التشريحية المرضية والآفات النسيجية في الناتجة عن التذييف الدموي المعوي عند أغنام العواس والتي تخضع لنظام التربية (شبه مكثفة) في حظائر نصف مفتوحة، بغية الوصول إلى العلامات

التشخيصية للمرض ليتسنى دراسة الحلول الناجعة للحد من هذا المرض عند هذه السلالة من الأغنام.

1-2- أهداف البحث:

1- عزل وتحديد هوية العامل المسبب من عينات أخذت من أغنام نافقة ومشتبه بإصابتها بالتذيفن الدموي المعوي.

2- دراسة التغيرات التشريحية المرضية في العينات من الأمعاء والكبد والكلية من الأغنام المشتبهة.

3- دراسة ردود الفعل الالتهابية والخلايا البدينة في العينات من الأغنام المشتبهة.

الدراسات المرجعية
Literature review

2- الدراسة المرجعية Literature Review

1-2- لمحة تاريخية عن المرض History:

ذكر الباحث (McGinley, 1998) بأن المطثية الحاطمة ترتبط بالكثير من الأمراض الحيوانية والبشرية والانسام Intoxication مثل تذييفن الدم المعوي في الحيوانات والأكوال أو الموات الغازي في البشر، حيث اعتقد أثناء الحرب العالمية الأولى أن مئات الآلاف من الجنود ماتت بسبب الموات الغازي كنتيجة لإصابات ساحة المعركة.

تعتبر المطثيات من منظور تطوري أولى الجراثيم الموجودة على كوكب الأرض حيث أنه قبل حوالي 2.7 بليون سنة وقبل التكون الأولي للأوكسجين ظهرت المطثيات كصنف بارز (Johansson, 2006; Kubo and Watas, 1985).

وجدت عزلات المطثية الحاطمة في العينات المأخوذة من القناة المعوية لرجل الثلج تايرولين Tyrolean Iceman الذي عاش قبل أكثر من 5000 سنة (Cano et al., 2000).

تاريخياً يعود الفضل إلى العالم بولنجر Bollinger عام 1875 كونه أول من وصف أحد أنواع المطثيات المرضية وهي المطثية الشوفوية *chauvoei* C. ثم توالى توصيف الأنواع الأخرى، بينما لم توصف المطثية الحائلة للدم وتُميّز إلا من قبل العالم فاوتر Vawter عام 1926 (Johansson, 2006; Niilo, 1988).

2-2- تاريخ تسمية المطثيات:

المطثيات كلمة إغريقية بمعنى المغزليات الصغيرة (Titbal et al., 2003).

وقد عرفت المطثية الحاطمة في المؤلفات القديمة بالعصوية المريحة المحفوظة *Bacillus capsulatus aerognes* حيث قام بعزلها العالم الأمريكي Welch في عام 1892م على شكل عصيات إيجابية الغرام من الجروح النخرة من البشر، ثم سميت لاحقاً بالعصوية الحاطمة *Bacillus perfringens* ، كما سميت بعد ذلك بالمطثية الولشية *welchii* C. ، نسبة لمكتشفها العالم ويليام ويلش William Welch من الجروح الغنغرينية (Johansson, 2006).

2-3- العوامل المهيأة للإصابة بمرض التذييفن الدموي المعوي Enterotoxemia

يساعد في حدوث الإصابة بالتذييفن الدموي المعوي عدد من العوامل الهامة منها البيئية Environmental أو التربوية Husbandry مثل التغيرات الفجائية في العليقة والتخممة Overeating والشهه Voracity على غذاء ذو نسبة بروتين عالية وغني بالطاقة، وغالباً ما تتعرض الأغنام للإصابة بجميع الأعمار الأمر الذي يسبب النفوق، ويحدث النفوق عادة لدى الأغنام التي تستهلك كميات كبيرة من الكربوهيدرات أو نسبة عالية منها في العليقة فيعمل ذلك على التسبب في تباطؤ حركية الأمعاء Peristalsis وبالتالي عدم هضم جيد للكربوهيدرات وركود

Retention مكونات الأمعاء مع جراثيم المطثية الحاطمة المتعايشة في الأمعاء الغليظة Large Intestine في الحيوانات السّوية Normal animal وتوفير الوسط الغني لنمو وتكاثر تلك الجراثيم، وتستمر المطثية الحاطمة في النّمو بشكل سريع ومفرط Overgrowth ما يعمل على انتشارها Spill باتجاه الأعلى إلى الأمعاء الدقيقة بالتّرافق مع إنتاج كمّيات كبيرة من الذيفانات وبالتالي امتصاصها إلى الدم ونتيجة ذلك يحدث تذيّفن الدم المعوي (Nazki et al., 2021; Quinn et al., 2003)

كما أنّ الأغنام المعتمدة في غذائها على نظام الرّعي المتنقّل الأمر الذي يعرضها للإصابة بالمرض بدرجة كبيرة وبشكل خاص عندما تكون المراعي خصبة وكذلك عند الإسراف في الرّعي أو تغيير المرعى بشكل فجائي، أو تغيير العليقة بشكل مفاجئ (Van Metre, 2006)، كما أنّ هنالك عوامل أخرى تتّبع إلى المواليد الحديثة حيث يتأخّر لديها بيولوجياً إفراز أنزيمات التريسين من البنكرياس، وذلك بهدف تكويني الغرض منه المحافظة على الأضداد التي يتناولها الحمل الرضيع مع السرسوب، إلا أنّ الجانب الآخر لتلك الظاهرة هو أنّها تعمل بذلك على الحفاظ على البنية الجزيئية البروتينية للذيفانات من التفكك باستثناء الذيفان إpsilon فهو بخلاف الذيفانات الأخرى يحتاج إلى التريسين لتنشيطه، وبآلية مشابهة فإنّ السرسوب الذي تتناوله الحملان من أمهاتها يحتوي على مواد مثبطة للتريسين (Kimberley et al., 2020).

وقد صنّف كوين وآخرون العوامل المهيّأة للإصابة بالتذيّفن الدموي المعوي إلى ثلاثة أقسام رئيسية (Quinn et al., 2003):

أ- غياب الفاعلية الأنزيمية المحللة للأنزيمات أو انخفاض في مستوياتها في أمعاء الحيوانات حديثة الولادة ويرجع ذلك إلى:

1- عدم نضوج غدة البنكرياس لإفراز الأنزيمات وبشكل خاص أنزيمات التريسين والبروتيازات.

2- رضاعة هذه المواليد السرسوب وما يحتويه من مثبطات التريسين Trypsin Inhibiter.

ب- عدم التوازن في البيئة الميكروبية (الفلورا المعوية) للجراثيم المتعايشة في معي الحيوانات حديثة الولادة.

ج- بما يخص الحيوانات البالغة منها فتنضمّن العوامل الغذائية ما يلي:

1- الإفراط في تناول عليقة غنية بالطاقة أو البروتين.

2- بطء في الحركة المعوية عند تناول كميات كبيرة من الغذاء كنتيجة للشه والتمخمة.

3- التغيير المفاجئ إلى المراعي الخصبة أو التغيير المفاجئ إلى عليقة مركزة.

ومن العوامل المهيّأة الأخرى انخفاض الكفاءة المناعية الطبيعية بعد الشفاء من المرض، أو الإصابة بأمراض تؤدي إلى تباطؤ في الحركة المعوية، أو عوامل الإجهاد أو العدوى الطفيلية

الشديدة للسبيل المعوي عند الأغنام مثل الديدان الأسطوانية والأكريات (Coccidia, Nematodea)

4-2- العامل المسبب Etiology:

أشارت الكثير من الدراسات إلى أن المطثية الحاطمة تسبب مرضاً معوياً يسمى تذييف الدم المعوي الذي يربك القائمين على قطعان الأغنام والماشية والأطباء البيطريين حول العالم، ومنهم الباحث (McGinley, 1998) وقد ذكر بأن المطثية الحاطمة ترتبط بالكثير من الأمراض الحيوانية والبشرية وأمراض التسمم مثل تذييف الدم المعوي، كما تتسبب في حدوث حالات التسمم الغذائي عند الإنسان بسبب قدرتها على إنتاج الذيفان المعوي Enterotoxin (McClane et al., 2000).

كما تسبب هذه الجراثيم أمراضاً معوية بشرية غير محمولة على الغذاء مثل الإسهال (McClane, 2001). وقد صنفّت تقارير مراكز مراقبة السيطرة ومنع المرض المطثية الحاطمة كأحد أزر المسببات شيوعاً للمرض المحمولة على الغذاء في الولايات المتحدة الأمريكية (Smedley et al., 2004). تعتبر جراثيم المطثية الحاطمة نوع من جنس المطثيات (*Clostridium* genus) حيث يضم هذا الجنس عصيات لاهوائية، إيجابية الغرام، متبوغة، توجد في البيئة وفي القناة المعوية للبشر والحيوانات الأليفة والبرية.

توجد معظم أنواع المطثيات كجراثيم رمية في الطبيعة غير ممرضة في الحيوانات والنباتات.

1-4-2 تصنيف المطثيات: Clostridium Phylogeny and taxonomy

يضم جنس المطثيات *Clostridium* حالياً 209 نوع موصوف بشكله النظامي

(Kiu et al., 2023; Johansson, 2006).

وينتمي جنس المطثيات *Genus Clostridium* إلى:

Phylum: Firmicutes

Class: Clostridia

Order: Clostridiales

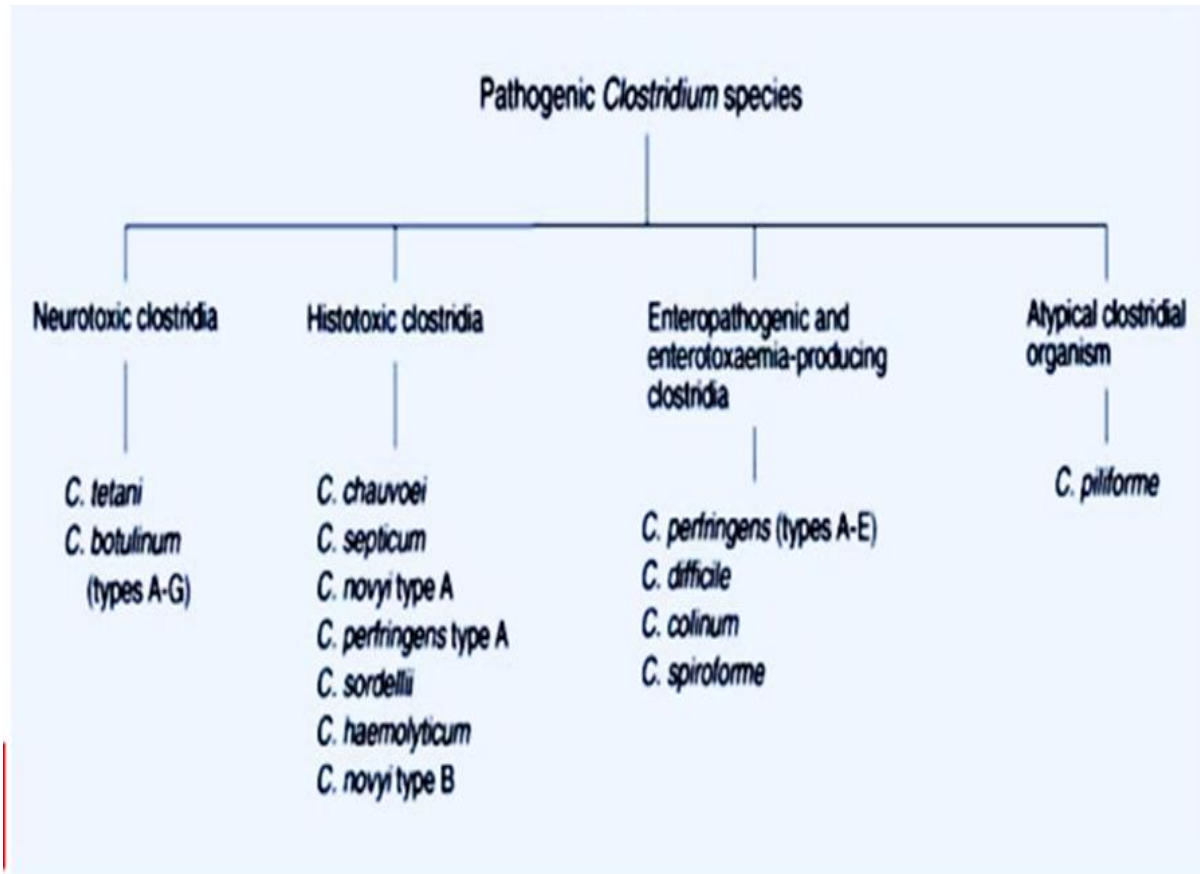
Family: Clostridiaceae

Genus: *Clostridium*

Space: *perfringens*

تعد المطثية الحاطمة من أهم الأنواع والتي تضم 7 أنماط مصلية وهي (A,B,C,D,E,F,G)، والتي تسبب طيفاً واسعاً من الأمراض عند الإنسان والحيوانات (Navarro and Uzal, 2020; Browne *et al.*, 2007).

تحدث الممرضات الرئيسية والممرضات الصغرى الأمراض اعتماداً على قدرتها على إفراز الذيفانات التي تشمل ذيفانات معوية، وذيفانات عصبية، وذيفانات نسيجية، وذيفانات مميتة.



(Kiu *et al.*, 2023)

اعتمد في تصنيف جنس المطثية على سلسلة مورث rDNA كما هو موصوف بحسب العديد من الدراسات (Stackebrandt and Rainey, 1997; Stackebrandt *et al.*, 1999; Colline *et al.*, 1994).

C. absonum, *C. argentines*, *C. baratii*, *C. beijerinckii*, *C. bife-rmentans*, *C. butyricum*, *C. cadaveris*, *C. camis*, *C. clostridia-forme*, *C. fallax*, *C. going*, *C. glycolicom*, *C. hastiforme*, *C. indolis*, *C. innocuum*, *C. irregular*, *C. limosum*, *C. maleno-minatum*, *C. paraputrificum*, *C. ramosum*, *C. sphenoides*, *C. sporogenes*, *C. subterminale*, *C. symbiosum* and *C. tertium*.

كما يوجد 13 نوعاً آخر تصنّف من الممرضات الرئيسيّة Major pathogens، التي تنتج حوالي 59 نوعاً من الذيفانات الجرثومية المختلفة، وهي:

المطثيّة الحاطمة *C. perfringens*، المطثيّة الوشيقيّة (I, II, III Groups) *C. botulinum*،
المطثيّة القولونيّة *C. colinum*، المطثيّة العسيرة *C. difficile*، المطثيّة الحالّة للدم
C. histolyticum، المطثيّة الحالّة للنسج *C. septicum*، المطثيّة المنتنة *C. tetani*، المطثيّة
الكزازيّة *C. chauvoei*، *C. novyi*، *C. piliforme*، *C. sordellii*، *C. spiroforme*
(Navarro and Uzal, 2020; Johansson, 2006).

2-4-2- أنواع الممرضات الكبرى ضمن جنس المطثيّات: *Clostridium* spp.

تسبّب الذيفانات المختلفة التي تنتجها المطثيّات العديد من الأمراض لدى البشر وعند أنواع مختلفة من الحيوانات، من بينها 5 أنواع من المطثيّات الأكثر شهرة كما هي موضّحة في الجدول (1-2)، وهي: (*C. botulinum*, *C. tetani*, *C. perfringens*, *C. difficile* and *C. chauvoei*).

جدول (1-2) الأنواع الخمس الأكثر خطورة من الممرضات الكبرى من جنس المطثيات (Quinn et al., 1994; Johansson, 2006)

نوع المطثية	الذيفانات التي تفرزها	تأثير الذيفان	الأمراض التي تسببها	العوائل
المطثية الوشيكية <i>Botulinum</i>	الذيفان الوشيقي (BoNT)	شلل عصبي	شلل عصبي رخو	المجترات والخيول والطيور واللواحم والخنازير والأسماك، نادراً لدى البشر.
	ذيفان الكزاز (TeNT)	عصبي تام تحفيزي	من أقوى الذيفانات- مميت	الفئران والخيول، والإنسان
الكزازية <i>Titani</i>	ذيفان الكزاز (TeNT)	عصبي تام تحفيزي	مرض الكزاز- شلل تشنجي	الخيول وبشكل أقل الحيوانات العاشبة ونادراً للواعم، والإنسان 1000,000 - 800.000 سنوياً
العسيرة <i>Difficil</i>	الذيفان المعوي (toxin A)	الإسهال الإفرازي وتلف الغشاء المخاطي للأمعاء والتهاب القولون الغشائي الكاذب	الإسهال المرتبط بالعلاج بالمضادات الحيوية	الخيول وبعض الحيوانات والإنسان
	الذيفان السام للخلايا (toxin B)		التهاب القولون الدفتريائي الكاذب	
شوفاي <i>Chauvoei</i>	ألفا النادر، alpha beta بيتا	تموت العضلات	القائمة السوداء Blackleg	الأبقار والأغنام وغيرها من الحيوانات الأخرى
الحاطمة <i>Perfringens</i>	ألفا alpha	حال للخلايا	تذيفن دموي	البشر والحيوانات
	بيتا beta	نخر الأغشية المخاطية	تذيفن دموي	البشر والحيوانات
	ثيتا theta	حال للخلايا	تحلل الكريات الحمر	البشر والحيوانات
	Epsilon	ناخر ومميت	تذيفن الدم القاتل	الأغنام
	أبيتا iotal	ناخر للخلايا البطانية	تذيفن الدم	الأغنام، العجول، الأرانب
	بيتا ² beta ²	ناخر للخلايا	إسهال	الخنازير، الخيول
	ذيفان معوي	نخر الموصلات الخلوية	إسهال	الحملان، العجول، الأرانب
	بيتاB (NetB)	ناخر للخلايا	التهاب أمعاء نخري	الدواجن

5-2- الصفات الرئيسية للمطثية الحاطمة *C. perfringens*

جراثيم إيجابية الغرام Gram Positive لا هوائية تشكل عصيات كبيرة نسبياً (2.4 x 1.3-9.0) ميكرون متبوغة والأبواغ بيضاوية Oval شبه طرفية Subterminal تسبب انتفاخ الخلية الأم، متحملة للهواء Aero tolerant، غير متحركة Non motile، مغلفة بمحظة مكونة من عديد سكريد Polysaccharide Capsule (Quinn et al., 2003; McClane, 2001).

تشكل مستعمرات مستديرة ملساء لامعة على الأوساط المغذية، وتحيط بها منطقة تحلل دموي ثنائي النطاق Double-Zone Hemolysis، منطقة تحلل دموي كامل داخلية بفعل الذيفان ثيتا-theta toxin، ومنطقة تحلل جزئي خارجية ناتجة عن تأثير الذيفان ألفا Alpha-toxin على آغار دم الأغنام Blood Agar، تصنف المطثية الحاطمة على أنها جراثيم لاهوائية وأحياناً تنمو بوجود الأوكسجين (دقية الهواء).

تستطيع النمو بدرجة حرارة تتراوح بين 12-50 م°، تنمو بشكل بطيء عندما تنخفض درجة الحرارة دون 20 م°، بينما تنمو في ظروف مثالية عند الحرارة ما بين (43-47) م° بنشاط عالي مع زمن تضاعف generation time سريع يقدر بـ 8-10 دقائق لكل جيل بالترافق مع إنتاج وفير للغاز، ولها القدرة لتكون محورة جينياً (Quinn et al., 2003).

يتطلب نمو المطثية الحاطمة 13 حمضاً أمينياً أساسياً، تتراوح درجة PH الوسط لنمو الحاطمة بين 5-8 ودرجة النشاط المائي water activity بين (0.93-0.97)، تستطيع الحاطمة العيش في ظروف قاسية ويرجع ذلك إلى قدرتها على التمايز من خلايا إنباتية vegetative cells إلى أبواغ كامنة ذات مقاومة عالية، وما تمتلك الأبواغ الجرثومية من صفات مقاومة كونها أكثر أنواع الخلايا البيولوجية المعروفة مقاومة للحرارة والجفاف والحموض والعديد من المطهرات الكيميائية (Simpson et al., 2017; Kiu et al., 2023).

6-2- عيشية المطثية الحاطمة Survival of *C. perfringens*

توجد جراثيم المطثية الحاطمة في البيئة بشكل شائع، وفي القناة المعوية للبشر والحيوانات الأليفة والبرية والكائنات الحية الممرضة، وقد تكون من مصدر خارجي Exogenous Source، إلا أنه غالباً ما تكون داخلية المنشأ، وتمثل الجراثيم الأكثر عزلاً والمسبب الأكثر أهمية للأمراض المطثية في الحيوانات الأليفة (Songer, 2006).

كما قد توجد في البيئات القاسية على شكل جراثيم شديدة المقاومة لدرجات الحرارة المنخفضة أو المرتفعة، والضغط الأسموزي، والمواد الحافظة والكيميائية، ودرجات PH مرتفعة أو منخفضة عن الدرجة المثلى.

وقد أبدت ذراري المطثية الحاطمة التي تحوي البلازميدات *etx*، *cpb2*، *cpb1* الحاملة للجينات استقراراً عند التعرض بشكل متكرر للأوكسجين في المختبر (Johansson, 2006).

وتظهر جراثيم الحاطمة مقاومة شديدة عند تخزينها مثلاً في درجات حرارة منخفضة من 4 إلى -20 درجة مئوية في المجمدات لمدة 3-6 أشهر (Gohari et al., 2021).

كما تظهر الأبواغ مقاومة شديدة ضد المواد الحافظة مثل النتريت وتغيرات الضغط الأسموزي ودرجات PH المتفاوتة والمواد الكيميائية والأشعة فوق البنفسجية ودرجات الحرارة المرتفعة جداً أو المنخفضة جداً (Gohari et al., 2021).

7-2- الخواص الجينية للمطثية الحاطمة Genetic Properties of C.P:

عند مقارنة جينوم المطثية الحاطمة مع جينوم نوع آخر من جراثيم المطثيات الغير ممرضة مثل المطثية الأسيتوبوتيلية *Acetobutylicum*. C. يلاحظ الفرق الواضح بما يتعلق بالجينات المرمزة للفوعة الإمراضية *virulence-associated genes* حيث أنها توجد في الحاطمة وغير موجودة في الأخرى، وقد وجد Kiu وزملاؤه العديد من الجينات المرتبطة بالفوعة بالإضافة إلى جينات الفوعة المعروفة في جينوم المطثية الحاطمة. (Shimizu *et al.*, 2002; Kiu *et al.*, 2023).

وقد تمّ التعرف على الجينوم genome الكامل للمطثية الحاطمة في عام 2002 الذرية 13 (strain 13)، حيث يتكون كروموسوم chromosome المطثية الحاطمة (strain 13) من (3.031.430) زوج من القواعد الأزوتية و (2660) منطقة لتشفير البروتين و 10 جينات للرنا الريبوزومي rRNA genes 10 وقد وجد أنّ نسبة السيتوزين والغوانين منخفضة عموماً (28.6%) (Shimizu *et al.*, 2002). تتميز المطثية الحاطمة بأنّها النموذج الأوضح للدراسات الوراثية بالنسبة لأنواع المطثية الأخرى المنتجة للذيفانات بسبب تحملها للأوكسجين وبسبب خاصية معدل النمو المرتفع وإمكانية التداول الوراثي Genetic manipulation

(Shimizu *et al.*, 2002)

يظهر التسلسل الخاص بمجين الذرية 13 (strain 13) للمطثية الحاطمة أنّ الجينات المسؤولة عن الفوعة *virulence genes* غير متجمعة في الجزر الإمراضية *pathogenicity islands*، حيث يمكن اكتشاف عدد قليل فقط من العناصر الجينية المحمولة *mobile genetic elements*، وإن علامات الجينات المكتسبة أفقيّاً *horizontally acquired genes* بالكاد يمكن كشفها في جينوم المطثية الحاطمة (Johansson, 2006).

وبحسب ذلك فمن المتوقع أنّ نماذج الذيفانات المختلفة للمطثية الحاطمة قد تطورت من النمط A (type A) عن طريق الحصول على عناصر وراثية خارج الصبغي مثل البلازميدات *plasmids* أو الينقولات *transposons* (Johansson, 2006).

حيث تقع الجينات التي ترمز الذيفان ألفا والذيفان بيتا على الصبغي، وتقع العديد من الجينات التي ترمز الذيفانات الأخرى على البلازميدات الكبيرة *large plasmids*، وإن جين الذيفان المعوي (cpe) يمكن أن يوجد إما في الصبغيات أو مرمزاً على البلازميدات *plasmid encoded*، وقد وجد أن هذا الجين يقع على الصبغي في عزلات التسمم الغذائي، وقد وجد أيضاً أن عزلات أمراض الجهاز الهضمي للتسمم غير الغذائي عند البشر والعزلات من مصادر حيوانية كانت تحمل جين (cpe) على الصبغيات الكبيرة (Kiu *et al.*, 2023).

يتمّ التعبير Expression عن الذيفان ألفا والذيفان وثيتا عن طريق نظام نقل الإشارة الثنائي (VirR /VirS) ويتكون هذا النظام من عنصرين: استشعار هستدين كيناز VirS وعنصر الرد VirR حيث يحدث التنظيم على مستوى النسخ كما وإن وجود الطفرات قد يغيّر من إنتاج كليهما (Lee and Lillehoj., 2021).

2-8- ذيفانات المطثية الحاطمة *Clostridium perfringens* toxins

أشار عدد من الباحثين إلى أنّ جراثيم المطثية الحاطمة تفرز ما يقارب 17-18 ذيفان خارجي Exotoxins، لكن البعض منها فقط يمتلك دور رئيس في التسبب بالمرض (Songer et al., 2006).

الدور الرئيس للذيفانات بالإضافة إلى الأنزيمات التي تفرزها المطثية هو تفكيك أنسجة المضيف المختلفة والعمل على تحليلها إلى جزيئاتها الأولية من الأحماض الأمينية الأساسية اللازمة لنموها وتكاثرها وتكوين خلايا جرثومية جديدة فهي تفتقر إلى الآلية المورثية اللازمة لإنتاجها، كما يتم توفير الطاقة لتكاثر الجراثيم عن طريق المواد السكرية الناتجة من تحليل الأنسجة أو من محتوى العليقة (Lee and Lillehoj., 2021; Shimizu et al., 2002).

تصنّف المطثية الحاطمة إلى خمسة أنماط رئيسية (A, B, C, D and E) وذلك بحسب قدرتها على إنتاج أربعة ذيفانات رئيسية (alpha, beta, epsilon, and iota) وقد تبين ذلك عن طريق اختبارات التعادل في الفئران وخنازير غينيا، تعد الأنماط (A, B, C, D) هي المسؤولة عن الإصابة بالتذيفن الدموي المعوي عند الأغنام في جميع الأعمار (Songer, 1996; Uzal et al., 2019).

تعتبر الذيفانات التي تفرزها المطثية الحاطمة ذات سمية عالية ونشاطها مميت غالباً، كما تتصف بتنوعها وتعددتها واختلاف خصائصها ما يصعب السيطرة والوقاية والعلاج، الأمر الذي تنفرد به جراثيم المطثية الحاطمة.

وبين الجدول (2-2) الذيفانات الأكثر أهمية التي تسبب الإصابة بمرض التذيفن الدموي المعوي.

2-8-1- الذيفان ألفا Alpha Toxin:

ذيفان متعدد الوظائف ينتج بكميات متفاوتة من عزلات المطثية الحاطمة تكمن آلية عمله بتأثيره في حلمة الدهون الفوسفاتية لأغشية الخلايا المختلفة مما يؤدي إلى تحليل الأغشية الخلوية وبالتالي تفجّي الخلية وتوسف لحطام خلوي كبير في وقت قصير (Hussein, Titball et al., 2003; Titball et al., 2013).

وهو ذيفان قاتل رئيسي تفرزه المطثية ومن كل الأنماط، يعتبر أول ذيفان جرثومي تمّ تشخيص طريقة عمله البيولوجية على المستوى الجزيئي (Titball et al., 2003)، وهو عبارة عن أنزيم الليسيثيناز Lecithinase وله تأثير الفوسفوليبياز C Phospholipase (PLC) وكذلك فعالية السفنغومايلين (SMase) Sphingomyelinase (Kiu et al., 2023).

يهاجم الذيفان أغشية الخلايا مسبباً موت الخلية Cell death وتحطّمها، كما يسبب تمّيه Hydrolysis الشحوم المفسفرة Phospholipids في غشاء كريات الدم الحمراء erythrocytes والصّفيحات الدّموية Platelet، وكريات الدم البيضاء Leukocytes، والخلايا البطانية endothelial والخلايا العضلية مسبباً تحللاً فيها lysis أو أشكال أخرى للتسمم الخلوي (cytotoxicity) (Songer, 2006)، يسبب تحلل دم جزئي Partial split على آغار الدم بآليات مرتبطة مع تأثير نشاطات (PLC) / أو (SMase) (Kiu et al., 2023; Russell, 1987).

2-8-2- الأذيفان بيتا Beta Toxin:

هو عامل ذو أهمية في التسبب بالتذيفن الدموي المعوي الناتج عن النمط B كما يفرز من النمط C أيضاً، وبالإضافة إلى خواصه القاتلة، فهو مسؤول عن التهاب الأمعاء وحدوث نخر بؤري للمخاطية mucosal لدى الإنسان والأغنام والماشية، كما يمكن أن يسبب إصابات في الجهاز العصبي المركزي في الحيوانات المستأنسة كما يسبب زيادة نفاذية الشعيرات الدموية، حيث كمية صغيرة أقل من 2 ng تحدث نخرًا جلدياً Dermonecrosis في خنازير غينيا، بالرغم من أن الأذيفان بيتا ذيفان قاتل Lethal وناخر Necrotizing إلا أنه بروتين عالي الحساسية للتربسين trypsin-sensitive protein وهذا ما يفسر إحداثه للأمراض في المواليد حديثة الولادة neonates (Gohari et al., 2021; Niilo, 1988).

2-8-3- الأذيفان إبسيلون Epsilon toxin:

يعتبر كذيفان معوي Enterotoxin وكذيفان عصبي Neurotoxin يفرز من قبل ذراري الأنماط B,D، حيث يفرز بشكل خامل Protoxin ذو سمية ضعيفة كما ذكر الباحثان بون Bhowن وحبيب Habib عام 1977 (cited by Songer, 1996)، إلا أن هذا الذيفان ينشط في الأمعاء حيث يتحول إلى الشكل السام بأكثر من 1.000 ضعف عن طريق إزالة أحماض أمينية طرفية (14 N-terminal amino acids) بواسطة الأنزيمات المحللة للبروتينات Proteolytic enzymes مثل التربسين Trypsin والببسين Pepsin، بالإضافة إلى تلك الأنزيمات المنتجة من قبل جراثيم الحاطمة نفسها (Kappa and Lambda)، (Gohari et al., 2021). هو ذيفان ناخر ومميت ويعتبر الأقوى بين ذيفانات جميع أنواع المطثيات بعد الذيفان الوشيقي وذيفان الكزاز (Johansson, 2000; Gohari et al., 2021).

2-8-4- الأذيفان أيوتا Iota toxin:

هو ذيفان محدد بالمطثية الحاطمة النمط E فقط، قد يحدث الذيفان نفاذية في الأوعية الدموية، ونخرًا في الجلد، ومميت للفئران في الجرعات المرتفعة بتأثيره داخل الخلية على خلاف غالبية الذيفانات الأخرى (Popoff et al., 1988)، وصف الذيفان أيوتا أولاً من قبل العالم بوسورث Bosworth عام 1940 وقد بينت عالمة هيلين روز Helen Ross وزملائها عام 1949 أن الذيفان خامل ويتطلب تنشيط (cited by Songer, 1996)، يفرز كذيفان خامل protoxin ويتطلب تنشيطاً بالأنزيمات المحللة للبروتين مثل التربسين، الببسين، السبتيلايزين subtilisin، البروتيناز (ك) Proteinase k، والثرمولايزين thermolysin حيث يتم تنشيطه proteolytically مع خسارة ناتجة من 9 إلى 13 حمض أميني من النهاية الأمينية N (Barth et al., 2004).

2-8-5- الذيفان المعوي Enterotoxin:

إنّ إنتاج الذيفان المعوي مرتبط بعملية التبوغ للجراثيم حيث يتحرّر الذيفان عندما تتعرّض الخلية النباتية للتحلّل vegetative cells undergo lysis، تعتبر آلية عمل الذيفان المعوي الآلية الأكثر فهماً لذيفانات الحاطمة ويعمل بالتآزر مع الذيفانات الرئيسية حيث يتفاعل مع البروتينات الرابطة في الخلايا الظهارية epithelial cell tight junction proteins ويسبب تفكك الروابط مما يؤدي إلى الإسهال وتقلصات معوية ناجمة عن تسرب الماء والأيونات (MaClane, 2001).

2-8-6- الذيفان بيتا 2 Beta2 toxin:

يشابه هذا الذيفان من الناحية الوظيفية وليس من الناحية الهيكلية أو التركيبية الذيفان بيتا (β) ومن المعروف أنّه سام للخلايا cytotoxic وقاتل للفئران، أشارت إحدى الدراسات التي هدفت لتحديد أنماط المطثية الحاطمة الحاملة للجين المشفر لذيفان $\beta 2$ من بين أنواع الحيوانات فكانت الغالبية العظمى من الذراري الجرثومية المعزولة من الأمهار والخنازير والحملان كانت من النمط A، وأنّ 50% من هذه الذراري كانت حاملة للجين المشفر لذيفان $\beta 2$ وقد أشادت تلك الدراسة بالدور الذي قد يؤديه هذا الذيفان في إمراضية جراثيم الحاطمة (Garmory et al., 2000).

2-8-7- الذيفان ثيتا: Theta toxin

يفرز من الأنماط الخمسة للمطثية الحاطمة (A-E) يعمل حلاً لخلايا Cytolysis حيث يساهم في التخريب السريع للنسيج بعدة آليات في موقع الخمج، وهو ذيفان حال للدم انحلالاً تاماً ومهيئ للأذى الوعائي المباشر، كما يعمل بتراكيزه المنخفضة على تنشيط الكريات البيضاء مفصصة النوى Polymorphonuclear Leukocytes والخلايا البطانية ما ينتج عن ذلك ركود الكريات البيضاء Leukocytosis، تخثر، نقص تروية، نقص أكسجة Hypoxia، كما يتوسّط لعملية الصدمة shock عن طريق الحث على تنشيط وسائط الالتهاب مثل عامل تنشيط الصفائح الدموية PAF، العامل الناصر للورم ألفا TNF، انترلوكين 1 (Interleukin 1) وانترلوكين 6 (Interleukin 6) (Rood et al., 1997; Navarro and Uzal. 2020).

الجدول. (2-2) الذيفانات الأكثر أهمية في التأثير الإمبراضي لجراثيم المطثية الحاطمة
(Rood et al., 1997; Navarro and Uzal. 2020; Johansson, 2000; Gohari et al., 2021).

الذيفان	يفرز من النمط	موقع المورث	التأثير الإمبراضي
الذيفان ألفا Alpha toxin	A,B,C,D,E	الصبغي	ناخر للجلد dermonecrotic، مميت lathal، حال للخلايا cytolytic.
الذيفان بيتا Beta toxin	B,C	البلازميد	ناخر للجلد، مميت، حال للخلايا
الذيفان إبسيلون Epsilon toxin	B,D	البلازميد	ناخر للخلايا العصبية، والخلايا البطانية الوعائية، وذمة في مختلف أنسجة الجسم.
الذيفان أيوتا Iota toxin laandlb	E	البلازميد	ناخر للجلد، مميت، يسبب نفاذية في الأوعية الدموية، خلل في الهيكل الخلوي الأكتين actin cytoskeleton أدية داخل خلوية
الذيفان بيتا2 Beta2 toxin	A غالباً	البلازميد	سام، قاتل للفئران، أمراض معوية في الحيوانات المستأنسة وبخاصة الخنازير والخيول، الإسهال المرتبط بالصادات الحيوية
الذيفان المعوي Enterotoxin	يفرز أثناء عملية التبوغ	الصبغي/ البلازميد	حال لخلايا، مميت، يهاجم البروتينات الرابطة للخلايا الظهارية، إسهال، تسرب سوائل خارج الأنسجة
الذيفان ثيتا Theta toxin	A,B,C,D,E	الصبغي	حال للكريات الحمراء، يشكّل مسام، ملزناً للصفائح الدموية، محرّض للاستجابة الالتهابية للمضيف

9-2- عوامل الفوعة للمطثية الحاطمة *Virulence Factor for Clostridium perfringens*:
بالإضافة إلى الذيفانات الأكثر أهمية التي تفرزها المطثية الحاطمة فهي تفرز ذيفانات أخرى تساعد
في الفوعة المرضية وتعمل على تحطيم الأنسجة Tissue Damage كما تحدث الكثير من الآثار
الجانبية الأخرى (Quinn et al., 2004).

وبيين الجدول. (2-3) عوامل الفوعة الأكثر أهمية لبعض ذراري المطثية الحاطمة.

1-9-2 ذيفان كابا Kappa toxin (Collagenase)
هو عبارة عن أنزيم حال للبروتينات Proteolytic Enzyme يفرز من جميع أنماط الحاطمة،
يحلل الكولاجين، فبذلك يكون العامل المسؤول عن تليين Softening ورخاوة أو تعجن Pulping
العضلات المتأثرة (Songer, 1997).

2-9-2 ذيفان لامبدا Lambda toxin

أنزيم حال للبروتينات إلا أنه يختلف عن الذيفان كابا الحال للكولاجين الطبيعي بأنه يهاجم الجيلاتين
والكازئين والهيموغلوبين، يفرز من الذراري B,E وبعض ذراري D للمطثية الحاطمة

(Quinn et al., 2004).

2-9-3- NetB toxin : ذيفان NetB

يشابه الذيفان بيتًا من حيث تسلسل الأحماض الأمينية (38%)، كما يشابه الذيفان ألفا لجراثيم المكورات العنقودية (31%)، تم وصفه حديثاً ويعتقد أنه يساهم في حدوث المرض من قبل أغلب ذراري المطثية الحاطمة المسببة للتهاب الأمعاء التكرزي لدى الدواجن والطيور (Cooper and Songer, 2009; Lee and Lillehoj, 2021).

2-9-4- Tpel toxin: ذيفان Tpel

ذيفان سام للخلايا جديد ويشابه بتأثيره الذيفانات السامة للخلايا Clostridial cytotoxic الرئيسية، مُيز حديثاً في رشاحة الإنبات Culture Supernatant للمطثية الحاطمة النمط (C)، وأطلق عليه اسم Tpel، تمت تنقيته باستعمال (mab-based affinity chromatography)، لديه نشاط قاتل من 62 µg للجرعة الدنيا (MLD) في الفئران وفعالية سامة للخلايا (CU) cytotoxic units [6.2×10⁵] /mg في خلايا الفيرو Vero (Amimoto et al., 2007).

2-9-5- Mu toxin (Hyaluronidase): ذيفان ميو

يفرز من قبل أغلب ذراري الأنماط A,B وبعض ذراري C,D، يمتلك الذيفان Hyaluronidase فعالية حائلة لحمض الهالورونيك Hyaluronic acid كما يعرف بيوكيميائياً في المختبر بعامل الانتشار Spreading factor الذي يعمل على انخفاض مستوى لزوجة المادة الأساسية في النسيج الضام والتغيير في سلاسل الكربون الطرفية للهالورونيدات التي قد تمثل ركيزتهم النوعية ضد مختلف عديد السكريات للمضيف (Shimizu et al., 2002).

2-9-6- Nu toxin (DNase): ذيفان نيو

يفرز هذا الذيفان من قبل الذراري لجميع الأنماط ماعدا النمط B، ذيفان له خاصية تحليل الدنا DNA، لا يعتبر تأثير هذا الذيفان ذو أهمية في إحداث المرض (Quinn et al., 2004).

2-9-7- Sialidase: السيليداز

يساهم السيليداز في تحليل حمض الساليك sialic acid لأنسجة وخلايا المضيف (Gohari et al., 2021).

2-9-8- Clostripain-Collagenase: الكولاجيناز-الكولستريبين

أنزيمات حالة proteinases تحلل الجزيئات البروتينية المحررة والجزيئات البروتينية البنيوية Structural للمضيف وذلك بعد تحطيم الأنسجة من قبل الذيفانات الحالة والناخرة لجراثيم الحاطمة مثل الذيفان ألفا، ثيتا، والذيفانات المعوية (Gohari et al., 2021)

وقد أظهرت الدراسات الحديثة وجود عشرين جين، مُيزت حديثاً كعوامل فوعة للمطثية الحاطمة (Shimizo et al., 2002) ومن هذه الجينات:

alpha-toxin (plc), theta-toxin (pfoA), kappa-toxin (colA), 2', 3', -cyclic nucleotide phosphodiesterase (cpd), protein tyrosine phosphatase (ptp), hypothetical 7-kDa protein (kyp7), cysteine synthase (cysK), and cystathionine gamma-synthase (metB).

كما أن البيئة المعوية المهيأة للإصابة تعتبر العامل الأهم من عوامل الفوعة التي تحفز على النمو والتكاثر السريع لإحداث الإصابة وما يساهم في تكوين هذه البيئة من عوامل غذائية أو تربية أو بيئية أو العوامل التي تؤمنها الحاطمة بنفسها من ذيفانات وسموم وأنزيمات وجينات متنوعة متآزرة فيما بينها.

جدول (2-3) عوامل الفوعة الأكثر أهمية لبعض ذراري المطثية الحاطمة
(Gohari et al., 2021; Amimoto et al., 2007; Cooper and Songer, 2009)

الذيفان / الأنزيم	النمط الذي يفرز منه	التأثير البيولوجي
Kappa كابا	كل الأنماط	يحلل الكولاجين في الأنسجة- تلين -تعجن في النسيج
Lambda لامبدا	B,E D+ بعض ذراري	يحلل الجيلاتين- الكازين- الهيموغلوبين
NetB	أغلب ذراري المطثية عند الدواجن	يشارك الذيفانات الرئيسية في إحداث المرض
Tpel	C	سام للخلايا- يشارك في إحداث المرض
Mu ميو hyaluronidase	A,B C,D+ بعض ذراري	حال لحمض الهيالورونيك- ينقص مرونة النسيج
Nu نيو (DNase)	A,C,D,E	تحلل DNA
السياليداز	بعض ذراري المطثية	حال لحمض السياليك
الكلوستريين الكولاجيناز	بعض ذراري المطثية	حالة للبروتينات- تساهم في تأمين الغذاء من أحماض أمينية لتأمين عملية التكاثر والنمو السريع لجراثيم المطثية الحاطمة

10-2- السراية والحوامل والنواقل للمطثية الحاطمة *Transmission, Carriers, Vectors*

قد تكون جراثيم المطثية الحاطمة من أهم أنواع المطثيات المستوطنة والأوسع انتشاراً المسببة للإصابات والعدوى (McGinley, 1998)، وبشكل خاص في ظروف تربية مكثفة أو شبه مكثفة بحيث يعمل ذلك على زيادة الحموله الجرثومية والطفيلية والفطرية والأفلاتوكسينات في الحظائر كما تساهم طبيعة الأغنام في الجلوس على الأرض من زيادة التماس المباشر مع هذه الحموله من الجراثيم، ومن ثم التماس المباشر وغير المباشر فيما بينها كرضاعة الحملان الوالدة من أمهاتها وما إلى ذلك، ومن غير الممكن السيطرة بشكل كامل على هذا العامل مهما تعددت أساليب النظافة والوقاية.

كما يمكن وجود لكثير من المسببات المرضية الأخرى في الحظائر المكثفة كعامل مسبب للإصابة بالطفيليات المعوية التي تمهد للإصابة الثانوية بالمطثية الحاطمة (Leiti-Browning, 2008)..

كما يرتبط مرض التذيفن الدموي المعوي بالتغيير المفاجئ في النظام الغذائي وبشكل خاص عندما تكون العليقة غنية بالطاقة و/أو البروتين الذي يعتبر العامل الرئيسي لهذا المرض (William, 2012).

يعمل التغيّر الفصلي خلال العام الواحد على زيادة أو انخفاض في نسبة الإصابة بمرض التذيفن الدموي المعوي إذ من الملاحظ ازدياد في نسبة الإصابة في مرحلة الانتقال من فصل إلى فصل وبشكل خاص في فصل الربيع وفصل الخريف وفي فصل الشتاء البارد حيث يعمل الجو البارد على زيادة عوامل الإجهاد والفرص لحدوث الإصابات التنفسية الأولية والثانوية (Uzal et al., 2022)، يمكن أن ينتقل المسبب بواسطة الذباب (Dhillon et al., 2004).

2-11- الآلية الإمراضية لجراثيم المطثية الحاطمة ودورها في الإصابة بالتذيفن الدموي المعوي *Pathogenesis of Clostridium perfringens*

قد تنمو المطثية الحاطمة في بيئة معينة مثل التربة، وتبقى في الشكل البوغي وعندما تدخل الأبواغ إلى الأنسجة الحية عن طريق الجروح مسببة التهاب الهلل (النسيج الخلوي) في ظروف لاهوائية Anaerobic cellulites، أو مرض الأكال أو الموات الغازي (نخر عضلي myonecrosis) (النمط A بشكل خاص)، في حال التسمم الغذائي لدى الإنسان (إسهال بعد 6-24 ساعة من تناول اللحم الملوّث) يتزافق مع الإسهال التهاب الأمعاء النّخري حيث تنمو هذه الجراثيم بسرعة مستعملة المواد الناتجة عن تحطيم نسيج المضيف من قبل ذيفاناتها المختلفة (Shimizu et al., 2002; Uzal et al., 2022).

يمكن لجراثيم المطثية الحاطمة أن تعمل على تفكيك السّكاكر المعقدة Polysaccharides إلى سكاكر بسيطة لتتمكن من استهلاكها كمصدر للطاقة وذلك بفعل الأنزيمات الحالّة للسكاكر Saccharolytic Enzyme المختلفة التي تفرزها، وفي وسط تخمّر Fermented لاهوائي Anaerobic Glycolysis لتوليد الطاقة وكمية وفيرة من الغاز الأمر الذي يعزز عملية التخمر والوسط اللاهوائي لمزيد من التفاعلات المتواترة ما يجعل البيئة أكثر ملائمة لتنشيط نمو وتكاثر جراثيم الحاطمة (Shimizu et al., 2002; Uzal et al., 2022).

تفرز الحاطمة خمسة أنواع من الهيالورونيداز Hyaluronidases تعمل على تفكيك عديدات السّكريد Polysaccharides مثل حمض الهيالورونيك Hyaluronic و سلفات الكوندرتين Chondroitin Sulfate وبذلك تستطيع هذه الجراثيم التغلغل والانتشار في عمق الأنسجة (Shimizu et al., 2002).

كما تعمل الذيفانات الرئيسية الحالة للخلايا cytolytic التي تفرز من المطثية الحاطمة ومنها ذيفان ألفا، ثيتا، والذيفانات المعوية Enterotoxins التي تحطّم خلايا المضيف بغية تحرير المواد المختلفة اللازمة لنمو وتكاثر الحاطمة، كما تشارك أنزيمات البروتيناز Proteinases التي تفرزها الحاطمة أيضاً في تفكيك الحطام الخلوي والبروتينات المحرّرة والبروتينات البنيوية إلى جزيئاتها الأولية من أحماض أمينية وغيرها، مثل الكلوستريبين Clostripain والكولاجيناز Collagenase حيث أنّ الأحماض الأمينية والبيبتيديات peptides يتم استخدامها في تكوين خلايا مطثية حاطمة جديدة وبشكل وفير وذلك بواسطة العديد من النّواقل الضرورية لتصنيع بروتينات تخدم تكوين جراثيم جديدة وذلك لنقص العديد من الأنزيمات للتخليق البيولوجي للأحماض الأمينية (Songer et al., 2004).

تعمل ذيفانات المطثية الحاطمة على نخر الأنسجة حيث تبدأ الأحداث من قمع الزغابات المعوية وتتطور إلى نخر مخاطي واسع الانتشار (Popoff, 1984) من هذه الذيفانات الذيفان ألفا الذي يفرز من جميع أنماط الحاطمة ويهاجم أغشية الخلايا المبطنة لمخاطية الأمعاء مسبباً "تفجي ونخر الخلية وتحطيمها كما يسبب إذابة الشحوم المفسفرة في غشاء كريات الدم الحمراء والصفائح الدموية وكريات الدم البيضاء والخلايا البطانية والخلايا العضلية مسبباً" تحللها بتأثيره النادر للأنسجة والحال للدم (Songer et al, 2004) ما يؤدي إلى تكتل الصفائح الدموية الأمر الذي يعيق جريان الدم في الأوعية الدموية ويسبب نقص في التروية والأكسجة الخلوية وتسرب الشوارد والكهارل من الخلايا المنتخرة ومنها شوارد الصوديوم والكالسيوم، الأمر الذي يمكن أن يؤدي إلى الصدمة والموت بمضاعفات قلبية وعائية (Timoney et al., 1988)، كما تعمل بعض الذيفانات على حل بروتينات الخلايا وتحطيم الكولاجين ما يؤدي إلى تليين ورخاوة أو تعجن العضلات والأنسجة المتأثرة (Songer, 1997)، كما يتوجه البعض منها إلى مهاجمة الجيلاتين والكازين والهيموغلوبين (Quinn et al., 2004) إلى جانب تأثير هذه الذيفانات الكبير على الجهاز العصبي المركزي والأنسجة الأخرى والتي تسبب أيضاً الموت المفاجئ، حيث يتسبب الذيفان إبسيلون في تحلل وتنكس البطانة الوعائية مسبباً "انتفاخ ومن ثم تفجي في بروتات الخلايا النجمية ما يؤدي إلى تليين الدماغ البؤري أو المنتشر، كما يحدث خسارة لبروتينات البلازما والماء وتسرب سريع للسائل مما يسبب ضغط مرتفع داخل المخ وتطور مناطق التنكس والنخر فيه (Finnie et al., 1999; Finnie et al., 2020).

12-2- العلامات الإكلينيكية والصفات التشريحية العيانية والنسجية لأنماط المطثية الحاطمة عند الأغنام

Clinical and histopathological changes of Enterotoxemia

12-2-1- التذيفن الدموي المعوي من النمط A: *C. perfringens* Type A

تعتبر ذراري النمط A من أكثر الجراثيم الواسعة الانتشار في العالم وتوجد بشكل رئيسي في أمعاء الإنسان والحيوانات ذات الدم الحار وفي البيئة والتربة، بينما تتأقلم الأنماط الأخرى B, C, D, E للبقاء Survival في الأمعاء، لكن في حالات تفشي المرض Outbreak تبقى في التربة لفترة طويلة كافية لإصابة حيوانات أخرى (Navarro and Uzal, 2020).

يسبب النمط A تذييفن الدم المعوي في الحملان المعروف أيضاً بمرض الحمل الصففر yellow lamb disease، تفرز جراثيم هذا النمط الذيفان ألفا Alpha، تنشط الإصابة بالمرض في الربيع بالمقام الأول في الوقت الذي تكون فيه أعداد الحملان الرضيعة عالية، بعض ذراري النمط A لا تنتج ذيفان ألفا كافي لقتل الفئران تحت ظروف الاختبار المثالية تدعى هذه الذراري باسم الذراري غير المذيقة nontoxigenic من قبل بعض الباحثين ونمط A من قبل باحثين آخرين (Uzal et al., 2022).

الذيفان ألفا CPA هو الليسيثيناز الانحلالي (فوسفوليپاز) وهو المسؤول عن انحلال الدم واليرقان الحاد الذي لوحظ في الحملان المصابة بالحمل الأصفر، تكون آلية النشاط الانحلالي للذيفان CPA متباينة بشكل كبير في أنواع مختلفة من الحيوانات حيث تكون كريات الدم الحمراء عند الأغنام هي

الأكثر حساسية لعمل هذا السم (Verherstaeten et al., 2023)، يعمل تأثير الذيفان ألفا على محددات مختلفة موجودة على سطح الخلايا، حيث يحلل الفوسفاتيديل كولين (PC) الذي يتحلل بدوره إلى السفنغومايلين (SM) والذي يتحلل أيضاً إلى دياسيل جليسيرين وسيراميد، كما يعمل الذيفان ألفا على تنشيط أنزيمات المضيف الذاتية بشكل غير مباشر والتي تحمل خصائص الفوسفوليپاز والسفنغومايلاز، وبذلك يطبق الذيفان ألفا تنشيط مسار تآزري على غشاء الخلية بين CPA و Sialidase ما يؤدي لتحرير أحماض السياليك الضرورية لتكوين بنية gangliosides ما يعمل على إزالة حمض السياليك بواسطة sialidase Perfringens ما يؤدي إلى زيادة حساسية الخلية تجاه CPA في الجسم الحي وفي المختبر (Shahna et al., 2022).

عندما يهاجم الذيفان ألفا CPA الخلايا ويعمل على موتها بما يسببه من تلف الغشاء الهولي مؤدياً إلى إفراز اللاكتات ديهيدروجينيز وهو ما يميز النخر بيولوجياً، كما يعمل على توليد أنواع الأوكسجين التفاعلية ما يؤدي إلى الإجهاد التأكسدي وبالتالي تنشيط آليات الاستماتة الذاتية (Uzal et al., 2019; Verherstaeten et al., 2023).

تشير الدراسات إلى أن الأغنام المصابة تظهر عليها علامات إكلينيكية تشمل اليرقان Icterus، بيلة خضابية hemoglobinuria، فقر دم anemia، خمول depression، نفخ tympani، وقد يحدث إسهال شديد، نفوق بعد فصل إكلينيكي من 6 إلى 12 ساعة، أو العثور على الحملان ميتة، عند الفحص الجرثومي يلاحظ التعداد الجرثومي المرتفع لجراثيم الحاطمة 10^4 (مستعمرة CFU/غرام) تشاهد غالباً في المحتويات المعوية، وآفات عيانية تتضمن التهاب المنفحة abomasitis، وتقرح المنفحة abomasal ulceration، تضخم الطحال، تضخم الكبد، الكبد بلون باهت مصفر، توذم بالكلية، تظهر الكلية بلون أحمر داكن، وذمة رئوية بشكل مخصوص وملحوظ، احمرار في تجويف القصبات مع وجود رغوة زهرية أحياناً، وذمة عامة، تراكم سائل مصلي في تجويف الصدر، نسيجياً يمكن أن يظهر تحت المجهر التهاب الأمعاء النخري، نخر مركزي في الكبد، إصابة حادة في النبيبات مرتبطة بالهيموغلوبين

(Shimizu et al., 2002; Uzal et al., 2022).

وجد (Uzal et al., 2019) عند الإصابة من النمط A تورم غيمي وتمزق الخلية في الظهارة المبطنية للأمعاء كما وجد نزيف منتشر في نسيج الأمعاء، كما وجد (Kalender, et al, 2023) التهاب نزفي حاد في الغشاء المخاطي للأمعاء ونخر وتآكل في الغشاء المخاطي وارتشاح لخلايا التهابية السائد عليها خلايا العدلات، واحتقان في الأعضاء الداخلية ونزف كدمي على القلب، كما وجد (Simpson et al., 2020) نخر منتشر في الطبقة المخاطية للأمعاء بالإضافة إلى التهاب البريتوان والتهاب الكبد وبشكل خاص عند الحملان والتهاب رئوي وذمة في الرئة.

وجد (Uzal et al., 2022) أيضاً احتقان رئوي وذمة رئوية وذمة عامة ونزف في شغاف القلب بالإضافة إلى نخر الكبد المركزي والتهاب النبيبات الكلوية المرتبط بالهيموغلوبين.

2-12-2- التذيفن الدموي المعوي من النمط B: *C. perfringens* Type B

تحدث الإصابة بالتذيفن الدموي المعوي من النمط B على شكل مرض ديستنتريا الحملان Lamb Dysentery (زحار الحملان) في الحملان المولودة حديثاً، تفرز جراثيم هذا النمط الذيفان بيتا Beta والذيفان إبسيلون Epsilon، إن دور السموم فيه معقد، يتسبب الذيفان بيتا بأفات معوية بينما آفات الجهاز العصبي يتوسط فيها الذيفان إبسيلون الذي يتطلب تنشيطه أنزيمات البروتياز في الوقت الذي تعمل به هذه الأنزيمات على تعطيل الذيفان إبسيلون (Gohari et al., 2021). وقد أشار العالم دالنيك عام 1926 إلى أن زحار الحملان عادةً ما يتطور خلال الأيام القليلة الأولى للحياة، مع العلم أن الحملان الأكبر عمراً قد تصاب بالمرض في حال تفشى الوباء (Songer, 1996).

يرتبط الذيفان بيتا CPB على مستقبلاته في سطح الخلايا التي تختلف باختلاف الخلايا والأنواع فيشكل مسام وظيفية صغيرة في غشاء البلازما للخلايا الحساسة له الأمر الذي يسمح بدخول شوارد Ca^{2+} Na^{+} Cl^{-} إلى الخلايا المتضررة ما يؤدي إلى تورم الخلية الغيمي، كما يؤدي إلى حدوث اضطراب سريع في الهيكل الخلوي للأكتين ومن ثم انكماش الخلية وتراجع في حدود الخلية ونخر الخلية، كما يمكن دخول شوارد البوتاسيوم للخلية ما يعمل على خلل في فسفرة الطاقة JNK kinasis P₃₈ MAP (Gohari et al., 2021).

تعتبر الدلالة الأساسية للمرض هو الموت المفاجئ، بدون أي أعراض سابقة في الحالات فوق الحادة Per acute، أو ممكن أن تسبق بتوقف عن الطعام، خمول شديد، ألم بطني حاد مصحوب بإسهال دموي، الاستلقاء Recumbence، غيبوبة، وموت في أقل من 24 ساعة، قد تصل نسبة الإصابة إلى 30% مع نسبة نفوق قد تصل إلى 100%، تتسم أعراض المرض المزمن (يدعى بالهزال pine) في الحملان الأكبر سناً كآلم بطني مزمن بدون إسهال (Songer, 1996; Dadhich et al., 2021).

لوحظ عند الإصابة بدسستنتريا الحملان احتقان وتورم في الأمعاء الدقيقة والغليظة، التهاب الأمعاء النزفي، نخر في مخاطية الأمعاء نازف أحمر، التهاب الأمعاء الدفتريائي النزفي، من الممكن ظهور عصيات الحاطمة تحت المجهر مختلطة مع الفيبرين والخلايا المتوسفة وكريات دم بيضاء متنوعة (Uzal and Songer, 2008)، كما وجد (Simpsson et al., 2020). التهاب الأمعاء والقولون النزفي الحاد أيضاً وبشكل خاص عند الحملان حديثة الولادة، وجد أيضاً (Gohari et al., 2021) التهاب الأمعاء النخري الحاد وهو ما يُدعى بالزحار وقد اقتصر على الصغار من المواليد عموماً في الحملان التي تبلغ من العمر ما هو أقل من (21) يوماً.

2-12-3- التذيفن الدموي المعوي من النمط C: *C. perfringens* Type C

يسبب النمط C للتذيفن الدموي المعوي في الأغنام البالغة (نموذجي في النعاج الفتية) مرض الصدمة Shock حيث أن الاسم مشتق من الموت السريع المترافق مع الحالة والذي غالباً ما يترك

انطباع أن الحيوان صُعق بالبرق Shock by Lightning، وهو يشبه مرض ديسنتريا الحملان (Songer, 2006).

إنَّ الفعل الأولي لذيضان بيتا beta الذي تفرزه ذراري جرثيم هذا النمط يكون في ظروف انخفاض نشاط الأنزيمات الحالة للبروتينات Proteolytic وقد يكون ذلك بسبب نقص إفراز البكرياس في الفترة القصيرة بعد الولادة أو بسبب تناول غذاء مثبط للبروتياز Protease Inhibitors، ويؤدي هذا الذيفان دوراً واسعاً ومركزياً في النشوء المرضي حيث تلتصق المطثية الحاطمة بمخاطية الصائم Jejuna وتحدث الضرر فيها، كما يحدث الضرر في الزغابات الدقيقة Macrovilli، المتقدرات Mitochondria، والأوعية الشعرية المحيطية للمعدة الأمعاء Intestinal Lumen، حيث يبدأ النخر في قمم زغابات الصائم Villi Jejunal ثم تتطور إلى نخر مخاطي واسع الانتشار يرافقه موت في الخلايا الطلائية وتوسفها Desquamation يتبعه غزو جرثومي Bacterial Invasion إضافي، وتضاعف Multiplication جرثومي، وإنتاج لكمية ذيفانات أكبر وهكذا (Songer, 1996; Wang et al., 2022).

لوحظ في الحملان والماعز من قبل العالمين غراينر وجونسون في عام 1954 (Songer, 1996) النفوقات الحادة أو فوق الحادة شائعة، وإذا ظهرت علامات إكلينيكية يكون عادة لفترة قصيرة قبل الموت، منها الخمول يتبع بالإسهال والزحار، إسهال نزفي شديد، جفاف، وأحياناً مغص، العلامات العصبية ومنها التكرز Tetany وتقوس الظهر Opisthotonus قد تحدث أيضاً أو قد تغيب العلامات الإكلينيكية، أو قد تسبق بفصل إكلينيكي لعدة أيام، قد تصل نسب الهجمات Attack Rates غالباً بين 15 إلى 20% بنسب نفوق عالية قد تصل إلى 100% في المناطق التي يكون فيها المرض مستوطناً Endemic (Timoney et al., 1988; Hayati and Tahamtan, 2020).

غالباً ما يكون الضرر المطبق على الغشاء المخاطي للمنطقة المعدية المعوية سببه غذاء رديء النوعية، الآفات تكون في الصائم Jejenum واللفائفي Ileum مع نخر الزغابات Villi حيث تتضاعف الذراري من النمط C في المنفحة والمعوي الدقيق مسبباً نخر المخاطية Mucosal Necrosis والتهاب الأمعاء النخري، والتهاب الأمعاء النزفي متعدد البؤر وتكون نسبة الإصابة الأكبر في الدقاق، بؤر نخريّة واضحة على شكل حلقات مليئة بالدم والفيرين، وقد تتضمن علامة التذيفن تراكم لسوائل في البريتوان والتجويف الصدري، وقد تغيب الآفات العيانية من الأمعاء (songer, 1996; Uzal and Songer, 2008).

كما لاحظ (Simpsson et al., 2020) عند الإصابة من النمط C التهاب القولون والأمعاء النزفي مترافق مع إسهال دموي حيث غالباً ما تصيب الصدمة الأغنام البالغة في أوائل الربيع بمظاهر من المغص التبيسي ثم الموت المفاجئ، كما وصف الآفات المجهرية بالتهاب الأمعاء النخري الحاد كون طبيعة الإصابة غالباً ما تكون حادة أو فوق جادة مميتة حيث يبدأ النخر من قمم الزغابات المعوية والظهارة المبطنية للأمعاء في الطبقة المخاطية والطبقة تحت المخاطية التخثري

واضطرابات في الدورة الدموية واحتقان الأسطح المصلية وحالات من نزف منتشر أو بؤري على الأعضاء الداخليّة واحتقان ووذمة رئويّة.

فيما تحدّث (Gohari et al., 2021) عن الإصابة من النمط C أنها تسبب التهاب الأمعاء النخري مع الاستعداد بشكل أكبر للإصابة بالمرض من قبل المواليد حديثة الولادة، وقد لاحظ وجود نخر منتشر في الغشاء المخاطي للأمعاء مغطى بطبقة فيبرينية كاذبة واحتقان في الطبقة المصلية للأمعاء واحتقان وتوذم الرئة وتختثر الدم في الأوعية الدموية ووذمة بروتينية حول الأوعية الدموية.

في حين وجد (Kalender, et al, 2023) أن المرض من النمط C لايزال مثيراً للجدل.

2-12-4- التذيفن الدموي المعوي من النمط D: *C. perfringens* Type D

يسبب هذا النمط التذيفن الدموي المعوي على شكل مرض الكلية الرخوة Pulpy kidney أو ما يدعى بمرض التخمة Overeating، تفرز ذراري النمط D الذيفان إيسيلون ETX والذيفان بيتا CPB بالإضافة للذيفان ألفا CPA الذي تفرزه جميع أنماط المطثية الحاطمة، منتشر عند الأغنام في كل الأعمار ما عدا المواليد الرضعية newborns وسائد في حملان التسمين التي أعمارها بحدود 10 أشهر والتي تتغذى على عليقة غنية بالحبوب أو عند الحملان التي تتسلل إلى غذاء أمهاتها بشكل مفاجئ أو مفرط والحيوانات الصغيرة (3-10 أسابيع) والتي ترعى على المراعي الخصبة هي أكثر عرضة للمرض من تلك التي ترضع من أمهاتها Lactating Ewes (Timoney et al., 1988).

قد أشار العالم بولين عام 1970 إلى أن هذه الجراثيم تفضل توفر النشاء الزائد في الغذاء في المعى الدقيق حيث يعمل على توفير الغذاء لأعداد أكثر من الجراثيم الحاطمة وإنتاج أكثر لذيفان إيسيلون كما أن ذلك يسهل عملية امتصاص الذيفان (Songer, 1996).

يعتبر الذيفان إيسيلون رغم خطورته سمّاً أوليّاً ضعيفاً يتم تحريره كطليعة ذيفان غير ناضج وبثأثير العديد من انزيمات البروتياز المعوي مثل التربسين والكيমوتربسين a والكاربوكسي بيبتيდაز التي تعمل على تحرير الذيفان فيتحوّل من طليعة ذيفان إلى ذيفان ناضج ونشط أكثر سمّيّة 1000 مرّة عن السم الأولي، يعالج بروتياز المضيف طليعة الذيفان إيسيلون بطريقة تدريجية ما ينتج عن ذلك ثلاثة أنواع من ETX مع بقايا طرفية متفاوتة في جزيئاتها ولكل منها الشكل السام، حيث يرتبط بالخلايا الظهارية ويدمرها وبشكل خاص الخلايا المبطنّة للنبيبات البعيدة والنبيبات الجامعة في الكلية ومجرى البول والمثانة، ويصبح مظهر الكلية داكن والقوام شبيه بالهلام (Gohari et al., 2021; Navarro and Uzal, 2020).

من عوامل الفوعة المهيأة للمرض، عندما تستهلك الحملان والجداء الحليب بشكل مفرط أو عند تناول كميات عالية من الحبوب مع انخفاض في نسبة المادة الجافة (قش، أو عشب أخضر)، أو عندما تتعافى من مرض أو إجهاد حيث تكون المناعة الطبيعية منخفضة، أو كنتيجة للغزو الثقيل للطفيليات المعويّة مثل الديدان الممسودات Nematoda والإكريات Coccidia، أو عندما تصاب

بما يسبب بطء في حركة السبيل الهضمي Peristalsis، كما يرتبط غالباً باضطراب في نبيت الأمعاء Gut Flora، كل ذلك يؤدي إلى توفر البيئة الدقيقة Microenvironments الملائمة للتضاعف السريع لجراثيم الحاطمة وإنتاج أكبر لذيّفان إيسيلون (Dorca-Arévalo and Gõmes de Aranda, 2022).

تسبب تأثيرات الذيفان على الجهاز العصبي والأنسجة الأخرى موتاً مفاجئاً في الحملان التي تكون بحالة جيّدة، أما الحيوانات التي قد تبقى حيّة فتظهر عليها علامات إكلينيكية مثل الباردة أو الفتور، تمايل، عمى ظاهري، وفي بعض الحيوانات ممكن أن نلاحظ تهيج، عدم تناسق حركي، انحراف الرأس، تقوّس الظهر Opisthotonus، وتشنّجات Convulsions، قد تدور الحملان المصابة أو تدفع برؤوسها ضد الأجسام الثابتة، يليها احتضار Agonal Struggling وتموت خلال 24 ساعة (Songer, 1996; Garcia et al., 2013).

تبيّن الصفة التشريحية احتواء الكرش والمنفحة نموذجياً على كمّيّة كبيرة من الغذاء غير المهضوم، ربما يلاحظ عند الحملان الصغيرة بضع مناطق فقط محتقنة Hyperemic في الأمعاء وسوائل في كيس التامور، بينما يلاحظ في الحيوانات الأكبر عمراً بقع نزفيّة على عضلة القلب Myocardium، أو نزف حبري Petechial أو نزف كدمي Ecchymosis في الطبقة المصليّة للأمعاء Serosa وعضلات البطن مع وذمة رئويّة واحتقان (Gohari et al., 2022).

لا يعتبر النزف هو علامة فارقة للشكل النموذجي للمرض من النمط D عند الأغنام أو الماشية، إلا أنها يمكن أن تلاحظ المناطق النزفية في المعى الدقيق، ونزف حبري Petechial Hemorrhage على التامور، كما يمكن أن يلاحظ نزف تحت شغاف القلب Sub endocardial، وحول الصمام التاجي، كما يعتبر النضح المصلي في البريتوان Peritoneal Effusions والنضح في التامور Pericardial العرض المثالي في الأغنام (Gohari et al., 2021; Navarro and Uzal, 2020) كما ذكر أن الإصابة من هذا النمط تسبب التهاب الخلايا المبطنّة للنبيبات الكلوية التخثري ونخر كببيي حاد واحتقان الأوعية الدموية في الكلية والتهاب النسيج الخلالي الكلوي الحاد مع ارتشاح خلايا التهابية من عدلات ووحدات وخلايا متعددة الأشكال.

وجد (Uzal et al., 2019) نخر في الزغابات المعوية ابتداءً من أطراف الزغابات وارتشاح لخلايا التهابية وبشكل خاص العدلات.

بينما تحدث (Simpsson et al., 2020). عن اضطراب ونخر في الخلايا البطانية للأوعية الدموية وآفات وعائية ونخر في الخلايا العصبية والخلايا النجمية والخلايا قليلة التغصنات مع تليّن الدماغ البؤري وذمة في القلب والرننتين والدماغ ونضح لسوائل التهابية في التامور والجانب، حيث يعتقد (Finnie et al., 2020) أنّ مستقبلات الذيفان إيسيلون ETX تتوضع على الخلايا البطانية في أماكن معيّنة من الدماغ والرننتين وتسبب آفات حادة وقد وصف الآفات القلبية والرئويّة أنها أقل شدة من الآفات الدماغية، كما وجد نخر في العقدة الجيبية الأذينية في القلب مترافق مع

وذمة وعائية متوسطة إلى شديدة حيث كان سبب النفوق هو الآفات القلبية الرئوية أو الدماغية أو الكلوية.

لاحظ (Uzal et al., 2019) تورّم الخلايا الغيمي وتوذم النسيج الخلالي وتنكس فجوي وتنكس زجاجي على شكل قوالب ذات طبيعة بروتينية في النبيبات الكلوية ونخر نبيبي ونخر كبيبي واحتقان ونزف منتشر في النسيج الخلالي الكلوي بسبب تنكس الخلايا المبطنة للشعيرات الدموية الكلوية، كما وجد نخر تخثري وضمور في الكبيبات الكلوية مع اضطراب في محفظة بومان والتهاب النسيج الخلالي الكلوي وانسلاخ في الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية.

وقد وجد (Manday et al., 2020) أن الإصابة بجراثيم المطثية الحاطمة من النمط D تكون حادة أو فوق حادة تسبب بشكل أساسي التهاب الكبد النخري البؤري أو متعدد البؤر محاط ببرد فعل التهابي من كريات دم بيضاء متكون بشكل أساسي من العدلات المنحلة والعدلات النشيطة وعدد قليل من الخلايا الليمفاوية والمصورية وخلايا النسيج الضام كما يسبب نخر حاد للنبيبات الكلوية الملتهقة القاصية والدانية مع تسلل لعدد كبير من خلايا العدلات.

تفسر ظاهرة الكلية العجينية أو الرخوة Pulpy kidney بامتصاص كمية كبيرة من الذيفانات من الأمعاء، حيث أن هذه الجراثيم تتكاثر بسرعة في الحيوانات، منتجة كميات كبيرة من الذيفانات التي تسبب التهاب الأمعاء والقولون Enterocolitis، ثم تُمتص إلى مجرى الدم فتحدث تخريباً في بطانة الأوعية الدموية وتسبب في زيادة نفاذية الأوعية الدموية كما تظهر الوذمة في الرئتين والكلى، وبذلك تعبر الحالة عن مرض الكلية الرخوة، تتركز مستويات الإصابة والنفوق العالية في الحيوانات الصغيرة من الحملان والجداء باعتبارها أكثر حساسية لهذا المرض، مع وجود إصابات في الحيوانات البالغة ولكنها قد تطور مناعة بسبب التعرض المتكرر لهذه الذيفانات (Giannitti et al., 2021) كما تحدث عن وجود استسقاء في الصدر ووذمة رئوية سنخية ووذمة في النسيج الخلالي الرئوي وآفات رئوية شديدة حول الأوعية الدموية ونزف في عضلة القلب وتنكس ونخر متعدد البؤر في عضلة القلب مع ارتشاح لخلايا التهابية من عدلات ولمفاويات وأرومات ليفية.

تبين الصفة التشريحية العصبية في الأغنام المتأثرة بالمرض تلين الدماغ البؤري (التهاب تميعي في الدماغ) Focal Encephalomalacia ويتميز بالتوزع الصدفي Haphazard Roaming، وعمى Blindness، وارتفاع الضغط في الرأس Head Pressing، وعدم القدرة على تناول الغذاء Inability to eat، في حال كانت الإصابة في طور الإزمان فتظهر التغيرات التشريحية العصبية من خلال آفات الدماغ المتناظرة الثنائية Bilaterally Symmetrical Brain (Dorca-Arévalo and Gômes de Aranda, 2022).

5-12-2- التذيفن الدموي المعوي من النمط E: *C. perfringens* Type E

تفرز ذراري النمط E الذيفان أيوتا ITX Iota بالإضافة للذيفان الفا CPA، هذا النمط غير شائع لالتهاب الأمعاء والتذيفن الدموي المعوي في الحملان، العجول، الأرناب، والكلاب (MaClane et al., 2000).

سجلت في أربعينيات القرن العشرين حالات تذيفن الدم المعوي بذيافان أيوتا في العجول والحملان، وأشارت الإحصائيات المنشورة منذ ذلك الوقت والمتمثلة بحالات التهاب الأمعاء النخري النزفي في العجول إلى عزل جراثيم المطثية الحاطمة وذيافان أيوتا من أمعاء الأبقار أو الضأن بعد النفوق في غياب لعلامات التذيفن الدموي المعوي المسبب بالحاطمة، إلا أنه قد وجد تشابه وظيفي لذيافان أيوتا للمطثية الحاطمة مع ذيافان المطثية الحلزونية *C. spiroforme* وإن كشف الذيفان في محتويات الأمعاء هو الإجراء التشخيصي الوحيد للتفريق بينهما، لذا لا بد من العمل التجريبي لتوضيح آلية عمل كل من هذه الكائنات الحية كعوامل مسببة للمرض في الحيوانات المستأنسة (Songer, 1996; Gohari et al., 2021).

إلا أن الدور الأهم لذراري النمط E في دورها باحتوائها جينات عوامل الفوعة القوية الإضافية التي تشفر لذيافان بيتا2، اليورياز Urease، أو ذيافان لامبدا Lambda (Jost et al., 2005).

لاحظ (Simpsson et al., 2020). التهاب الأمعاء النزفي النخري عند الأغنام المصابة بهذا النمط.

6-12-2- التذيفن الدموي المعوي من النمط F: *C. perfringens* Type F

تؤكد الدراسات أن إنتاج الذيفان المعوي CPE ضروري لإحداث أمراض الجهاز الهضمي من سلالات النمط F المرتبطة بالتسمم الغذائي الغير منقول على الغذاء كما يمكن أن يفرز من بعض سلالات الأنماط C,D,E، يؤثر الذيفان CPE على الأمعاء الدقيقة لجميع الثدييات المختبرة فقد لوحظ قصر في الزغابات المعوية وتوسف الظهارة المبطنية المعوية وإسهال ما يؤدي إلى فقدان السوائل والكهارل، وقد وجد عند حقن أمعاء أرناب بهذا الذيفان خسارة شبيهة كاملة للغشاء المخاطي المبطن للأمعاء. (Hayati and Tahamtan, 2020).

يرتبط الذيفان بشكل أساسي بأطراف الزغابات المعوية إلا أنه يعمل على تدمير الزغابة بكاملها، توجد مستقبلاته على الموصلات الخلوية والغشاء الخلوي ويعمل تأثيره بتشكيل مسام ومن ثم تشكيل معقد مقاوم لأنزيمات الترسين، تطلق الخلايا المتأذية عامل السيرين بروتياز ما يعمل على نخر الخلايا المجاورة السليمة وهذا ما يفسر توسف الزغابة بالكامل (Kiu et al., 2023).

7-12-2- التذيفن الدموي المعوي من النمط G: *C. perfringens* Type G

يفرز النمط G الذيفان NetB الذي يسبب أمراضاً إما أن تكون حادة مثل التهاب الأمعاء النخري Necrotic enteritis (NE) عند الدجاج بعمر 2-4 أسابيع والذي قد يسبب نسبة نفوق مرتفعة، أو أن يحدث المرض بشكل تحت حاد Subacute فيحدث بؤراً نخرية في الأمعاء أو يمكن أن يشكل تغيرات كبدية مرتبطة بالمطثية الحاطمة (CPH) *C. perfringens*- associated

change hepatitis مع التهاب الأقنية الصفراوية والكبد cholangiohepatitis أو نخر فيبريني في الكبد، وقد تم تسجيل انتشار التهاب الأمعاء النخري في العديد من البلدان مما يسبب مشاكل اقتصادية كبيرة بشكل دائم (Lee and Lillehoj, 2021).

يصنف الذيفان NetB كعضو من عائلة الهيمولازين a-hemolysin، يرتبط بمستقبلات على الخلية ويشكل مسام فيها، لم يتم تحديد المستقبل النوعي له بعد (Gohari et al., 2021).

ظهر المرض بشكل خاص في البلدان النامية والتي تعتمد التربية المكثفة لدجاج اللحم كما شُخص التهاب الأمعاء النخري عند الإوز البري والغربان البرية والنعام Ostriches وفي الطيور المستأنسة capercaillies (Shahna et al., 2022).

2-13- التشخيص Diagnosis:

يعتمد الأساس التشخيصي لمرض التذيفن الدموي المعوي في المجترات بشكل كبير على الأعراض الإكلينيكية وزمن النفوق والصفة التشريحية Necropsy بشكل أساسي والآفات النسيجية وتأكيد وجود التهاب في الأمعاء أو سوائل مصلية في تجاويف الجسم أو نزف بؤري أو منتشر على أعضاء الجسم، ثم العمل على عزل جراثيم المطثية الحاطمة من محتويات الأمعاء وأجزاء من بعض الأعضاء الداخلية للحيوانات المتأثرة والعمل على الزرع الجرثومي على الأوساط الانتقائية. (Simpsson et al., 2017; Dorca-Arévalo et al., 2022).

لذا فإن تشخيص مرض التذيفن الدموي المعوي المسبب بالمطثية الحاطمة يتبع عدة محاور متسلسلة وهي:

2-13-1- الأعراض الإكلينيكية والصفة التشريحية Clinical Sing and Macroscopic change

تتصف الأعراض الإكلينيكية لأشكال المرض عند المجترات كونها مشتركة إلى حد كبير فيما بينها سواء أن اختلف العائل أم النمط المسبب للمرض، ففي حال كان سير المرض في الحيوانات المصابة فوق حاد Per acute فإنه على الغالب يحدث النفوق السريع والمفاجئ وبدون أي أعراض إكلينيكية تمهد لوجود المرض، أما عند الإصابة بالشكل الحاد للمرض فتظهر عادة علامات الخمول، وفقدان الشهية Inappetence، وألم بطني وإسهال مدمى أحياناً تظهر اختلاجات عصبية على هيئة ارتجافات عضلية وتقوس الظهر Opisthotonus والاستلقاء، وقد تدوم هذه الأعراض بين 2-12 ساعة، أما في حال كان سير المرض تحت حاد أو مزمن فغالباً ما تعاني الحيوانات المصابة من إسهال نزفي إلا أن الشكل المزمن للمرض نادر الحدوث (Songer, 2006; Navarro and Uzal, 2020).

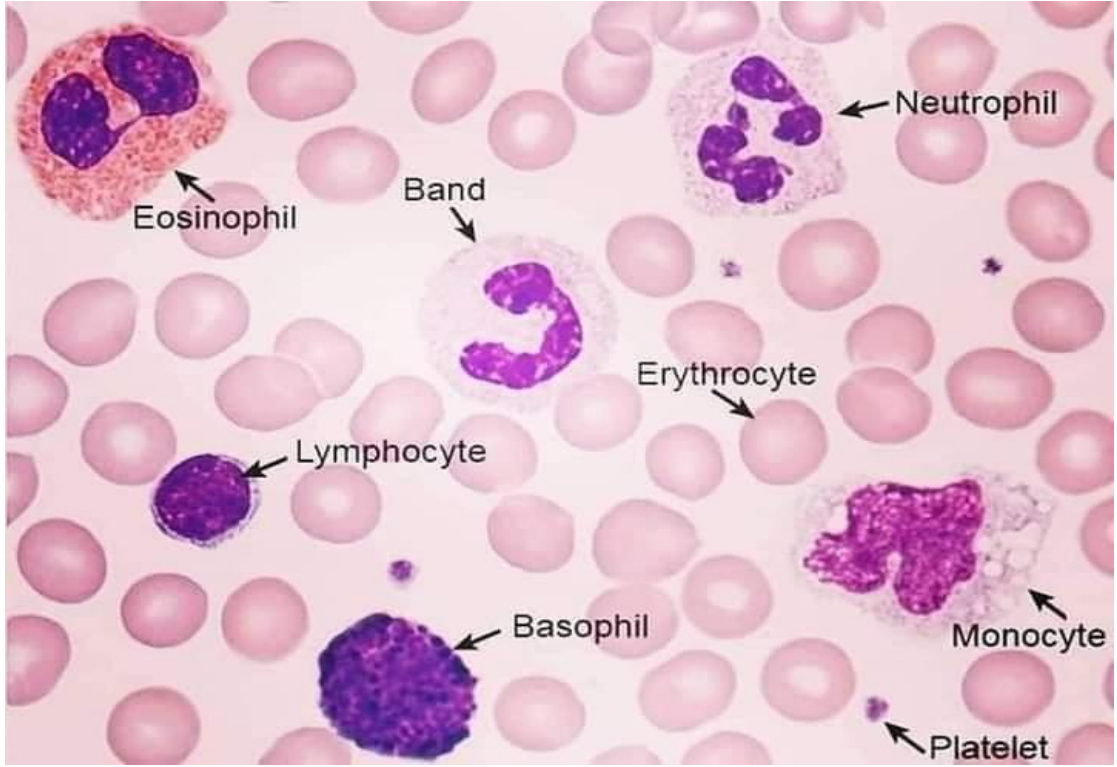
تلاحظ التغيرات التشريحية المرضية وتسجل عند إجراء الصفة التشريحية وذلك فور نفوق الحيوان أو القتل الرحيم Euthanized لتجنب التغيرات الرمية التي قد تحصل على الجثة خلال فترات بعد الموت، ومن ثم يتم إجراء عملية الخزغ من الأعضاء المراد فحصها، كما تجرى عملية الاعتيان للفحص الجرثومي، ومن ثم إرسال الخزعات والعينات إلى المختبر التشخيصي لتأكيد التشخيص الإكلينيكي، حيث تجمع كمية من محتويات الأمعاء بحدود 10-20 ملياً لتر أو

قطعة من الأمعاء الدقيقة معقودة النهايات توضع في وعاء محكم الإغلاق وترسل إلى المختبر بالسرعة الممكنة تحت ظروف التبريد (Songer, 2006)، يمكن ان يظهر تجمع كبير لسائل مخاطي أو مدمم وجلطات فيبرينية وقرح عديدة على الغشاء المخاطي، قد تظهر أنسجة الكلية والدماغ ليونة أو نخر تمثيقي، يمكن إجراء الفحص النسيجي المرضي على مقاطع الدماغ Brain Sections لتأكيد تشخيص تلين الدماغ الثنائي المتناظر البؤري Focal Symmetrical Encephalomalacia الآفة المميزة في حال مرض الكلية الرخوة (Quinn et al., 2004; Garcia et al., 2013). يمكن أن يظهر نخر نزفي منتشر في ظهارة المنفحة والأنسجة المبطنة وقد يختلط بمحتويات قيحية Supportive ونزف حبري على عضلة القلب أو الأعضاء الأخرى وتجمع سوائل فيبرينية في كيس التامور والتجويف البطني (Uzal and Songer, 2008).

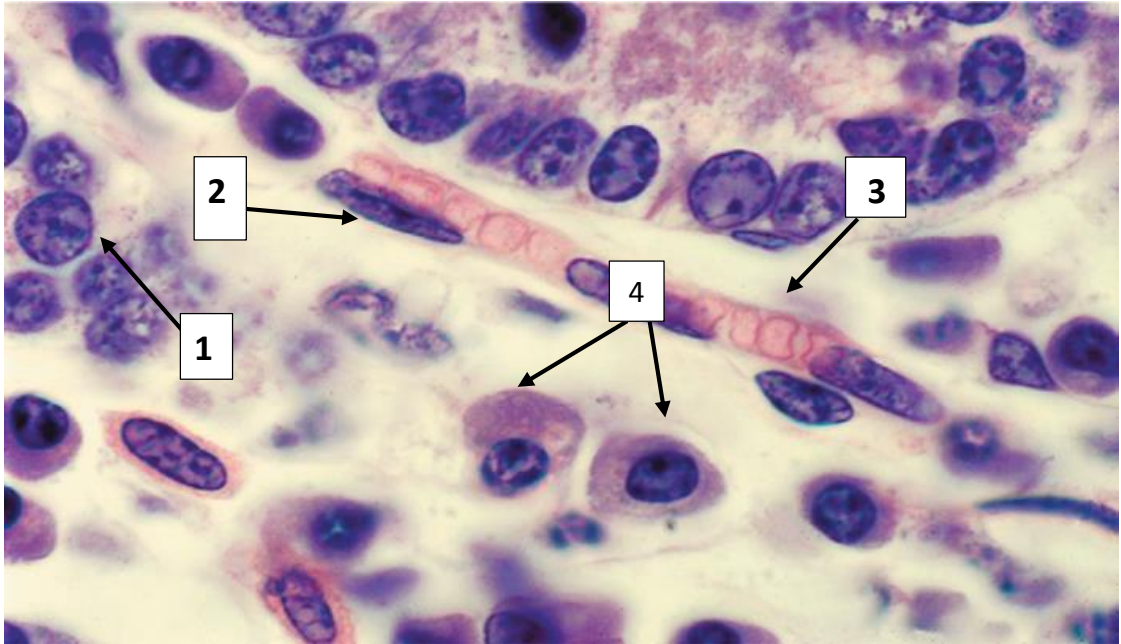
2-13-2- تشخيص ردود الفعل الالتهابية الخلوية:

غالباً ما يكون سير المرض عند الإصابة بالتسمم الدموي المعوي حاداً أو فوق حاد في الحيوانات ونادراً ما يكون العلاج فعالاً (Manday et al., 2020)، كشفت التحاليل الدموية لأغنام مصابة عن فقر دم شديد وزيادة في عدد الكريات البيض وبشكل خاص العدلات وارتفاع في العدد أنزيمات الكبد، ويعتمد ارتفاع عدد الكريات البيض في الصورة الدموية على ارتفاع في عدد الخلايا العدلة في نفس الوقت الذي ينخفض فيه عدد أنواع الخلايا البيض الأخرى، ويعتبر ذلك عاملاً مساعداً في تشخيص التسمم المعوي في الأغنام، أما في الأنسجة فتشتمل التغيرات المرضية على زيادة في الخلايا العدلة، كما وجد عند الفحص المجهرى في الغشاء المخاطي المعوي نخر فيبريني وحطام خلوي وخلايا التهابية من عدلات ولمفاويات وأرومات ليفية (Kalender et al., 2023)، كما لوحظ في التهاب الكبد النخري انسلال للكريات البيض الغالب عليها الخلايا العدلة النشيطة والمتحللة، كما لوحظ نخر بؤري أو متعدد البؤر محاط بكريات الدم البيضاء تتكون أساساً من العدلات المتحللة والنشطة وعدد قليل من الخلايا اللمفاوية والمصورية والضامة، وجد في الكلية نخر حاد للنبيبات الكلوية الملتفة القاصية والدانية مع انسلال عدد كبير من الخلايا العدلة، والتهاب النسيج الخلوي للكلية إضافة إلى انسلال الخلايا الحبيبية والوحيدات البلعمية

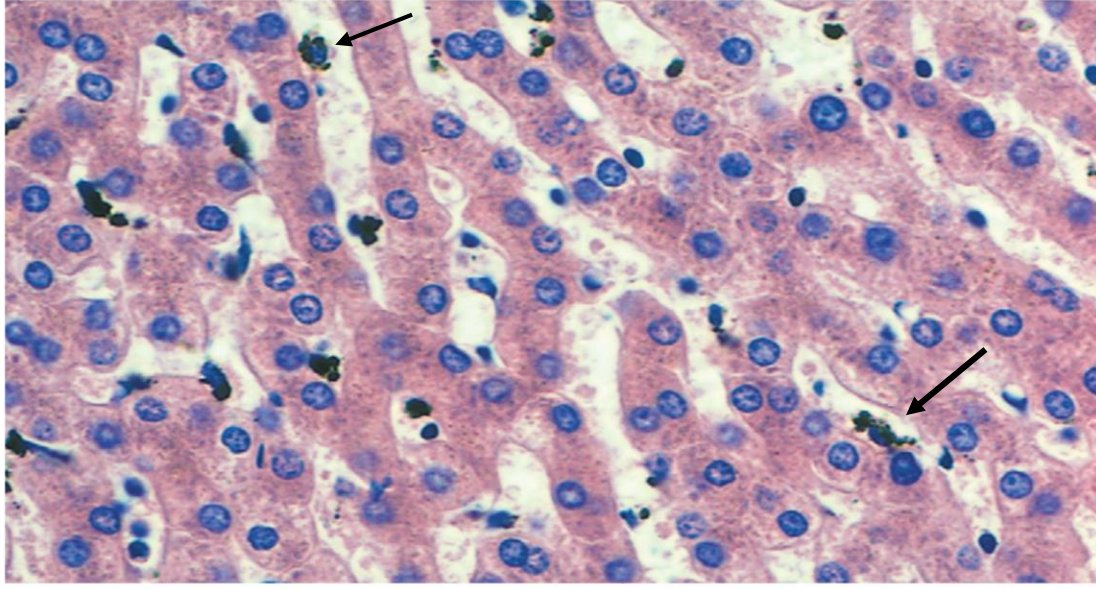
(Manday et al., 2020)



الشكل. (1-2): صورة توضيحية للخلايا المحببة ووحيدة النواة المشاركة في الالتهاب في هينتها في الصورة الدموية:



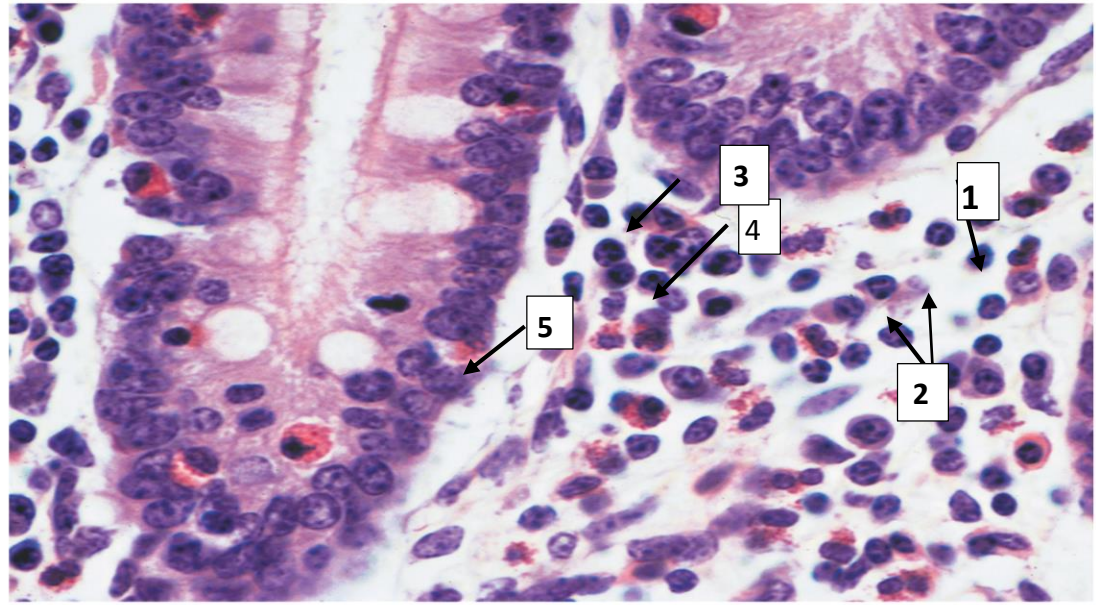
الشكل. (2-2): الاثني عشر، عند الأغنام. H&E X625 (Bacha and Linda, 2012). مقطع نسيجي في الشعيرات الدموية، الصفيفة المخصوصة، تصطف الكريات الحمراء في لمعة الشعيرات الدموية، 1. الخلايا البدنية 2. نواة الخلية المبطنة للوعاء الدموي 3. كريات حمراء 4. الخلايا المصورة.



الشكل. (2-3): مقطع نسيجي في الكبد (الأغنام). يشير السهم إلى الخلايا البلعمية المتخصصة بالكبد (خلايا كوبفر)

H&E X250

(Bacha and Linda, 2012)



الشكل. (2-4): الاثنى عشر (الأغنام) نسيج ضام رخو، الصفيحة المخصوصة، خلايا التهابية مختلفة، 1. خلية مصورية 2. خلايا لمفاوية 3. خلية من نوع الحمضات 4. خلية بدنية 5. نواة خلية من مولدات الليف.

H&E X520 (Bacha and Linda, 2012)

3-13-2- وجود الخلايا البدنية في الأنسجة: Mast Cells

الخلية البدنية (الصَّارِيَّة)، الاسم العلمي Mastocytus، بالإنكليزية Mast Cells، خلية من كريات الدم البيضاء تأخذ شكل بيضاوي وتحتوي على الكثير من الحبيبات الغنية بالهستامين والهيبارين الشكل. (2-5)، وهي نوع من المحببات المشتقة من الخلايا الجذعية النقوية التي تشكل جزءاً من الجهاز المناعي والمناعي العصبي، اكتشفت على يد العالم بأول إرليش عام 1877، اعتقد قديماً أن الخلايا البدنية نوع من المحببات تقطن في النسيج الضامة، لكن اتضح مؤخراً أنها

تتطور من سبل اصطناع دمويّة مختلفة عن سبل نشوء وتطوّر الخلايا المحببة الأخرى (Ehrlich, 1878; de Silva *et al*, 2014).

يتراوح قطر الخلايا البدينة ما بين 10 - 13 μm ويوجد ما يقارب 300.000 مستقبل على سطح الغشاء الخلوي للخلية البدينة، هيولى الخلية ممتلئة بحبيبات قاعدية Basophilic granules محاطة بغشاء يتراوح قطرها ما بين 0.3 - 5.0 μm تحتوي مواد مثل الهيستامين Histamine، كما تحتوي على حبيبات الهيبارين Heparin الذي يعمل على منع تخثر الدم، تعتبر المهمة الأساسية للخلايا الصارية هي تخزين المواد المعنّية في الاستجابة الالتهابية إضافةً إلى إطلاق مواد كيميائية تعزز تفاعلات نمط الحساسية العاجل Immediate hypersensitivity reactions كما أنها تؤدي دوراً مناعياً مهماً أيضاً، وترتبط ارتباطاً وثيقاً بعملية شفاء الجروح والتكوّن الوعائي والتحمل المناعي والدفاع ضد العوامل الممرضة كما تؤثر في النفوذية الوعائية في أورام الدماغ (Van-Khanh *et al*, 1995; Polyzoidis *et al*, 2015).

تغادر الخلايا الصارية نخاع العظم وتجول بشكلها الغير ناضج، حيث يتم نضجها حين تستقر في موقعها النسيجي، حيث من المحتمل أن موقع الخلايا الصارية يحدد خصائصها الدقيقة، توجد في أغلب النسيج الضامة وتحيط وصفيّاً بالأوعية الدموية والأعصاب (Franco *et al.*, 2010).

يتنبه عمل الخلية البدينة بعد تعرضها لمستضدات Antigen معيّنة وأجسام غريبة تسبب الحساسية sensitivity، حيث ترتبط جزيئات أضداد الغلوبولين المناعي IgE globulins الناجمة عن الاستجابة الأولى لمستضد ما بمستقبلات الغشاء الخلوي للبدينة وبالتالي يبدأ عملها وتفرز الوسائط الكيميائية الموجودة ضمن الحبيبات، وعندما يحدث إعادة تعرضها للمستضد ترتبط جزيئات IgE بالمستضد ومن ثم يرتبط عدد من مستقبلات IgE الموجودة على سطح غشاء الخلية البدينة بعدد من الغلوبولينات IgE تصالبيّاً بشكل سريع، حيث يؤدي هذا إلى تنشيط أنزيم أدينيلات سيكليز Adenylate cyclase وفسفرة بروتينات نوعيّة، حيث تدخل شوارد الكالسيوم ويحدث لبعض الحبيبات إخراج خلوي سريع، يتم إنتاج وتحرير الليكوترينات leukotrienes من الخلية البدينة بفعل تأثير أنزيم الفوسفوليپاز على الشحوم الفوسفورية الغشائية، ثم تنشط المكونات المحررة من الحبيبات والليكوترينات مباشرة في البيئة المجهرية الموضعية وتتوالى بشكل سريع العديد من التفاعلات الموضعية المنظمة التي تشكّل جزءاً من عملية التهابية تدعى تفاعل فرط الحساسية العاجل (Denburg, 1998; Michaloudi and Immediate hypersensitivity reaction Papadopoulos, 1999).

المواد والطرائق

MATERIAL & METHODS

3- مواد وطرائق البحث: Material and Methods

3-1- المواد:

3-1-1- بيئة العمل: Ergonomics

أجريت هذه الدراسة على قطيع من أغنام العواس المرباة في مركز البحوث العلميّة الزراعيّة خلال الفترة الواقعة في أواخر العام 2021 ومنتصف 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 وأعلاف جافة ضمن خطة مدروسة.

أما الحملان الوالدة فتبقى مع أمهاتها للرضاعة حتى عمر الشهرين، ثمّ تخفض ساعات الرضاعة تدريجياً مع التدرّج في أوقات الرعي وفي كميات الأعلاف الجافة والخلطات العلفية، كما يتم العمل على الجانب الصحي برعاية الأغنام ومراقبتها صحياً والقيام بمعالجة الأغنام المريضة ودعم القطيع بالمتطلبات الغذائية وإعطاء اللقاحات المدرجة ضمن الخطة الموضوعية من قبل وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي في مواعيدها المحددة أهمها اللقاح ضد التذيفن الدموي المعوي وهو لقاح معطل يحتوي على جراثيم المطثية الحاطمة من النمط (C,D) وظيفاتهما (معتمد من وزارة الزراعة).

3-1-2- الأغنام المدروسة: Studied sheep

تضمن البحث دراسة 16 رأساً من الحملان وأغنام العواس التي تعرضت للنفوق المفاجئ والتي يشتهر بإصابتها بمرض التذيفن الدموي المعوي من القطيع المؤلف من 436 رأس من الحملان والأغنام، وقد أعطيت الرموز (A₁-A₁₆)، و4 رأس من الأغنام السليمة والتي تؤلف مجموعة الشاهد للمقارنة، أعطيت الرموز (B₁-B₄) وتنوعت الحالات المشتبهة المدروسة بين 6 ذكور و10 إناث وأعمار مختلفة، 14 منها بعمر يوم واحد إلى 8 أشهر، وحالة بعمر 3 سنوات وأخرى بعمر خمس سنوات، وأوزان مختلفة، بعضها تلقى اللقاح ضد مرض التذيفن الدموي المعوي وبعضها لم يُحصّن وذلك حسب عمر الحملان إن كانت قد بلغت الموعد المحدد لإعطاء اللقاح، الجدول (3-1).

جدول (1-3): الحالات المشتبهية المدروسة وجنسها وعمرها ووزنها وشهر النفوق ولقاح المطثية الحاطمة:

رقم الحالة	العمر	الجنس	الوزن/كغ (ولادة)	شهر النفوق	لقاح الإنتروتوكسيميا جرعة أولى	جرعة ثانية
A ₁	13 يوم	أنثى	4	كانون الأول	-	-
A ₂	1 يوم	أنثى	4	كانون الأول	-	-
A ₃	14 يوم	أنثى	3.5	كانون الأول	-	-
A ₄	42 يوم	ذكر	4	كانون الثاني	+	-
A ₅	12 يوم	ذكر	4.5	كانون الثاني	-	-
A ₆	3 سنة	أنثى	5.5	كانون الثاني	+	+ وداعمة
A ₇	24 يوم	ذكر	4.5	كانون الثاني	-	-
A ₈	39 يوم	ذكر	4.1	شباط	+	-
A ₉	70 يوم	أنثى	4.1	شباط	+	+
A ₁₀	70 يوم	ذكر	5	شباط	+	+
A ₁₁	93 يوم	أنثى	4	شباط	+	+
A ₁₂	5 شهر	أنثى	4.3	أذار	+	+
A ₁₃	5 سنة	أنثى	3.2	أذار	+	+ وداعمة
A ₁₄	5 شهر	أنثى	4.5	أيار	+	+
A ₁₅	6 شهر	ذكر	4.5	حزيران	+	+
A ₁₆	8 شهر	أنثى	3.6	تموز	+	+

3-1-3- المواد المستخدمة في الفحص الجرثومي:

تم الزرع الجرثومي باستخدام جرة اللاهوائيات Jar Anaerobic مع إضافة مغلف خاص وهو عبارة عن ظرف غازي لتأمين وسط لاهوائي.

1-3-1-3- المنابت المستخدمة في الفحص الجرثومي:

1-1-3-1-3- وسط الثيوغليكولات: Thioglycolate medium

وسط مغذي سائل يستخدم لإكثار الجراثيم التي يتطلب نموها مواد غذائية معقدة ويناسب بشكل خاص الجراثيم اللاهوائية كونه وسط مختزل للأوكسجين باحتوائه على ثيوغليكولات الصوديوم المركب المختزل واحتوائه على الحمض الأميني (L-Cysteine) الذي يعتقد أنه يحفز نمو الجراثيم ويحفز إنتاج الذيفانات، كما ويحافظ على توتر منخفض للأوكسجين في الوسط (شركة هاي ميديا الهندية HiMedia Co).

وسط مغذّي انتقائي يستخدم للكشف عن جراثيم المطثية الحاطمة، حيث تنمو عليه بشكل مستعمرات رمادية ذات مركز أسود نتيجة اختزال السولفيت Sulphite الموجود ضمن الوسط إلى سولفايد Sulphide الذي يتفاعل بدوره مع خلاات الحديد الموجودة ضمن الوسط مكوناً سولفايد الحديد ذا اللون الأسود (شركة هاي ميديا الهندية (HiMedia Co).

هو منبت غني ويعد من المنابت الغنيّة حيث يستخدم للكشف عن مقدرة الجراثيم على تحلّل كريات الدم الحمراء (شركة هاي ميديا الهندية (HiMedia Co).

وسط سائل مغذي استخدم لإجراء اختبارات تخمر السكاكر واختبار حلقة الأندول، (شركة هاي ميديا الهندية (HiMedia Co).

-ماء أوكسجيني 3% لإجراء اختبار الكاتالاز لمعرفة ما إذا كانت الجراثيم تملك أنزيم الكاتالاز
المفكك للماء الأوكسجيني (Koneman et al., 1988)

-ماء البيتون Pepton water استخدم في اختبار تخمر السكاكر واختبار حلقة الأندول (Koneman *et al.*, 1988).

-كاشف كوفاك: استخدم في اختبار حلقة الأندول للكشف عن مقدرة الجراثيم على تفكيك الحمض الأميني تريبتوفان وإطلاق غاز الأندول. (Koneman et al., 1988).

-سكاكر للكشف عن تخمير جراثيم المطثية الحاطمة للسكر في الوسط (غلوكوز، لاکتوز، مالتوز، سكروز) (Koneman et al., 1988).

-مشر أندريد Andrade Reagent: استخدم كمشر لحموضة الوسط (PH) في اختبار تخمر السكاكر، حيث يكون عديم اللون في الوسط المتعادل ويتحول إلى اللون الوردي بعد تخمر السكر (Koneman *et al.*, 1988).

-أقراص اختبار الأوكسيداز: من الاختبارات التشخيصية الهامة استخدم للكشف عن امتلاك المطثية الحاطمة لنزيم الأوكسيداز من خلال أقراص ورقية مشبعة بمادة ألفا نفتول داي ميثيل ب-فينيلين ثنائي الأمين حيث تتلون الأقراص بلون أرجواني بعد مرور عشر ثواني في حال النتيجة الإيجابية، تتمثل ميكانيكية التفاعل بقدرة الجراثيم على أكسدة المواد الكاشفة منتجةً (Indophenol blue) حيث تختزل الصبغة إلى اللون الأرجواني العميق (Koneman *et al.*, 1988).

-زيت البارفين: استخدم لعزل الأوساط لتأمين بيئة لاهوائية.

3-1-2-3-1-3 صبغة غرام: (Quinn et al., 2004)

تستخدم بغرض صباغة الفيلم الجرثومي لدراسة الخواص الشكلية والتلوينية، وتتألف من:

- بنفسجية الكريستال Cristal violet
- محلول الأيودين Iodine solution
- كحول إيثيلي 95% Ethanol
- السفرانين Safranin

3-1-2-2- صبغة راکت: Rackets stain

تستخدم لصبغة الأبواغ الجرثومية حيث يظهر البوغ Spore باللون الأخضر، وتتألف من:

-أخضر المالاشيت 5g / 100ml ماء مقطر

-السفرانين 0.5g / 100ml ماء مقطر.

3-1-4-1- المواد المستخدمة في العمل المخبري النسيجي:

3-1-4-1-1- المحاليل اللازمة للعمل المخبري النسيجي:

3-1-4-1-1- الفورمالين المتعادل 10%: Buffered Neutral Formalin

يستخدم هذا المحلول كخطوة أولى ومباشرة لتثبيت الخزعات النسيجية، ويتم تحضيره بالمقادير التالية (Luna, 1968):

Formalin 40%	100ml
Distilled water	900ml
Sodium phosphate monobasic	4gm
Sodium phosphate dibasic	6.5gm

3-1-4-1-2- كحول إيثيلي مطلق: Absolute Ethanol

تمرر العينات النسيجية عبر تراكيز مختلفة من الكحول الإيثيلي بهدف تجفيف Dehydration العينات بعد عملية الغسيل بالماء الجاري (Lona, 1968).

3-1-4-1-3- الزايلول: Xylene

حيث تغمر العينات بالزايلول بعد عملية التجفيف بهدف إزالة محاليل التجفيف وإزالة المواد الدهنية لتشفيف Clearing العينات (Lona, 1968).

3-1-4-2- شمع البرافين: Paraffin

يتم وضع العينات في البرافين الذائب (سائل بدرجة حرارة 57م) لتتم عملية صب العينات في قوالب ليسهل تقطيعها (Lona, 1968).

3-4-1-3- صبغة الهيماتوكسيلين: Hematoxylin stain

تستخدم لصبغة الجزيئات القاعدية في الخلية والنسيج مثل النواة فتلونها باللون الأزرق.

3-4-1-4- صبغة الأيوزين: Eosinophilic stain

تستخدم لصبغة الجزيئات الحامضية في الخلية والنسيج مثل الهيولى التي تظهر باللون الوردي، بهدف تمييزها تحت المجهر الضوئي.

3-1-4-5- صبغة أزرق التلودين: Toluidine blue stain

تعتبر كصبغة نوعيّة للخلايا البدينة وتميز حبيباتها الإفرازيّة باللون الوردي (Crookham and Dapson, 1991).

3-2- الطرائق: Methods

3-2-1- طرائق العمل للفحص الجرثومي:

3-2-1-1- طريقة أخذ العينات: Samples

جمعت العينات من (16) حالة من حملان وأغنام نافقة ومشتبه بإصابتها بمرض التذيفن الدموي المعوي من قطيع أغنام العواس، بعد تسجيل الأعراض تم تشريح الأغنام النافقة وتسجيل الصفات العيانية وتوثيقها بالصور ومن ثم تم أخذ العينات التي تضمنت قسمين من العينات:

1- عينات للفحص الجرثومي من وسط الأمعاء الدقيقة، الغليظة، متن الكبد، متن الكلية من كل حالة مدروسة بهدف التحري عن جراثيم المطثية الحاطمة ومن ثم تم نقلها بالسرعة الممكنة لتحضيرها في مخبر الأحياء الدقيقة في كلية الطب البيطري - جامعة حماة.

أُخذت العينات من الأمعاء بجانب مصدر لهاب من خلال تلهيب سطح قطعة من الأمعاء بواسطة ماسحة قطنية مع أنبوب معقم مجهز بمرق الثيوغليكولات مسبقاً تحسباً لحالة النفوق المفاجئ وإجراء شق بواسطة مشرط جراحي معقم ومن ثم فتح طرف الشق بملقط معقم وإدخال الماسحة لأخذ العينة من وسط الأمعاء ووضعت مباشرة في الأنبوب الخاص بالمسحة القطنية والحاوي على مرق الثيوغليكولات، تم أخذ عينات من الأمعاء الدقيقة ومن الأمعاء الغليظة كل على حدا من كل حالة.

أما عينات الكبد والكلية فقد أُخذت بعد تلهيب سطح العضو، ثم تم العمل على إجراء شق بواسطة مشرط جراحي معقم وتم فتح طرف الشق بملقط معقم وإدخال ماسحة قطنية لأخذ العينة من داخل متن الكبد ووضعت في أنبوب الثيوغليكولات وأغلقت بإحكام.

2-وقد تم أخذ عينات نسيجية من أعضاء الحالات النافقة (الأمعاء-الكبد-الكلية) أثناء التشريح مباشرة بعد النفوق وحالات الشاهد بعد الذبح مباشرة، تم تثبيت العينات في عبوات مجهزة بالفورمالين المتعادل 10% ومن ثم تمت معاملتها مخبرياً في مخبر التشريح المرضي في كلية الطب البيطري - جامعة حماة.

تم أخذ عينات نسيجية من الأمعاء عن طريق فتح قطعة من الأمعاء واقتصاصها بواسطة مقص جراحي بقياس 1 سم² وتم غمر القطعة في وعاء من الماء النظيف لغسلها من محتويات الأمعاء دون تمرير الماء الجاري لتلافي تطبيق ضغط يغير من الحالة النسيجية للأمعاء المتهكة بتأثير المرض والحفاظ على حالتها النسيجية كما هي، ثم تم العمل على فردها في مصفاة عينات نسيجية صغيرة وتثبيتها بإغلاق المصفاة ووضعت في عبوة 100 مل مجهزة مسبقاً بالفورمالين المتعادل 10% وتم تسجيل رقم الحالة على العبوة والتاريخ والوقت والعضو من الحالة وتم استكمال العمل عليها مخبرياً في مخبر التشريح المرضي في كلية الطب البيطري، كما تم أخذ عينات من الكبد

باقتصاص قطعة من الكبد بقياس 1 سم³ من محفظة الكبد إلى الداخل وقطعة أخرى من متن الكبد وتم العمل عليها كما سبق مع عينات الأمعاء.

كما تم أخذ عينات من الكلية من كل حالة بالطريقة التي اتبعت لأخذ العينات النسيجية من الكبد.

3-1-2-3-2-المسحات المباشرة: Direct Smears

أجري فحص المستعمرات الجرثومية النامية المشتبهة بالمطثية الحاطمة على الأوساط الصلبة بتحضير لطخات جرثومية على شريحة زجاجية بوضع قطرة من ماء مقطر وتم تثبيت اللطخة باللهب وتمت صباغتها بصبغة غرام وتم تجفيفها ثم فحصت بالعدسة الزيتية الغاطسة لمشاهدة عصيات إيجابية الغرام (Quinn et al., 2004).

3-1-2-3-3-تحضير الأوساط الزرعية المستخدمة في الزرع الجرثومي Culture media preparation

3-1-2-3-1-1-تحضير وسط ماء البيبتون: Peptone water

تم تحضير هذا الوسط بحل (15) غ من وسط البيبتون الجاف في لتر من الماء مقطر في حوالة والتسخين حتى تمام الانحلال ومن ثم تم التعقيم بوضع المحضر في جهاز الأوتوغلوف بدرجة حرارة 121°م تحت تأثير ضغط مطبق وقدره 15 باوند/إنش² لمدة 15 دقيقة ثم وضع جانباً ليبرد حتى الدرجة 25°م ويحفظ في درجة حرارة 15-25°م في مكان مظلم وجاف وذلك وفق تعليمات الشركة المصنعة (HiMedia) وقد استخدم هذا الوسط في اختبارات تخمر السكاكر واختبار حلقة الأندول.

3-1-2-3-2-2-تحضير وسط الثيوغليكولات: Thioglycolate medium

تم تحضير هذا الوسط بحل (29.75) غ من وسط الثيوغليكولات الجاف في لتر من ماء مقطر في حوالة زجاجية وتم تسخين المزيج للمساعدة على انحلال المواد ومن ثم تم التعقيم باستخدام الأوتوغلوف بدرجة حرارة 121°م تحت تأثير ضغط مطبق وقدره 15 باوند/إنش² لمدة 15 دقيقة ثم وضع جانباً ليبرد حتى الدرجة 25°م ويحفظ في درجة حرارة 15-25°م في مكان مظلم وجاف وذلك وفق تعليمات الشركة المصنعة (HiMedia) وقد استخدم هذا الوسط من أجل تنشيط عملية إكثار وتغذية جراثيم المطثية الحاطمة في وسط مختزل للأوكسجين ومن ثم تحضيرها لمدة 48 ساعة.

3-1-2-3-3-3-تحضير وسط الآغار الدموي: Blood agar

تم تحضير وسط الآغار المدمم من خلال حل (40) غ من وسط الآغار الدموي الجاف في لتر من ماء مقطر في حوالة زجاجية ومن ثم تم تسخين الوسط لتمام الانحلال وتم تعقيم الوسط في الأوتوغلوف بدرجة حرارة 121°م تحت تأثير ضغط مطبق وقدره 15 باوند/إنش² لمدة 15 دقيقة ثم وضع جانباً ليبرد حتى الدرجة 50°م ومن ثم وضعت الحوالة الحاوية على الوسط في حمام مائي بدرجة 45-50°م حيث أضيف إلى الوسط 7% دم أغنام أخذ من كباش ذات صحة جيدة من قطيع الأغنام الموجود في مركز البحوث العلمية الزراعية بحماة وقد تم سحب الدم من الوريد الوداجي للكباش ومن ثم تم نزع ألياف الفيبرين من دم الأغنام باستخدام كرات زجاجية معقمة، الشكل (2-3).

حضر الوسط وفق تعليمات الشركة المصنعة (HiMedia) ويستخدم هذا الوسط للكشف عن خاصية التحلل الدموي ثنائي النطاق لجراثيم المطثية الحاطمة.

3-2-1-4-3-1-2-3: تحضير وسط SPS (Sulphite - Polymyxin – Sulfadiazine)

تم تحضير وسط الأغار المدمم من خلال حل (40.03) غ من وسط الأغار الدموي الجاف في ليتر من ماء مقطر في حوالة زجاجية ومن ثم تم تسخين الوسط لتمام الانحلال وتم تعقيم الوسط في الأوتوغلاف بدرجة حرارة 121°م تحت تأثير ضغط مطبق وقدره 15 باوند/إنش² لمدة 15 دقيقة ثم تم صب الوسط إلى جانب اللهب في أطباق بيتري ذات قطر 9 سم وتركت لتبرد وتتصلب ثم أغلقت الأطباق تم تغليفها بأكياس عقيمة محكمة الإغلاق ووضعت في مكان بارد ومظلم. الشكل (3-3).

حُضر الوسط وفق تعليمات الشركة المصنعة (HiMedia) ويُستخدم هذا الوسط للزرع الجرثومي لجراثيم المطثية الحاطمة والكشف عن شكل وحجم المستعمرات النامية.

3-2-1-4-1-2-3: تحضير الأوساط والمواد اللازمة للاختبارات البيوكيميائية:

3-2-1-4-1-2-3: اختبار الكاتالاز: Catalase Test (Koneman et al., 1988)

تم إجراء هذا الاختبار على شريحة زجاجية بنقل مستعمرة جرثومية حديثة التكون وفردتها على الشريحة الزجاجية ثم يوضع عليها قطرة من الماء الأوكسجيني 3% فتظهر النتيجة خلال ثوانٍ قليلة حيث تكون إيجابية بظهور فقاعات غازية فيدل ذلك على قدرة الجراثيم على إفراز أنزيم الكاتالاز المفكك للماء الأوكسجيني وتكون النتيجة سلبية بعدم تشكل الفقاعات وتكون بذلك الجراثيم غير مفرزة لهذا الأنزيم مثل جراثيم المطثية الحاطمة.

3-2-4-1-2-3: اختبار الأوكسيداز: Oxidase Test (Koneman et al., 1988)

يستخدم هذا الاختبار للكشف عن امتلاك الجراثيم لأنزيم الأوكسيداز وهو من الاختبارات الهامة في التشخيص الجرثومي وقد تم إجراء هذا الاختبار باستخدام أقراص ورقية مشبعة بمادة ألفا النفثول داي ميثيل ب-فينيلين ثنائي الأمين α -naphthol and dimethyl-p-phenylenediamine حيث تظهر النتيجة خلال عشر ثواني وتكون إيجابية بتلون هذه الأقراص باللون الأرجواني ولا تتلون في حال كانت النتيجة سلبية كما في حال اختبار جراثيم المطثية الحاطمة.

3-2-4-1-2-3: اختبار الأندول: Indole Reaction (Koneman et al., 1988)

تم العمل على اختبار الأندول بتحضير معلق جرثومي مؤلف من أنبوب حاوي وسط على ماء البيبتون يضاف إليه مستعمرة من جراثيم المطثية الحاطمة بواسطة لوب معدني ويتم تحضينه لاهوائياً لمدة 24 ساعة بدرجة حرارة 37°م ثم يتم إضافة 0.5 مل من كاشف كوفاك Kovac's reagent وفي حال تكون حلقة حمراء على سطح المعلق فالنتيجة إيجابية وتكون النتيجة سلبية عندما تكون الحلقة باللون الأصفر حيث أن جراثيم المطثية الحاطمة سلبية الأندول.

3-2-1-4-4-اختبار تخمر السكار: (Koneman et al., 1988)

تم العمل على اختبار تخمر السكار بتحضير 4 أوساط من ماء البيتون أضيف لكل منها 0.5% من أحد السكار المختبرة (غلوكوز، سكروز، لاكتوز ومالتوز) كما تم إضافة كاشف أندريد Andrade Reagent عديم اللون كمشعر حموضة للوسط (PH) ثم تم إضافة زيت البرافين المعقم لتأمين وسط لاهوائي ونتيجة لفعل الجراثيم التي تخمر السكر المضاف في الوسط- كجراثيم المطثية الحاطمة -تنخفض حموضة الوسط ويتغير لون الوسط إلى اللون الزهري وتكون النتيجة إيجابية.

3-2-1-5-إجراءات زرع وعزل المطثية الحاطمة: Cultivation and isolation of *Clostridium perfringens*

تمّ تحضين جميع المسحات المأخوذة من العينات والمزروعة في وسط مرق الثيوغليكولات، الشكل. (B1-3) في وسط لاهوائي باستخدام جرّة اللاهوائيات Anaerobic Jar بدرجة حرارة 37م° ولمدة 24-48 ساعة، الشكل. (C1-3) وذلك بإضافة مغلفات الزرع اللاهوائي، الشكل. (2-3) (A) منتج من شركة (Bection Dickinson USA) أو عن طريق إخلاء الأوكسجين بلهب الشمع. (Kiu et al., 2023). الشكل. (C 1-3)، حيث تم استخدام كلتا الطريقتين.

أخذت عينة من معلق الجراثيم في مرق الثيوغليكولات وتم العمل على زرع العينة على أطباق منبت SPS وحضنت لاهوائياً بدرجة حرارة 37م° لمدة 24-48 ساعة حيث لوحظ نمو مستعمرات كبيرة، ملساء Smooth، محدبة Convex، متناسقة Regular، عاتمة Slightly، ذات سطح محرز بشكل شعاعي flat radially striated، وحدود رقيقة transparent border، يمكن أن تكون المستعمرة ذات سطح خشن كورق العنب rough flat vine leaf colony وقد لوحظ في بعض المستعمرات وجود مركز أسود على منبت SPS. (Kalender et al., 2023).

بينت اللطخات المحضرة من مستعمرات المطثية الحاطمة المعزولة على المنابت الصلبة والتي صُبغت بصبغة غرام وجود أعداد كبيرة من جراثيم كبيرة الحجم عصوية الشكل ثخينة ذات نهايات مدوّرة تأخذ الصبغة البنفسجية بشدّة، انتظمت العصيات بشكل مفرد أو مزدوج أو بشكل سلاسل قصيرة أو طويلة، ظهرت العصيات متبوّغة في بعض المسحات المصبوغة بصبغة غرام حيث بدت الأبواغ بلون باهت قرب انتهائية Subterminal وسبب انتفاخاً في شكل العصية، أو بصبغة راكت حيث تلون البوغ باللون الأخضر وتلون باقي العصية باللون الوردي. (Quinn et al., 2004).

ثمّ نقلت بعدها المستعمرات إلى وسط الآغار المدمى Blood Agar بهدف عزل وتنقية جراثيم المطثية الحاطمة وحضنت في وسط لاهوائي لمدة 24-48 ساعة بدرجة حرارة 37م° وتتميز هذه الجراثيم بظهور مستعمرات ذات تحلل دموي ثنائي النطاق Double zone of hemolysis منطقة داخلية تشير إلى تحلل دموي كامل (تحلل بيتا Beta hemolytic) بتأثير Theta toxin،

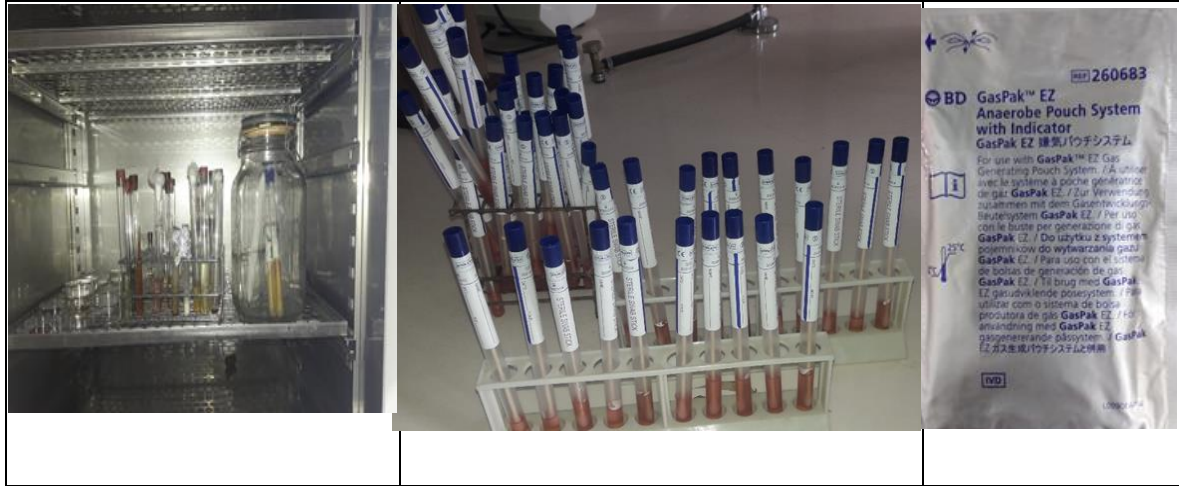
ومنطقة خارجية واسعة تشير إلى تحليل دموي جزئي (تحلل ألفا hemolytic of Alpha بتأثير Alpha toxin (Kiu et al., 2023).

خضعت المستعمرات المعزولة والمنقاة سابقاً لمجموعة من الاختبارات الكيمياءحيوية بهدف تحديد هوية المطثية الحاطمة وتضمنت عدة اختبارات مثل اختبار الكاتالاز، الأوكسيداز، حلقة الأندول، واختبار تخمر السكاكر (غلوكوز، سكروز، لاكتوز، مالتوز)، (Quinn et al., 2004).

الجدول (2-3): يوضح الاختبارات الكيمياءحيوية للمطثية الحاطمة.

الجدول (2-3): الاختبارات الكيمياءحيوية للمطثية الحاطمة (Quinn et al., 2004)

الاختبار	الأوكسيداز	الكاتالاز	تخمير السكاكر				حلقة الأندول
			سكروز	لاكتوز	غلوكوز	مالتوز	
النتيجة	-	-	+	+	+	+	-



الشكل (1-3): A مغلفات الزرع اللاهوائي، B أنابيب مجهزة بمرق الشيوغليكولات، C تحضين لاهوائي باستخدام لهب الشمع



الشكل. (2-3): تحضير بعض أطباق الآغار المدمى:



الشكل. (3-3): تحضير أطباق وسط SPS:

3-2-1-5-1-دراسة الخواص الشكلية والتلوينية:

جراثيم عصوية ذات نهايات مقطوعة على شكل سلاسل قصيرة أو طويلة متبوعة أحياناً وقد ظهرت الأبواغ في عدة شرائح وذلك بعد صبغها بصبغة غرام.

2-5-1-2-3 دراسة الخواص البيوكيميائية لمستعمرات المطثية الحاطمة المعزولة: Biochemical Tests

تمت دراسة الخواص الكيميائية للمستعمرات المشتبهة كما ذكر آنفاً، وعندما تم التأكد من هوية الجراثيم الحاطمة تم العمل على تنقية المستعمرات من العزلات لأكثر من مرة على منبت ال SPS إلى أن تم الحصول على مستعمرات نقية وتم حفظ العزلات ضمن انابيب بندورف للقيام بحفظها بالتبريد كجراثيم مسببة للمرض، الشكل (4-3)، بوسط مؤلف من 850 μ l غليسيرين و 150 μ l ثيوغليكولات بدرجة حرارة -70 $^{\circ}$ C (Kalender et al., 2023).



الشكل (4-3): الزرع والتنقية:

3-2-2-2- طرائق فحص التغيرات التشريحية المرضية:

3-2-2-1- الأعراض الاكلينيكية والصفات العيانية:

تمّ تشريح الأغنام النافقة والمشتبه بإصابتها بالتذيفن الدموي المعوي فور نفوقها، وتمت ملاحظة التغيرات التشريحية المرضية الظاهرة على جسم الأغنام من الخارج وعلى الأعضاء وتجاويف الجسم بعد تشريحها كما تمّ توصيفها وتوثيقها بالصور.

3-2-2-2- تحضير المقاطع النسيجية للفحص المجهرى (Luna, 1968; Haidekker, 2013):

استُكمل العمل على العينات Sampling النسيجية التي تم أخذها وتثبيتها Fixation بالفورمالين 10% المتعادل فور نفوق الأغنام، الشكل (3-5)، وذلك بعد التأكد من إيجابية الإصابة بالمطثية الحاطمة، حيث أُجريت المراحل التالية، الشكل (3-6):

3-2-2-2-1- الإسقاء (الغسيل): Rehydration

تمّ العمل على إسقاء العينات في الماء الجاري لمدة تصل لـ 24 ساعة، وذلك لإزالة المحلول المثبت (الفورمالين).

3-2-2-2-2- التجفيف: Dehydration

حيث مُرّرت العينات النسيجية عبر محاليل ذات تراكيز متصاعدة من الكحول الإيثيلي Ethanol لمدة ساعتين في كل تركيز، بهدف سحب الماء من النسيج على النحو التالي: (75%، 85%، 90%، 95%، 100₁%، 100₂%)، حيث تعبر هذه النسب على نسبة الكحول المطلق إلى الماء المقطر.

3-2-2-2-3- التشفيف: Clearing

عُمرت العينات بعد تجفيفها في محلول التشفيف الزايلول Xylene وذلك عبر ثلاثة أوعية حاوية على الزايلول (زايلول 1، زايلول 2، زايلول 3) لمدة 3 ساعات لكل وعاء من الزايلول.

3-2-2-2-4- الإدماج بالبرافين (التشريب): Embedding Paraffin

تم تشريب العينات بعد عملية التشفيف بالبرافين السائل بوضعها في محم البرافين بدرجة حرارة 57م على النحو الآتي (برافين 1، برافين 2، برافين 3) لمدة 3 ساعات في كل برافين، تمّ بعد ذلك صبّ العينات مع الشمع في قوالب صغيرة خاصة تناسب جهاز التقطيع كما في الشكل (3-7).

3-2-2-2-5- التقطيع: Sectioning

تمّ العمل على تقطيع العينات عبر جهاز الميكروتوم Microtome بسماكة 3 ميكرون ورصفها على شرائح زجاجية وتجفيفها فيما بعد، تم تجهيز العديد من الشرائح النسيجية لكل عينة من العينات للقيام بتجهيز قسم منها لفحص التغيرات المرضية وقسم منها لفحص ردود الفعل الالتهابية وقسم آخر لفحص الخلايا البدينة.

6-2-2-2-3- صبغة المقاطع النسيجية بصبغة الهيماتوكسيلين والأيوزين: and Eosin stain Hematoxylin

صُيغ قسم من الشرائح النسيجية بصبغة H&E بغية قراءة التغيرات المرضية التي طرأت على الأنسجة من الأمعاء والكبد والكلية تحت المجهر الضوئي، كما صُيغ قسم منها لقراءة ردود الفعل الالتهابية في هذه الأنسجة بتمريها في محاليل الصبغة على النحو التالي:

Xylene1, Xylene2, Absolute ethanol1, Absolute ethanol2, Ethanol95%, Ethanol 90%, Ethanol 80%, Ethanol 70%, Hematoxylin, Eosin, Ethanol 70%, Ethanol 80%, Ethanol 90%, Ethanol 95%, Absolute ethanol1, Absolute ethanol2, Xylene1, Xylene2.

7-2-2-2-3- صبغة مقاطع نسيجية بصبغة أزرق التلودين: Toluidine blue stain

صُيغت مجموعة من الشرائح النسيجية بصبغة أزرق التلودين بهدف دراسة الخلايا البدينة شكلياً ومدى وجودها تحت المجهر الضوئي في الأنسجة المصابة، وذلك بتمريرها عبر المحاليل المكونة للصبغة ضمن دقائق محددة لكل مرحلة، وهي بالترتيب، الشكل. (3-8):

Xylene1, Xylene2, Absolute ethanol1, Absolute ethanol2, Ethanol95%, Ethanol 90%, Ethanol 80%, Ethanol 70%, Toluidine blue stain Ethanol 70%, Ethanol 80%, Ethanol 90%, Ethanol 95%, Absolute ethanol1, Absolute ethanol2, Xylene1, Xylene2.



الشكل. (3-5): العينات النسيجية مثبتة في الفورمالين



الشكل. (3-7): الإدماج بشمع البرافين في قوالب صغيرة.



الشكل. (3-6): تمرير العينات في الزايلول والكحول.



الشكل. (3-8): تحضير صبغة أزرق التلودين.

3-3- التحليل الإحصائي: Statistical Analysis

تم إجراء التحليل الإحصائي لمقارنة النسب المئوية بين المجموعات المدروسة فيما بينها باستخدام اختبار مربع كاي Chi-Square Test في البرنامج الإحصائي SPSS 20 حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية $P < 0.05$

كما تم استخدام اختبار T ستودنت T-Student لمقارنة المتوسطات الحسابية بين المجموعات المدروسة باستخدام البرنامج الإحصائي SPSS 20 حيث اعتبرت الفروقات معنوية عند مستوى الاحتمالية $P < 0.05$.

النتائج

RESULTS

4-النتائج: Results

صُنِّفَت العلامات المسجلة على الحيوانات المدروسة بعد إجراء العزل الجرثومي للمطثية الحاطمة إلى تغيرات إكلينيكية ظهرت على الأغنام المصابة قبل النفوق، وتغيرات مرضية عيانية خارجية، وتغيرات تشريحية مرضية عيانية للأعضاء الداخلية، وتغيرات تشريحية مرضية مجهريّة، وردود فعل التهابية، ومشاهدات للخلايا البدينة بعد صباغتها بصبغة تميزية.

4-1- نتائج العزل الجرثومي:

أظهرت نتائج العزل الجرثومي لـ 64 عزلة جرثومية أُخذت من الأغنام النافقة والمشتبه بإصابتها والتي ظهرت عليها أعراض الإصابة بالتذيفن الدموي المعوي نتيجة إيجابية لوجود جراثيم المطثية الحاطمة وذلك لـ 16 عينة أُخذت من الأمعاء الدقيقة من كل حالة و 16 عينة أُخذت من الأمعاء الغليظة و 11 عينة من 16 أُخذت من الكبد و 11 عينة من 16 أُخذت من الكلية مبيّنة في الجدول (1-4)، وذلك وفق الاختبارات التشخيصية الجرثومية المختلفة فقد نمت المستعمرات على منبت SPS الشكل (1-4)، وأظهرت تحليل دموي ثنائي النطاق على الأغار المدمى الشكل (4-2)، كما أسفرت نتائج الاختبارات الكيميائية النوعية لجراثيم المطثية الحاطمة عن نتيجة سلبية للعزلات لدى اختبارات حلقة الأندول والكاتالاز والأوكسيدياز، الشكل (3-4)، وقد أبدت نتيجة إيجابية لاختبار تخمر السكاكر حيث كانت مخمرة للسكاكر الغلوكوز، السكروز، اللاكتوز، المالتوز، وذلك بتحول لون الوسط من عديم اللون إلى اللون الوردي بدلالة كاشف أندريد، الشكل (4-5)، وشوهت جراثيم المطثية الحاطمة كعصيات إيجابية الغرام في المسحات المأخوذة من المناابت الزرعية الشكل (4-4).

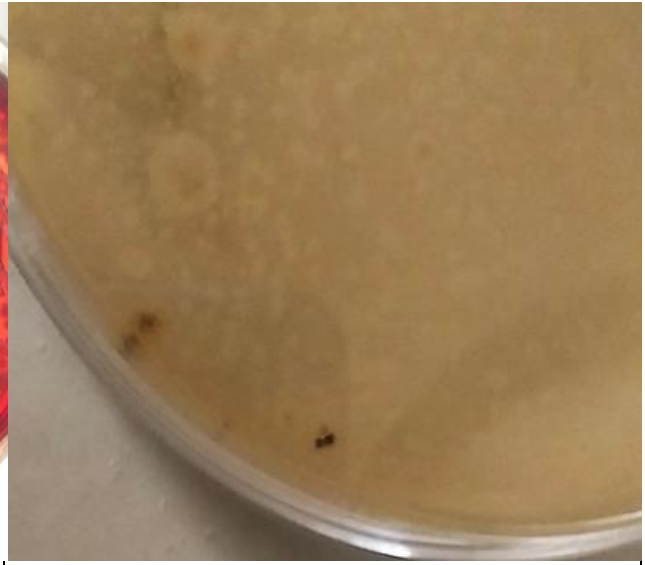
أما بالنسبة للعزلات التي أُخذت من 4 حالات لأغنام سليمة كمجموعة شاهد فقد كانت نتائج الفحص الجرثومي سلبية لوجود جراثيم المطثية الحاطمة 4 عينات أُخذت من الأمعاء الدقيقة وسلبية لعينتين من 4 عينات أُخذت من الأمعاء الغليظة وسلبية لـ 4 عينات أُخذت من الكبد وسلبية لـ 4 عينات أُخذت من الكلية، وكانت عينتان إيجابيت للعزل من الأمعاء الغليظة من أصل أربع عينات، مبيّنة في الجدول (1-4)،

جدول (1-4): نتائج الفحص الجرثومي للعينات من الشاهد (4حالات) والعينات من الأغنام النافقة والمشتبه بإصابتها (16 حالة).

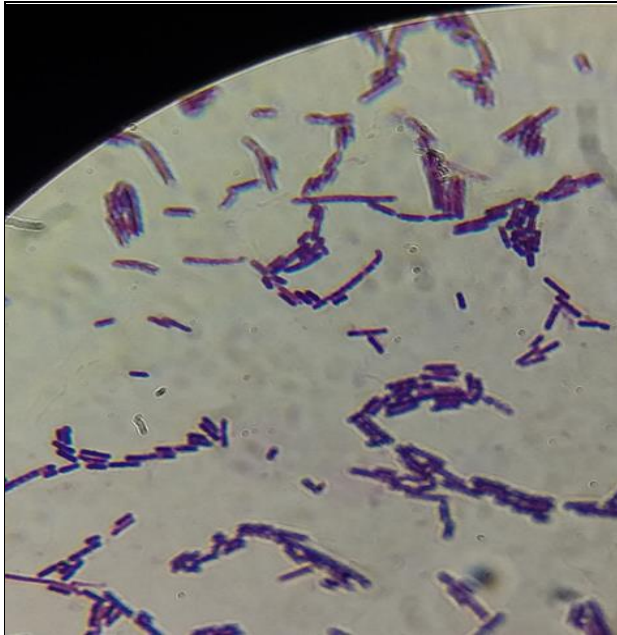
العضو الذي عزلت منه العينات	عدد الحالات الإيجابية		الحالات الإيجابية نتيجة العزل
	حالات الشاهد	الحالات النافقة	
الأمعاء الدقيقة	0	16	جميع الحالات النافقة.
الأمعاء الغليظة	2	16	B2-B3 ، وجميع الحالات النافقة.
الكبد	0	11	الحالات النافقة عدا (A1, A5, A6, A10, A11).
الكلية	0	11	الحالات النافقة عدا (A1, A5, A6, A7, A10).



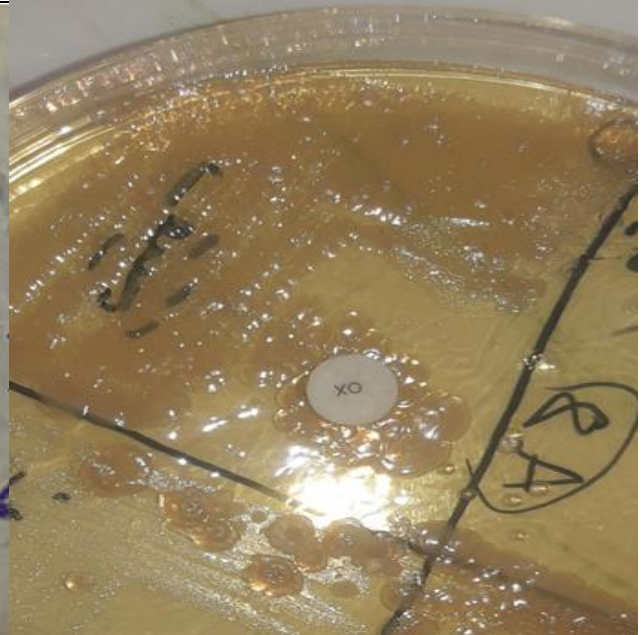
الشكل (2-4): تحليل دموي ثانوي النطاق على الآغار الدموي.



الشكل (1-4): مستعمرات رمادية ذات مركز أسود على وسط SPS.



الشكل (4-4): عصيات المطثية الحاطمة إيجابية الغرام مفردة أو بسلاسل قصيرة أو سلاسل طويلة.



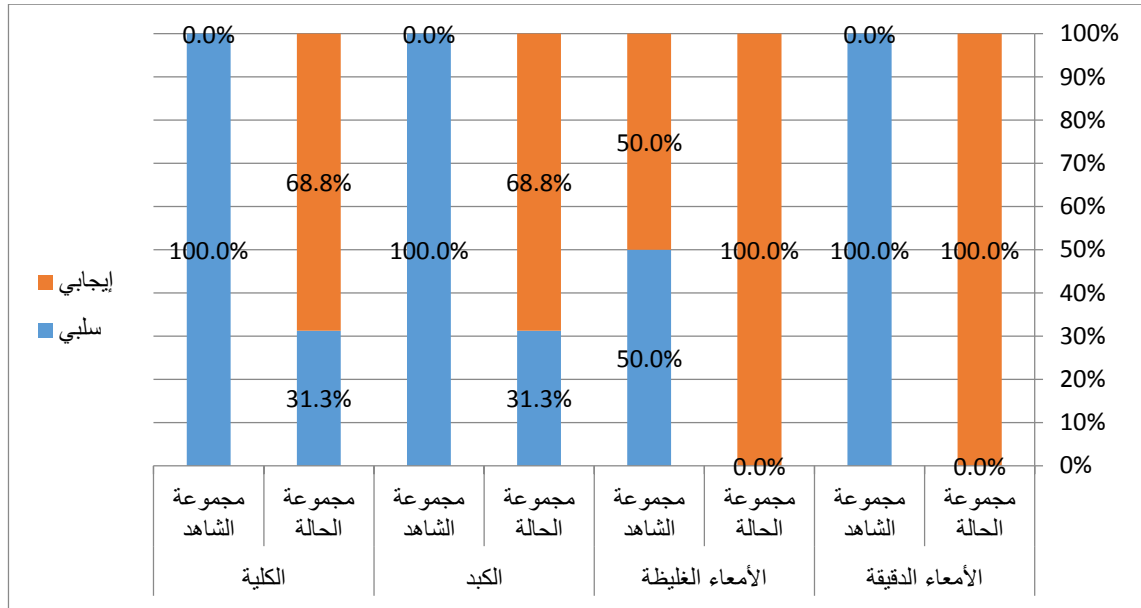
الشكل (3-4): مستعمرات المطثية الحاطمة سلبية الأوكسيداز. (قرص الأوكسيداز بلونه الأبيض ولم يتغير لون المشعر)



الشكل. (4-5): اختبار السكاكر ، تظهر باللون الزهري الإيجابي لمشعر أندريد لتخمير السكاكر.

4-1-1- نتائج التحليل الإحصائي لنتائج الزرع الجرثومي:

لوحظ وجود فروقات معنوية عند $P < 0.05$ عند المقارنة بين العينات المأخوذة من كل من الأمعاء الدقيقة والأمعاء الغليظة والكبد والكلية في مجموعة الأغنام النافقة ومجموعة الشاهد فقد كانت نسبة العينات الإيجابية المأخوذة من الأمعاء الدقيقة للأغنام النافقة 100% بينما كانت نسبة العينات الإيجابية لدى الأغنام السليمة 0%، ونسبة العينات الإيجابية المأخوذة من الأمعاء الغليظة للأغنام النافقة 100% بينما كانت 50% في الأغنام السليمة، ونسبة العينات الإيجابية المأخوذة من الكبد للأغنام النافقة 68.8% بينما كانت 0% في الأغنام السليمة، ونسبة العينات المأخوذة من الكلية للأغنام النافقة 68.8% بينما كانت 0% في الأغنام السليمة، كما هو مبين في الجداول أدناه.



مخطط. (1-4): النتائج الإحصائية للزرع الجرثومي

2-4- العلامات الإكلينيكية والصفات التشريحية العيانية المشاهدة على الأغنام المصابة بإصابتها:

1-2-4- الأعراض الإكلينيكية التي ظهرت على الأغنام المصابة قبل النفوق:

لوحظ أنّ أغلب الحالات المريضة أنها كانت تعاني من أعراض عامة مثل الخمول Dullness وصعوبة في التنفس واللهاث والاستلقاء على الأرض Recumbence وصعوبة في التنفس وتقرس الظهر Opisthotonus وبعض الأعراض الهضمية كضعف الشهية والعزوف عن الرضاعة أو تناول الغذاء والمغص المفاجئ والمغص الشديد، وتقرس الظهر، كما لوحظت بعض الاختلاجات العصبية Convulsions في بعض الحالات كان أهمها دفع الرأس إلى الخلف والأرجل إلى الأمام وارتقاء في القوائم الأربعة والتجديف بالأرجل والرقود وعدم القدرة على الوقوف وتكزز الفم، وقد استمرت هذه الأعراض لعدة ساعات أو يوم واحد أو يومين ومن ثم النفوق، وفي البعض منها كانت في مرحلة الغيبوبة ما قبل النفوق Terminal coma، وفي حالتين منها لم يلاحظ عليها أي عرض مرضي سوى قفزة مفاجئة قبل النفوق، وقد كان من الواضح على اثنتين منها الحالة الصحية الجيدة جداً وأنها كانت الأفضل من بين أقرانها.

2-2-4- التغيرات المرضية العيانية الخارجية:

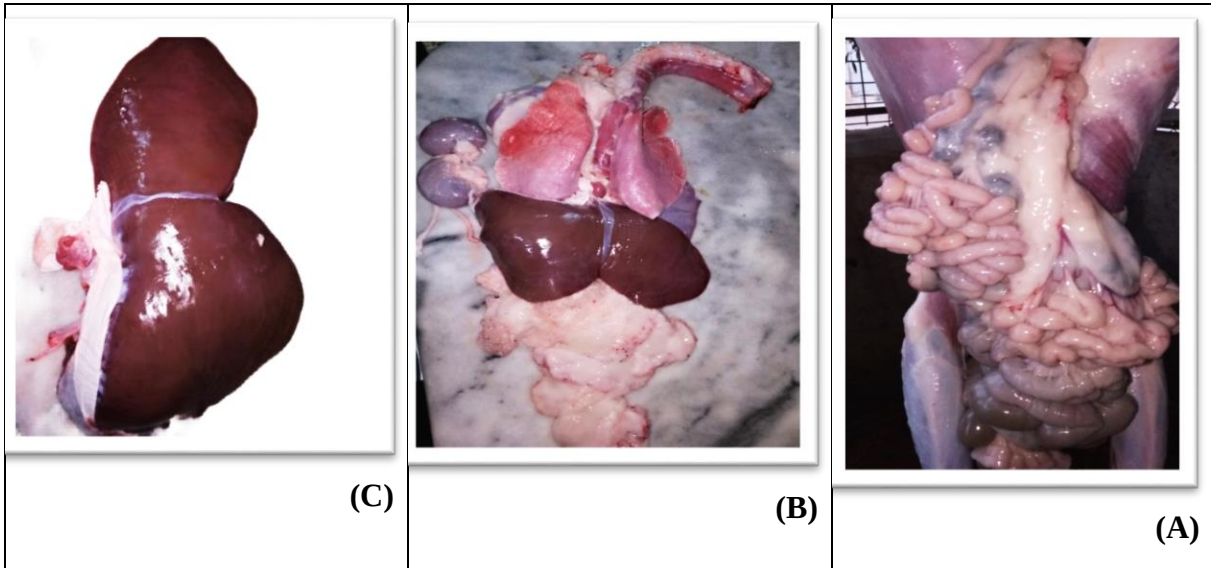
بينت نتيجة دراسة التغيرات المرضية العيانية الخارجية قبل البدء بالتشريح للحالات المدروسة عدة مشاهدات خارجية واضحة، أهمها نزف دموي من الأنف والفم وإفرازات، الشكل. (4-6).



الشكل. (4-6): افرازات مدممة رغوية من الأنف والفم.

3-2-4- الوصف التشريحي العياني لأغنام مجموعة الشاهد السليم: Macroscopic Histopathological changes

ظهرت الأعضاء الداخلية بشكل سليم وطبيعي، تبدو أعضاء الجسم في وضعها الطبيعي داخل الجسم، الشكل. (7-4A) دون ظهور أي تغيرات مرضية عيانية بالمظهر العام والشكل واللون والقوام، الشكل. (B 7-4)، ويظهر الكبد بلون طبيعي بني أجري وقوام طبيعي، الشكل. (C 7-4).



الشكل. رقم (7-4): الصفات العيانية لمجموعة الشاهد. (A): الأعضاء والأنسجة والعضلات، (B). الأعضاء معزولة من الجسم. (C). الكبد الطبيعي.

4-2-4- الصفات التشريحية المرضية العيانية الداخلية للأغنام المصابة النافقة: Macroscopic Histopathological changes

كشف التشريح عن تغيرات مرضية مختلفة، مشتركة في أغلب الحالات ومميزة في بعض الحالات، الجدول. (4-6).

جدول (2-4): التغيرات المرضية العيانية للأغنام النافقة المصابة

نفاخ غازي	نفاخ في الكرش	سوائل بالبريتوان	سوائل بالصدر	سوائل مصلية في التامور	احتقان الأعضاء الداخلية	احتقان الأوعية المساريقية	التهاب الأمعاء المخاطي	تبيغ بؤري في الأمعاء	ونخر بؤري في الأمعاء	تمدد الأمعاء	الكبد باهت مصفر
	A ₁	A ₁	دموية A ₁	A ₁	A ₁	A ₁	A ₁	A ₁	A ₁	A ₁	
A ₂			دموية A ₂		A ₂		A ₂	A ₂ بؤري		A ₂	
A ₃		A ₃	دموية A ₃	A ₃	A ₃	A ₃	A ₃	A ₃ شديد	A ₃	A ₃	
A ₄		A ₄		A ₄		A ₄	A ₄	A ₄ نقطي	A ₄	A ₄	
A ₅		دموية A ₅	مصلية A ₅	A ₅	A ₅	A ₅	A ₅	A ₅	A ₅	A ₅	هش متفتت
		A ₆			A ₆ شديد تهتك		A ₆	A ₆ سماكة		A ₆	
A ₇	A ₇				A ₇		A ₇	A ₇	A ₇	A ₇	
A ₈	A ₈		A ₈	A ₈ غزيرة سماكة	A ₈		A ₈	A ₈ مخاطي قيحي	A ₈	A ₈	
A ₉				A ₉ سماكة			A ₉	A ₉		A ₉	هش متفتت
							A ₁₀	A ₁₀		A ₁₀	هش متفتت
A ₁₁ شديد	A ₁₁			A ₁₁ خفيفة فيبرينية	A ₁₁	A ₁₁	A ₁₁ شديد+أوعية الكرش	A ₁₁	A ₁₁	A ₁₁	
							A ₁₂	A ₁₂ مخاطي نزفي بؤري	A ₁₂	A ₁₂	هش متفتت
A ₁₃			رغوية A ₁₃		A ₁₃		A ₁₃	A ₁₃ مخاطي نزفي	A ₁₃	A ₁₃	هش متفتت
		A ₁₄	دموية A ₁₄	A ₁₄ سماكة	A ₁₄	A ₁₄	A ₁₄	A ₁₄	A ₁₄	A ₁₄	هش متفتت
A ₁₅		A ₁₅	دموية A ₁₅			A ₁₅	A ₁₅	A ₁₅ مخاطي بسيط	A ₁₅	A ₁₅	هش متفتت
A ₁₆		A ₁₆			A ₁₆	A ₁₆	A ₁₆	A ₁₆ مخاطي نزفي	A ₁₆ +رقعة في جدرانها	A ₁₆ سوائل مخاطية غزيرة	هش متفتت

تتكدس دهني بالكبد	امتلاء الصفراء	نزف الكلى على الكلية	نزف الكبد	نزف على القلب	تصلد الرئة الأبيض	تصلد الرئة الأحمر	الرئة الرخامية	تغير الرئة	سهولة نزع محفظة الكلية	الكلى هشة بمقطع متفتت	الكلى عجينية رخوة	زيادة الدهون حول القلب
A ₁ شديد منتشر	A ₁											
	A ₂								A ₂			A ₂ ⁺⁺
A ₃ تصب	A ₃	A ₃ نقطي			A ₃	A ₃				A ₃		
A ₄ معتدل بوري	A ₄	A ₄ نقطي	A ₄ نقطي	A ₄ نقطي البطين الأيمن	A ₄ النقطة الفصوص الخلفية		A ₄	A ₄				A ₄
A ₅ منتشر شديد	A ₅ ⁺⁺	A ₅ كدمي بوري	A ₅ نقطي		A ₅	A ₅			A ₅		A ₅ باهت رمادي	A ₅
	A ₆		A ₆ نقطي	A ₆ نقطي					A ₆ سماكة			
A ₇ معتدل منتشر سهولة نزع المحفظة	A ₇				A ₇	A ₇			A ₇ تضخم			
A ₈ شديد منتشر	A ₈	A ₈ نقطي	A ₈ نقطي	A ₈ نقطي	A ₈	A ₈						A ₈
	A ₉			A ₉ نقطي منتشر		A ₉	A ₉		A ₉			
	A ₁₀			A ₁₀ نقطي		A ₁₀	A ₁₀		A ₁₀			
	A ₁₁	A ₁₁ ازرقاق تونم				A ₁₁ احتقان تونم	A ₁₁		A ₁₁ سماكة			
	A ₁₂	A ₁₂ باهت تونم			A ₁₂ منتشر	A ₁₂			A ₁₂			
A ₁₃ شديد منتشر	A ₁₃	A ₁₃ كدمي			A ₁₃	A ₁₃			A ₁₃ سماكة			
A ₁₄ معتدل منتشر	A ₁₄	A ₁₄ ازرقاق تونم		A ₁₄ نقطي		A ₁₄			A ₁₄ سماكة			
A ₁₅ منتشر معتدل	A ₁₅	A ₁₅ نقطي كدمي باهت	A ₁₅ نقطي	A ₁₅ نقطي ازرقاق الأذين سماكة		A ₁₅	A ₁₅					A ₁₅
A ₁₆ بوري معتدل	A ₁₆		A ₁₆ نقطي تدمي	A ₁₆ نقطي سماكة احتقان اوعية تاجية		A ₁₆	A ₁₆				A ₁₆ لون قاتم اسود+ ركود الدم	

حيث وجد بشكل عام نفاخ غازي في الأمعاء في جميع الحالات ونفاخ في الكرش في بعضها كما في الشكل (4-A8)، لوحظ احتقان في الأوعية الدموية المسارية في أغلب الحالات، الشكل (4-C8)، بالإضافة إلى احتقان الأوعية الدموية المغذية للكرش في بعض الحالات، والتهاب الأمعاء المخاطي البسيط إلى نخري نزفي حيث كان الالتهاب مخاطي قيحي في الحالة A8 الشكل (4-B8)، ونزفي بوري في أجزاء أخرى من تلك الحالة، ومخاطي نزفي في الحالتين A13، A16 بالإضافة إلى تبيغ في الأوعية الدموية في أجزاء متفرقة من الأمعاء، الشكل (4-B8)، وقد لوحظت نقاط نزفية على الطبقة المصالية للأمعاء في الحالة A4 وسماكة في جدار الأمعاء في

الحالة A6، وتمدد بالأمعاء في جميع الحالات مع وجود محتويات بشكل سائل بلون أصفر إلى بني، ولوحظ في بعض الحالات نخر بؤري في الأمعاء، الشكل. (C8-4)، بدا جدار الأمعاء رقيق جداً في أغلب الحالات.

شوهد احتقان دموي في الأعضاء الداخلية في أغلب الحالات، ووجد احتقان شديد في القلب عند الحالة A3، واحتقان عام وشديد بالإضافة إلى تهتك في الأعضاء في بعض الحالات، وقد ظهر تهتك النسيج الكبدي بشدة مع ارتخاء في العضلة القلبية كما في الحالة A5، كما بدا الاحتقان شديداً أيضاً على الرئة عند الحالة A11.

الكبد بلون باهت مصفر وقوام هش سهل التفكت ومدور الحواف في أغلب الحالات، وصلب القوام في الحالة A3، وُجد نزف حبري على الكبد، وتهتك في محفظة الكبد في الحالة A5، وتضخم الحويصل الصفراوي وامتلاؤه بالعصارة الصفراوية، الشكل. (D8-4) في جميع الحالات.

وُجد نزف حبري أو كدمي على الكلية، الشكل. (E8-4)، وقد كان النزف كدمي في الكلية في الحالة A13، كما وجدت الكلية بلون باهت في بعض الحالات، أو مزرق كما في A11 A14 ومُحتقنة في A12 ومُتوذمة في A11 A12 A14 ومُتضخمة في أخرى، وتغير في شكل الكلية في حالتين A13، A15، لوحظ سهولة نزع محفظة الكلية في بعض الحالات وسماكة في المحفظة في بعض الحالات، الشكل. (H8-4)، وقد كانت الكلية هشة متفتتة في حالة واحدة A3، كما وجدت الكلية عجينية رخوة في حالتين كما بدت الكلية A5 بلون باهت رمادي، وبدت بلون قاتم وأماكن ازرقاق في الحالة A13، الشكل. (I8-4).

وجد نزف حبري منتشر على القلب في بعض الحالات وقد كان كثيفاً في المنطقة العلوية من البطن الأيمن في الحالة A4، كما وجد نزف حبري أيضاً وازرقاق لكامل الأذنين في الحالة A15 وسماكة في جدران العضلة القلبية في الحالتين A15، A16، واحتقان في الأوعية التاجية في الحالة A16 ووجود لدهون زائدة حول القلب في بعض الحالات.

شوهد في بعض الحالات سوائل مصلية إلى جيلاتينية في البريتوان، الشكل. (A8-4)، حيث كانت السوائل مصلية في أغلب الحالات، بينما كانت السوائل دموية في الحالة A6، وكانت الارتشاحات فيبرينية جيلاتينية عند تعرضها للهواء كما في الحالة A1، وشوهد في تجويف الصدر سوائل مصلية إلى دموية، الشكل. (F8-4)، ومصلية في الحالة A5 ومصلية رغوية كما في الحالة A13، ومصلية دموية في الحالات الأخرى، كما وجد سوائل مصلية غالباً في كيس التامور وفيبرينية في الحالة A11 ومصلية غزيرة في A8، وقد كان غشاء التامور سميكاً في الحالات A14، A9، A8.

لوحظ تصلد الرئة الأبيض في أغلب الحالات، وتصلد الرئة الأحمر في بعضها، وقد لوحظ احتقان الفصوص الأمامية للرئة في الحالة A11، الشكل. (G8-4).

كما لوحظ امتلاء المعدة لحملاً نافقة بالحليب المتجنن مما يدل على الرضاعة الزائدة لدى بعض الحملان، لوحظت بشكل واضح في الحالة A2، الشكل. (J8-4).

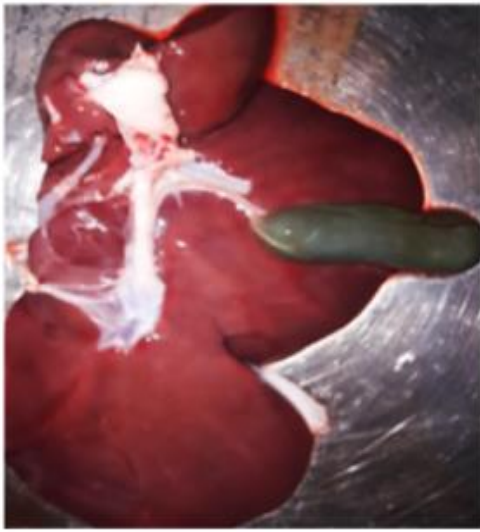
الشكل. (4-8): التغيرات التشريحية المرضية العيانية للأغنام المصابة



احتقان الأوعية الدموية المعوية + التهاب مخاطي في الأمعاء
(B)



تجوف البطن: نفاخ غازي وسوائل فيبرينية في تجوف البطن،
(A)



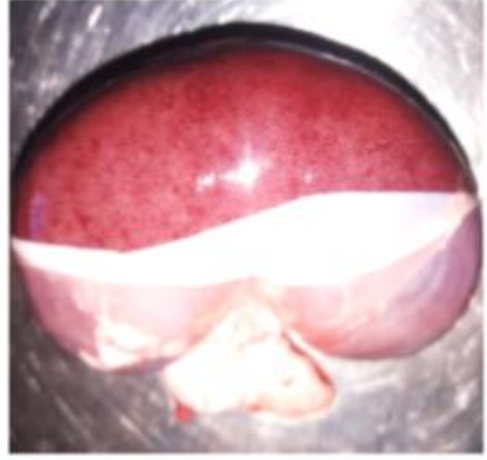
العضو الكبد: تضخم الحويصل الصفراوي
(D)



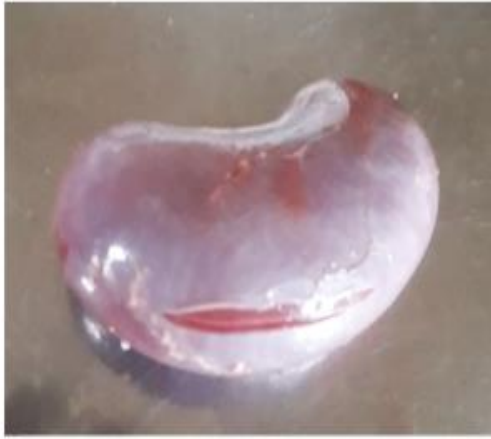
الأمعاء: احتقان الأوعية الدموية المساريقية ونخر في الأمعاء
(C)



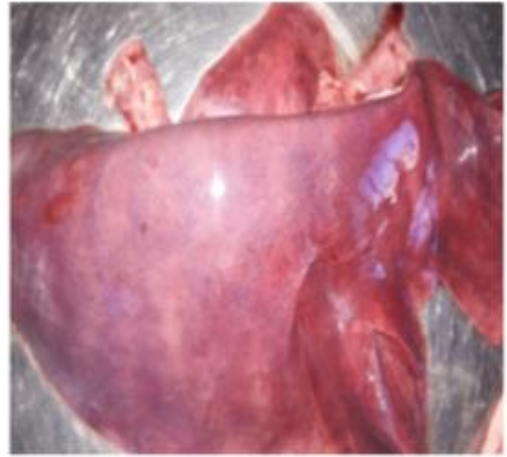
تجويف الصدر: سوائل دموية في تجويف الصدر
(F)



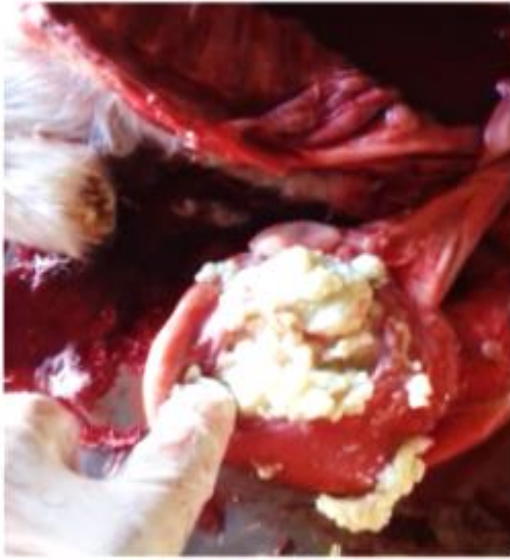
العضو الكلوية: نزف حبري على الكلوية
(E)



العضو الكلوية: سماكة في محفظة الكلوية
(H)



العضو الرئة: تصلد الرئة واحتقان في الفصوص الأمامية منها
(G)



العضو معدة حمل: امتلاء معدة حمل نافق بالحليب المتجبن
(J)



العضو الكلية: الكلية عجينية رخوة
(I)

4-3- نتائج التغيرات التشريحية المرضية النسيجية:

4-3-1- الوصف التشريحي العياني والنسجي للعينات من مجموعة أغانم الشاهد:

بدأت المقاطع النسيجية بالشكل الطبيعي للأنسجة تحت المجهر الضوئي، حيث كانت المقاطع من الأمعاء بمظهر سليم والزغابات المعوية طبيعية وطبقات النسيج سليمة بما في ذلك الطبقة المخاطية والطبقة تحت مخاطية والعضلية والمصلية والغدد الخبيثة وألياف العضلات الملساء الطولية والعرضية والنسج الضامة.

كما أظهرت المقاطع النسيجية من الكبد معالم الكبد الطبيعية من الهيكل العام للفصوص الكبديّة والخلايا الكبديّة المضلّعة والمسافات البايّة والجيبانات الكبديّة والشرايين والأوردة الكبديّة والقنوات الصفراوية.

بعد فحص المقاطع النسيجية للكلية مجهرياً وجدت في هيكل النسيج العام الطبيعي بوحداته المختلفة من كيب مالبكي والأنابيب القاصية والأنابيب الدانية والأنابيب الجامعة والأنسجة الضامة.

4-3-2- وجود الخلايا الالتهابية والخلايا البدينة في المقاطع النسيجية لمجموعة الشاهد:

لوحظ وجود الخلايا الالتهابية والخلايا البدينة في الصفحة القاعدية والنسيج الضام للأمعاء وبشكل خاص بين الغدد الخبيثة وقد تراوح عددها ما بين (0-2) خلية في المقطع النسيجي، كما بين الفحص المجهرى للمقاطع النسيجية للكبد وجود الخلايا البدينة حول أو داخل الجيبانات الكبديّة بما يتراوح ما بين (0-2) خلية في كامل المقطع النسيجي، فيما كان وجودها في المقاطع النسيجية للكلية حول الأوعية الدموية غالباً ما يتراوح ما بين (0-2) خلية في كامل المقطع النسيجي.

4-3-2- نتائج التغيرات التشريحية المرضية النسيجية لمجموعة الأغنام المصابة:

4-3-2-1- التغيرات التشريحية المرضية النسيجية في الأمعاء: Pathology of the Intestine

لوحظ احتقان في الأوعية الدموية Vascular congestion المعوية والمساريقية في أغلب الحالات، الشكل (4-9).

كما لوحظ في بعض المقاطع النسيجية حالات من التورم الغيمي Cloudy Swelling بدأت فيه الخلية بهيولى متمددة غير منتظمة الحدود وتكثف بروتين الخلية الذي أعطى المظهر الحبيبي، وجد التنكس المائي Hydropic degeneration في خلايا بعض الحالات حيث لوحظ وجود فجوة واضحة في الهيولى، الشكل (4-10). وتنكس بروتيني Protein degeneration في البعض منها الشكل (4-10). الشكل (4-15).

لوحظ التهاب الأمعاء النخري Necrotic Enteritis الشكل (4-11). على شكل نخر Necrosis الزغابات المعوية Villis في بعض المقاطع، الشكل (4-12). ونخر في الطبقة المخاطية في مقاطع أخرى وحتى الطبقة تحت المخاطية، الشكل (4-11). وحتى الطبقة العضلية الملساء في مقاطع أخرى لجدار الأمعاء، لوحظ التهاب الأمعاء الفيبريني Fibrinous enteritis، وجد تآكل في الزغابات Erosion ولوحظت علامات النخر في الخلايا المبطنّة للأمعاء من تغلظ

في كروماتين أنوية الخلايا Pyknosis، الشكل (4-10). فقد بدت الأنوية كتلة متجانسة دائرية، إلى زوال الأنوية Nucleus absence.

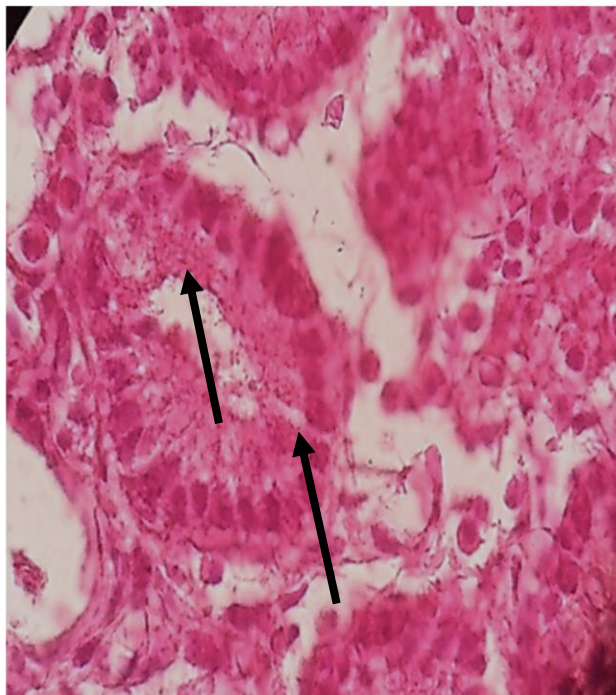
4-3-2-1-1- ردود الفعل للخلايا في نسيج الأمعاء:

لوحظ التهاب الأمعاء الحاد واحتقان في الأوعية الدموية مع وجود لخلايا التهابية أغلبها عدلات، الشكل (4-13). بالإضافة إلى وجود بعض البلاعم في بعض الحالات وبعض الخلايا المصورية في بعضها، الشكل (4-14). وبعض اللمفاويات في حالات أخرى، كما ظهرت خلايا الحمضات في البعض الآخر، الشكل (4-15). ويبين الجدول (4-3) أنواع الخلايا الالتهابية في المقاطع النسيجية للأمعاء في الحالات المدروسة وكثافة وجودها في النسيج.

الجدول (4-3): أنواع الخلايا الالتهابية في المقاطع النسيجية للأمعاء في الحالات المدروسة وكثافة وجودها في النسيج.

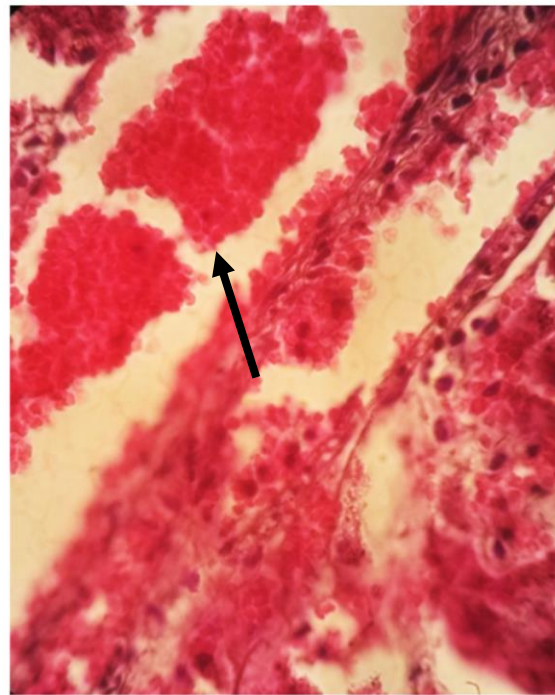
الأمعاء	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16
العدلات	+	+	+++	+++	+	++	++	+++	++	+++	++	+++	+++	++	-	+++
الحمضات	+	-	-	++	-	-	-	-	-	-	+++	+	+	-	-	-
اللمفاوية	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
البلاعم	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
المصورية	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-

(+): كثافة الخلية في نسيج الحالة، وتعدد الرموز يدل على زيادة كثافة وجود الخلايا.
(-): وجود طبيعي للخلية في نسيج الحالة.



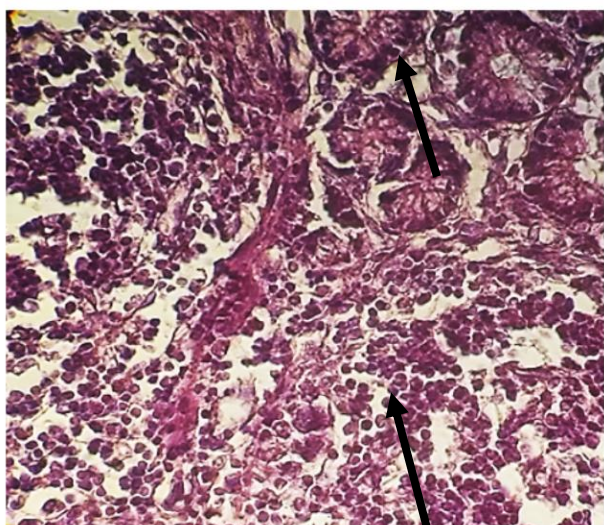
الشكل (4-10): تنكس ماني فجوي في الخلايا. تنكس بروتيني- تغلظ الأنوية.

H&E X 100



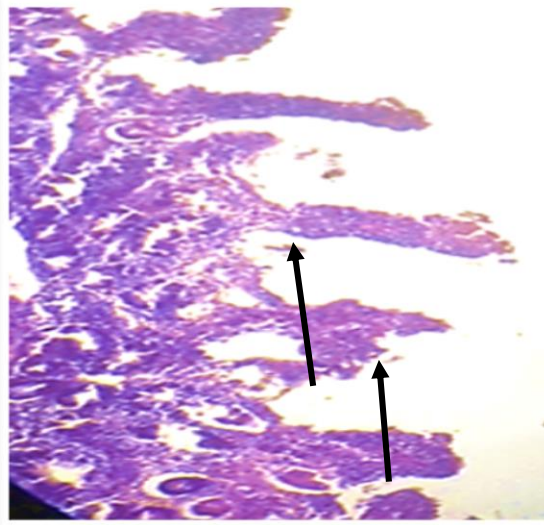
الشكل (4-9): احتقان في الأوعية الدموية المعوية

H&E X 60



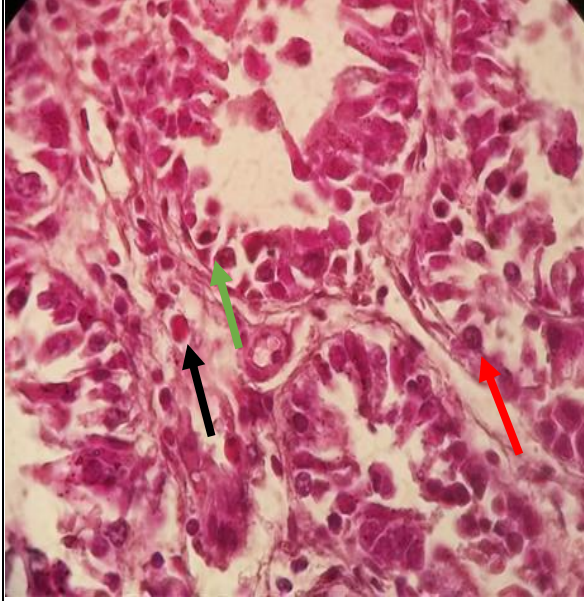
الشكل (4-12): نخر بؤري في الأمعاء - لطف باير.

H&E X 40



الشكل (4-11): تأكل الزغابات المعوية - نخر في الطبقة المخاطية وتحت المخاطية.

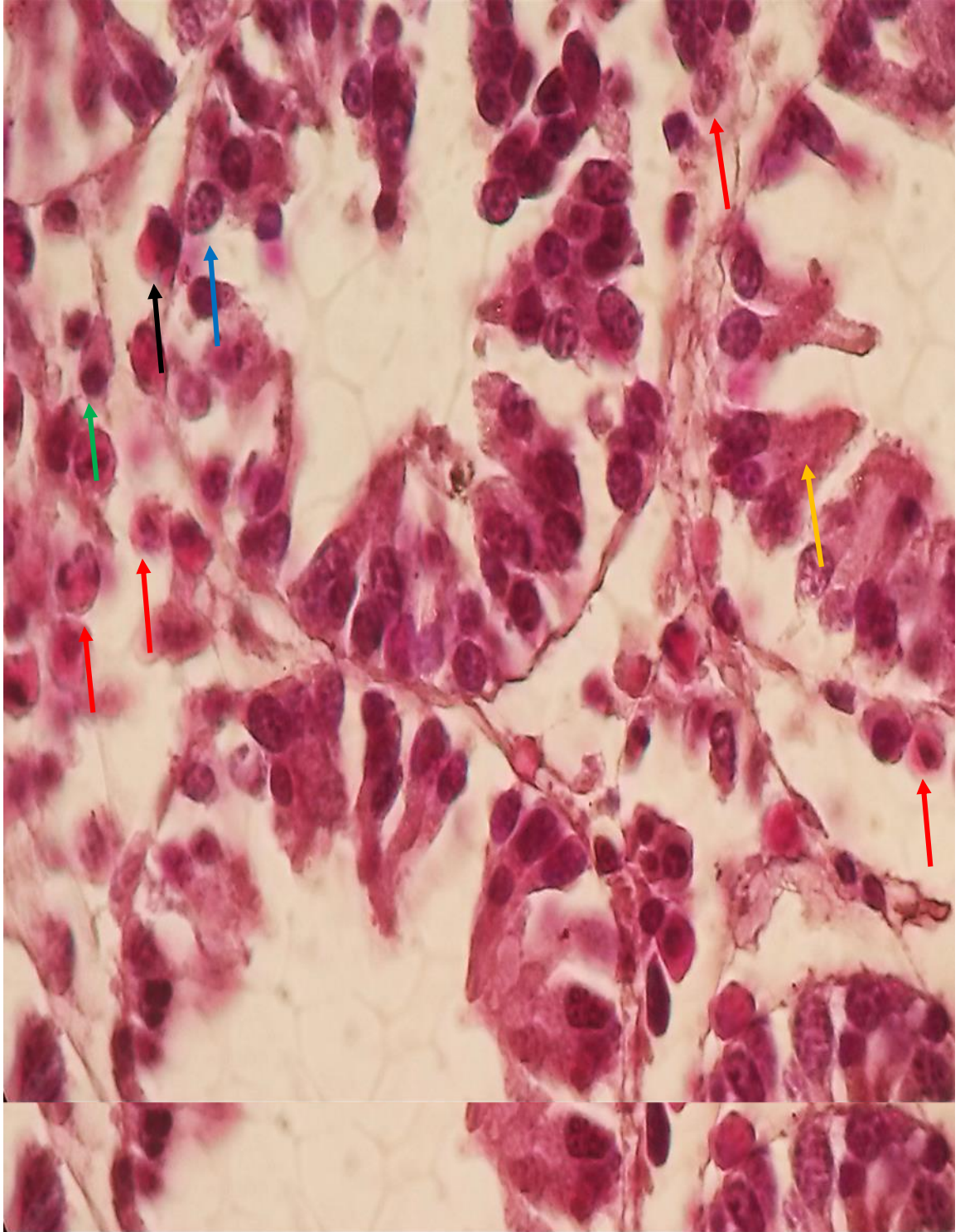
H&E X 10



الشكل: (4-14) التهاب الأمعاء النخري - خلايا التهابية:
عدلات (أحمر) حمضات (أسود) بلازميات (أخضر).
H&E X100



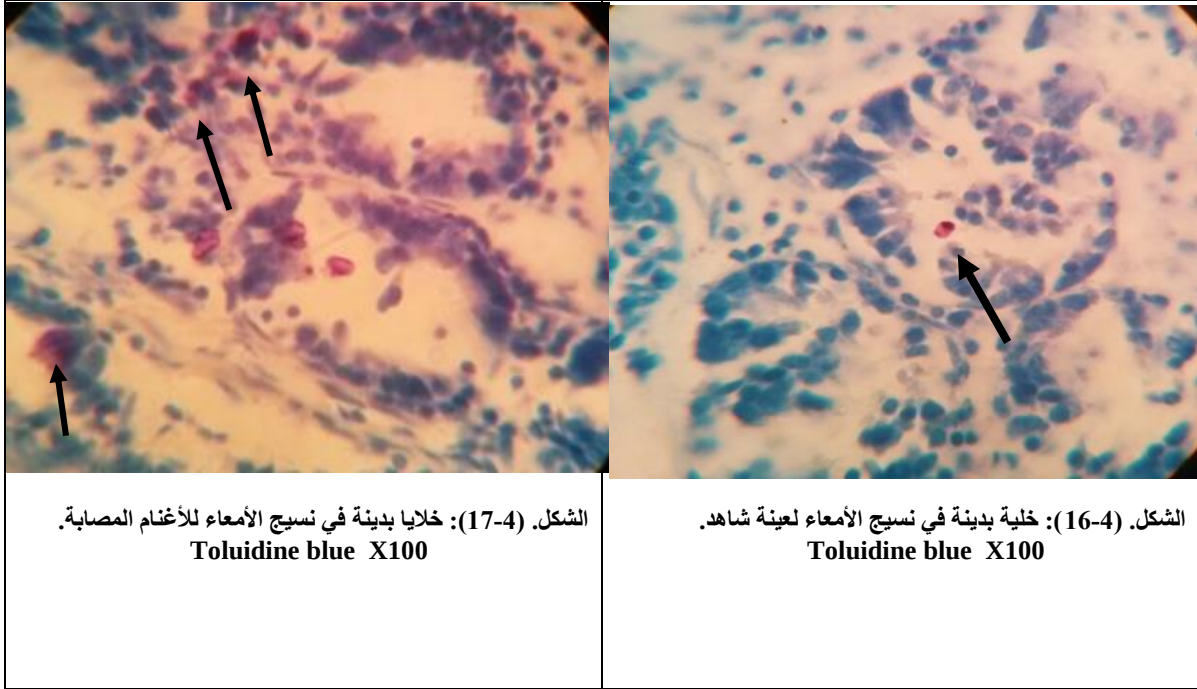
الشكل. (4-13): احتقان في وعاء دموي معوي - وجود
كثيف للعدلات (أحمر) في الصفيحة المخصوصة وفي مجرى
الدم وعلى جدار
الوعاء الدموي (الترصيف للانسلال إلى النسيج).
H&E X100



الشكل (4-15) H&E: خلايا التهابية في مقطع نسيج أمعاء. عدلة (سهم أحمر). مصورية (أخضر). الحمضات (أسود). بلعمية (أزرق). + تنكس بروتيني في الخلايا (أصفر).

4-3-2-1-2- وجود الخلايا البدينة في المقاطع النسيجية للأمعاء من الأغنام المصابة:

وجدت لدى الفحص المجهرى للمقاطع النسيجية من الأمعاء من أغنام الشاهد الخلايا البدينة في أماكن وجودها في النسيج الضام والصفحة المخصوصة وبين الغدد الخبيئة، الشكل (4-16)، وكانت موجودة بشكل متزايد عم حالتها الطبيعية ومتفاوت بين كل مقطع نسيجي وآخر من العينات المأخوذة من الأغنام المصابة. الشكل (4-17).



4-3-2-2- التغيرات التشريحية المرضية النسيجية في الكبد: Pathology of the Liver

وجد احتقان في الأوردة البابية والأوردة المركزية وأشباه الجيوب الكبدية Hepatic sinusoids في بعض الحالات، الشكل (4-18) والشكل (4-22)، وجد نزف منتشر شوهد بتسرّب لكريات دم حمراء في النسيج خارج الوعاء الدموي في حالات أخرى.

وجدت عند فحص الشرائح النسيجية للكبد تغيرات مرضية متنوّعة، وجدت مناطق لحالات تنكس مختلفة في النسيج فقد لوحظ التورم الغيمي في خلايا بعض الحالات إلى التنكس المائي في البعض منها إلى التنكس الفجوي الشكل (4-20)، والتنكس البروتيني، الشكل (4-19) والتنكس الدهني Fatty Degeneration في الكبد، الشكل (4-20)، حيث ظهرت الخلايا بشكل فص الخاتم المميز لهذه الحالة.

وقد وجد نخر بؤري في خلايا الكبد بشكل عام، الشكل (4-21)، حيث لوحظ تغلظ الأنوية في المناطق النخرية، وزوال الأنوية في مساحة كبيرة من التهاب الكبد النخري Necrotic hepatitis وزوال البنية الشعاعية ومعالم النسيج الأساسية الشكل (4-20).

4-3-2-2-1- ردود الفعل للخلايا في نسيج الكبد:

لوحظ وجود كثيف لخلايا العدلات ترافقت مع بعض الخلايا المصورية في أشباه الجيوب الكبدية في بعض الحالات، وقد وجدت خلايا التهابية السائد عليها العدلات مع بعض الحمضات والبلاعم في البعض الآخر، الشكل، (4-22)، ولوحظ تنكس دهني منتشر في خلايا الكبد مترافق مع زيادة في الخلايا العدلة وخلايا كوففر البلعمية الكبدية في بعض الحالات، الشكل. (4-23). ويبين الجدول. (4-4) وجود أنواع الخلايا الالتهابية في المقاطع النسيجية من الكبد في الحالات المدروسة.

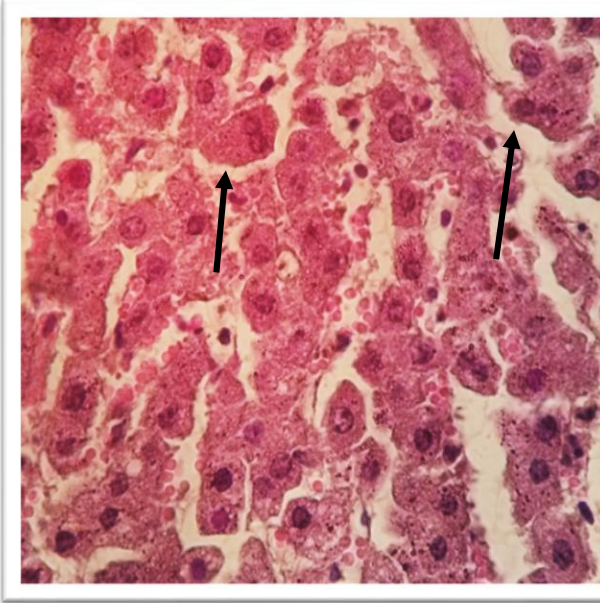
الجدول. (4-4): أنواع الخلايا الالتهابية في المقاطع النسيجية للكبد في الحالات المدروسة وكثافة وجودها في النسيج.

كبد	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16
العدلات	+	++	++	++	+	+	++	+++	++	+	++	+	++	++	++	+
الحمضات	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
اللمفاويات	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
خلايا بلعمية	-	+	-	++	-	-	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+
البلازمية	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	-

(+): كثافة الخلية في نسيج الحالة، وتعدد الرموز يدل على زيادة كثافة وجود الخلايا.

(-): وجود طبيعي للخلية في نسيج الحالة.

التغيرات التشريحية المرضية المجهرية في نسيج الكبد:



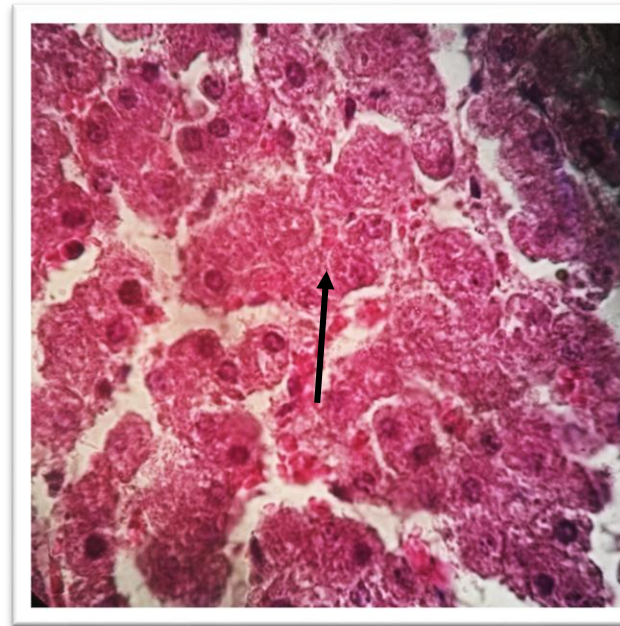
H&E X 60

الشكل. (19-4): تغلظ الأنوية - تنكس بروتيني في الخلايا الكبدية.



H&E X100

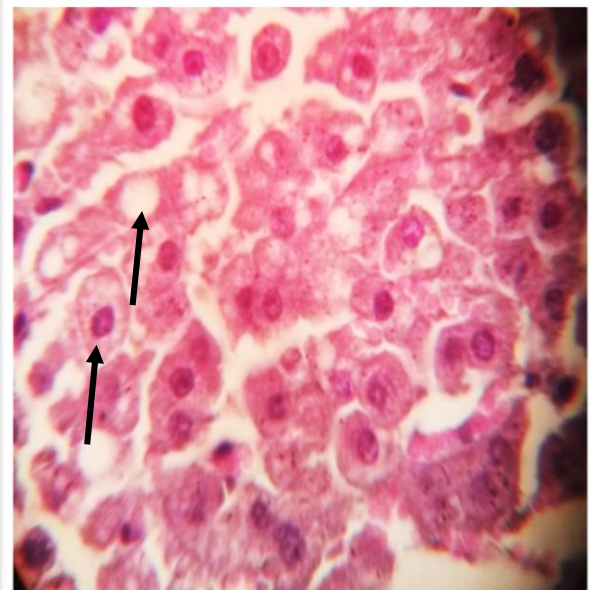
الشكل. (18-4): احتقان دموي في أشباه الجيوب الكبدية



H&E X60

(21-4)

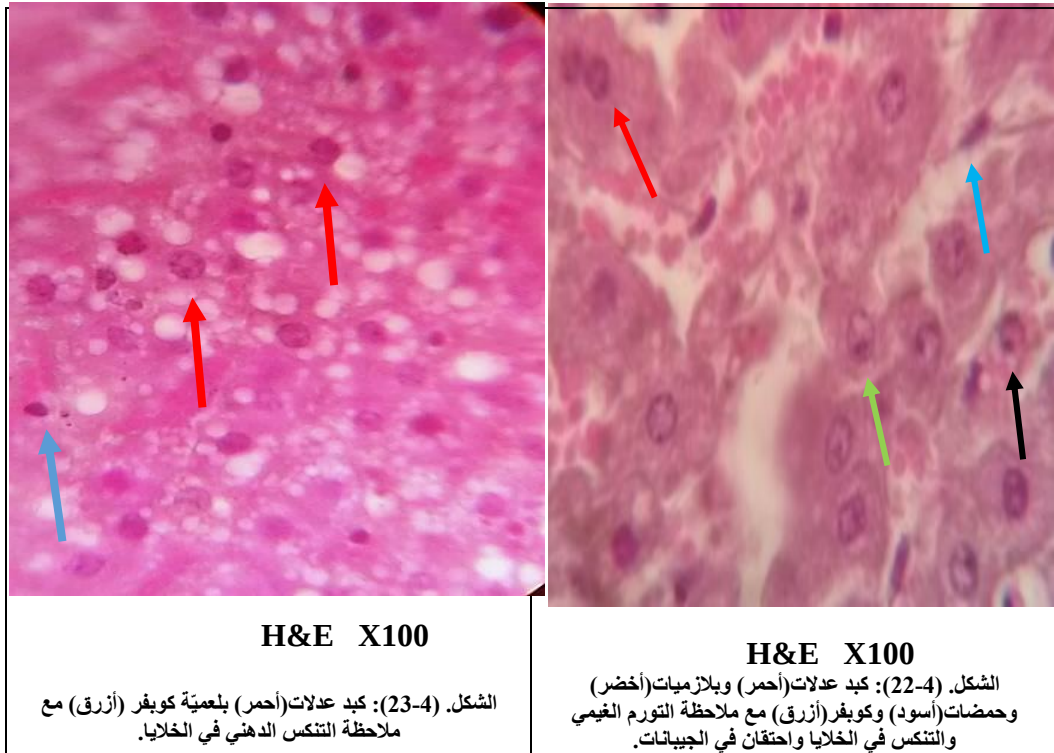
الشكل. (21-4): نخر في خلايا الكبد.



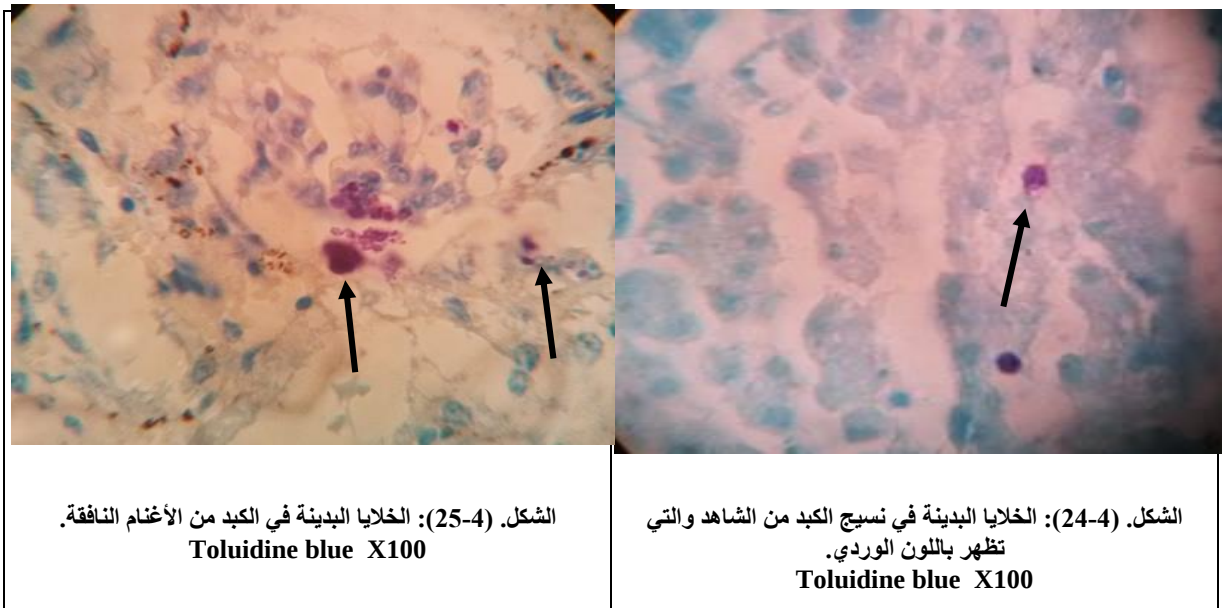
H&E X100

(20-4)

الشكل. (20-4): اتساع في أشباه الجيوب الكبدية-تورم غيمي في الخلايا- تنكس فجوي - تنكس دهني - تغلظ وانحلال أنوية - التهاب الكبد النخري.



4-2-2-3-2- وجود الخلايا البدنية في المقاطع النسيجية للكبد لمجموعة الأغنام المصابة:
 يبين الفحص المجهرى في الكبد عن وجود للخلايا البدنية حول أشباه الجيوب الكبدية في العينات من الشاهد الشكل. (4-24)، وكانت موجودة بشكل متزايد عم حالتها الطبيعية ومتفاوت بين كل مقطع نسيجي وآخر في العينات من الأغنام المصابة. الشكل. (4-25).



3-2-3-4- التغيرات التشريحية المرضية في نسيج الكلية للأغنام المصابة : Pathology of the Kidney

وجد عند فحص مقاطع نسيج الكلية من الأغنام النافقة تغيرات تشريحية مرضية شملت جميع أنسجة الكلية وأبدت احتقان دموي شديد في الأوعية الدموية، الشكل. (4-26)، الشكل. (4-30)، كما وجد نزف دموي منتشر في نسيج بعض الحالات، الشكل. (4-30) وتوهم Hydronephrosis في النسيج الخلالي الكلوي، الشكل. (4-27).

كما لوحظ امتلاء الأوعية الدموية بخضاب الدم المنحل على شكل قوالب هيموغلوبين Hemoglobin وفي لمعة النبيتات الكلوية في بعض الحالات، الشكل. (4-28)، الشكل. (4-30).

وجد حالات من تنكس مائي وتنكس فجوي في الخلايا المبطنة للنبيتات الكلوية، الشكل. (4-27)، وتنكس بروتيني حيث وجدت ترسبات باللون الزهري في خلايا ظهارة النبيتات الكلوية وفي الكبيبات الكلوية الشكل. (4-26)، كما لوحظ التهاب النبيتات الكلوية النخري Necrotic tubulitis، الشكل. (4-29) والشكل. (4-34)، حيث لوحظ زوال المعالم الأساسية للنسيج وتغلظ الأنوية، الشكل. (4-26). وزوالها من الخلايا النبيتية والكبيبية الكلوية، كما وجد التهاب في الكبيبات الكلوية Glomerulonephritis ونخر كبيبي بؤري ومنتشر، الشكل. (4-33)، حيث وجد النسيج على شكل مساحة زهرية الصبغة باهتة بدون أي معالم للنسيج الأساسي للكبيبات الكلوية، كما وجد اتساع في فراغ بومان، الشكل. (4-34)، وترسبات لمواد بروتينية زهرية الصبغة في فراغ محفظة بومان.

4-3-2-3-1- ردود الفعل للخلايا في نسيج الكلية:

لوحظ وجود كثيف لخلايا التهابية متنوعة تحت محفظة الكلية في أغلب الحالات، وشوهد تنكس في بطانة النبيتات الكلوية مع وجود كثيف للخلايا العدلة، وجد التهاب في النسيج الخلالي الكلوي مع تجمعات لخلايا التهابية من عدلات وحمضات ولمفاويات وبلاعم وأرومات الليفية، الشكل. (4-31)، كما لوحظ التهاب حاد في النبيتات الكلوية مع وجود كثيف للخلايا العدلات، إضافة إلى وجودها في مجرى الدم، الشكل. (4-32)، لوحظ نخر حاد في الكبيبات الكلوية مع وجود كثيف للخلايا العدلات، الشكل. (4-34)، يبين الجدول. (4-5) وجود أنواع الخلايا الالتهابية في المقاطع النسيجية من الكلية في الحالات المدروسة.

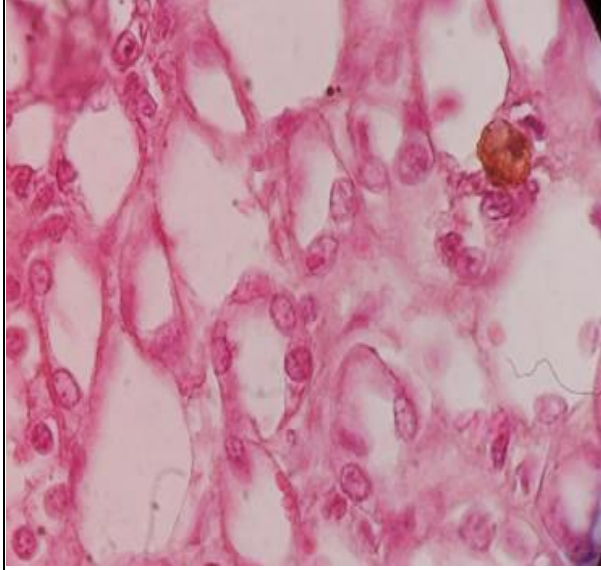
الجدول. (4-5): أنواع الخلايا الالتهابية في المقاطع النسيجية للكلية في الحالات المدروسة وكثافة وجودها في النسيج.

الكلية	A1	A2	A3	A4	A5	A6	A7	A8	A9	A10	A11	A12	A13	A14	A15	A16
العدلات	+	+	++	+++	++	+++	+	++	++	+++	++	++	++	+++	+++	++
الحمضات	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
اللمفاوية	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
البلاعم	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
المصورية	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-

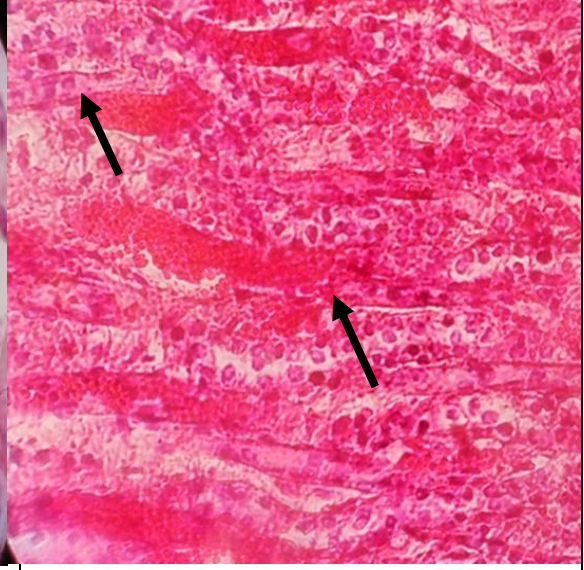
(+): كثافة الخلية في نسيج الحالة، وتعد الرموز يدل على زيادة كثافة وجود الخلايا.

(-): وجود طبيعي للخلية في نسيج الحالة.

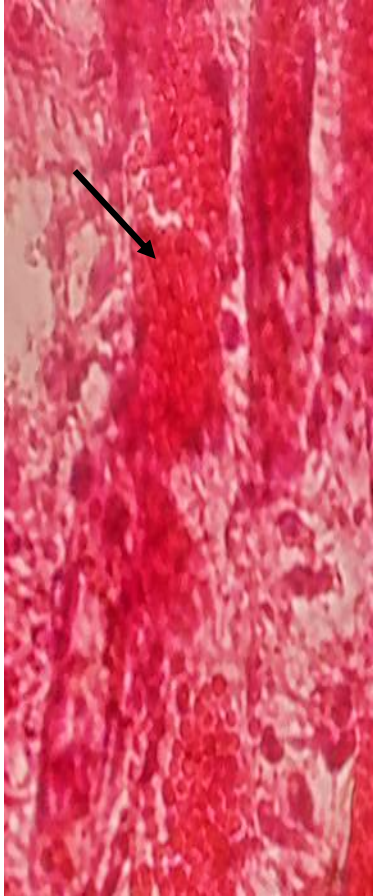
التغيرات التشريحية المرضية المجهرية في تسيح الكلية:



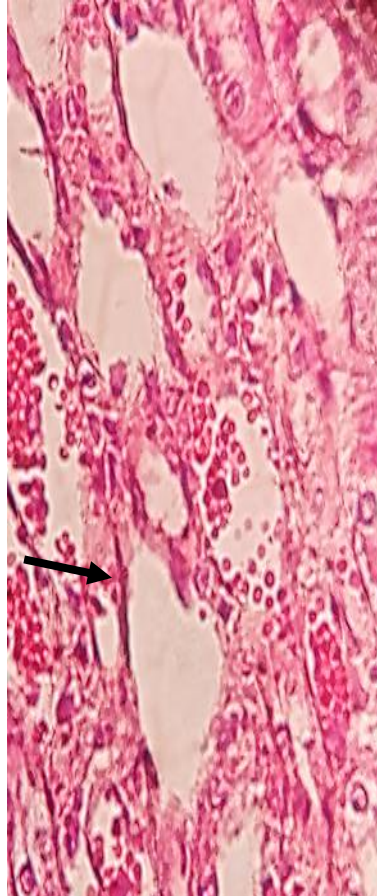
H&E X100
الشكل. (4-27): تنكس مائي فجوي في ظهارة النبيبات الكلوية-توذم في النسيج الخلالي الكلوي.



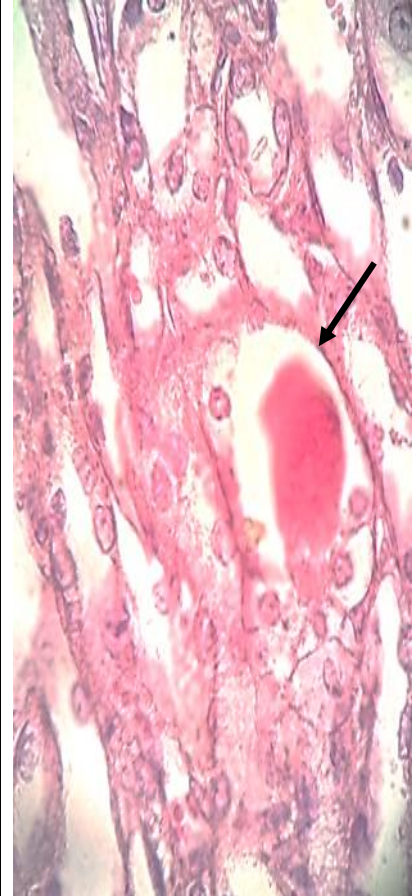
H&E X60
الشكل. (4-26): احتقان شديد في الأوعية الدموية الكلوية + تنكس بروتيني في ظهارة النبيبات الكلوية-تغلظ الأنوية



H&E X 100
الشكل. (4-30): احتقان شديد في الأوعية الدموية الكلوية _ نزف منتشر.

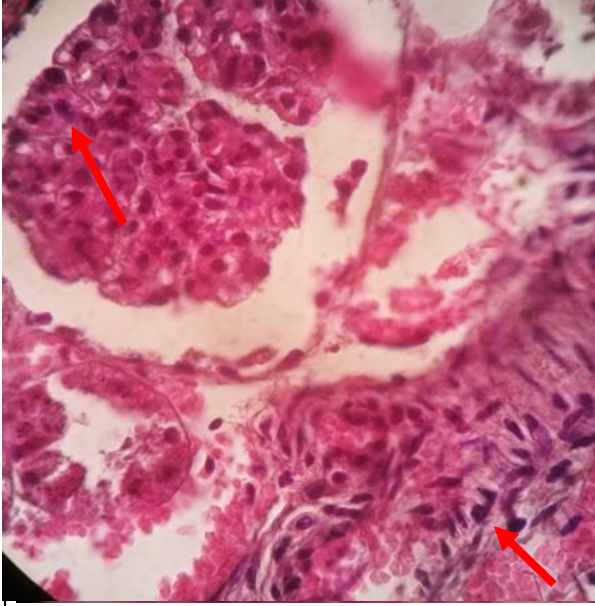


H&E X 100
الشكل. (4-29): نخر في النبيبات الكلوية.

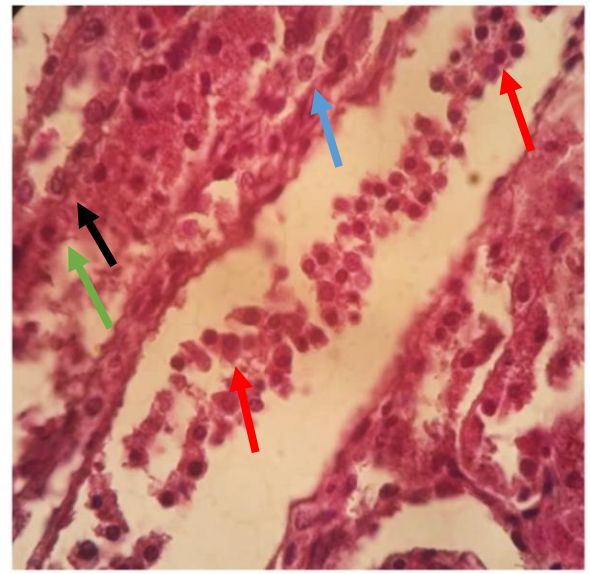


H&E X100
الشكل. (4-28): خضاب الدم في لمعة الأنابيب الكلوية (سهم أسود).

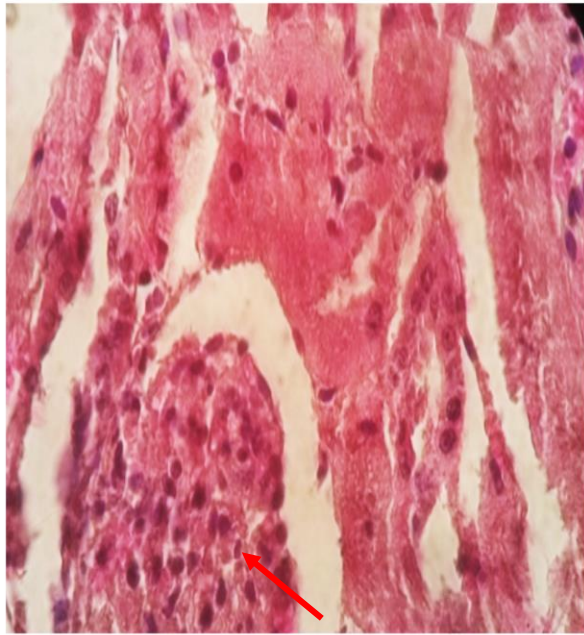
ردود الفعل الالتهابية الخلوية في نسيج الكلية:



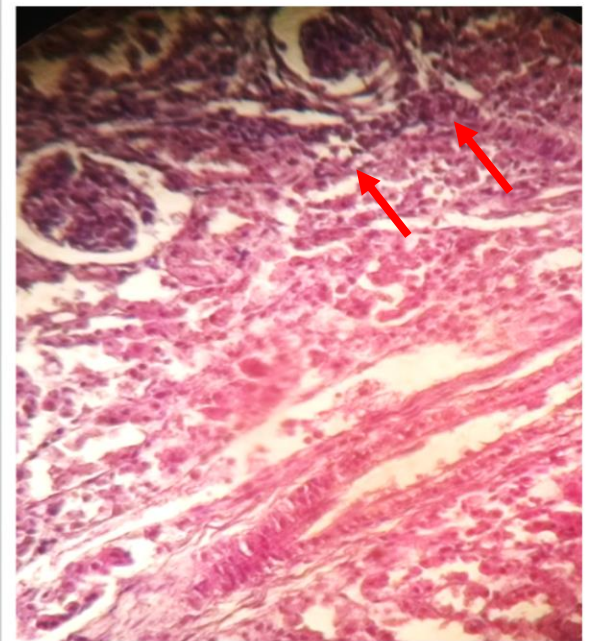
H&E X100
الشكل. (4-32): مقطع في الكلية - عدلات (سهم أحمر).



H&E X60
الشكل. (4-31): مقطع في الكلية عدلات (سهم أحمر) وحمضات (سهم أسود) وبلاعم (سهم أزرق) وبلازميات (سهم أخضر).

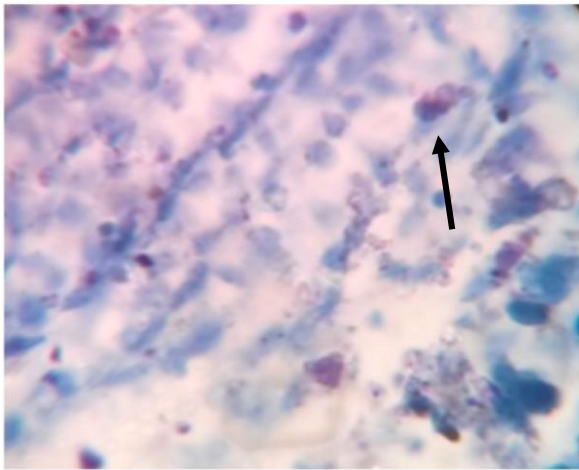


H&E X100
الشكل. (4-34): نخر في النبيبات الكلوية والكبيبات الكلوية- اتساع في فراغ محفظة بومان- وجود كثيف للعدلات (أحمر).

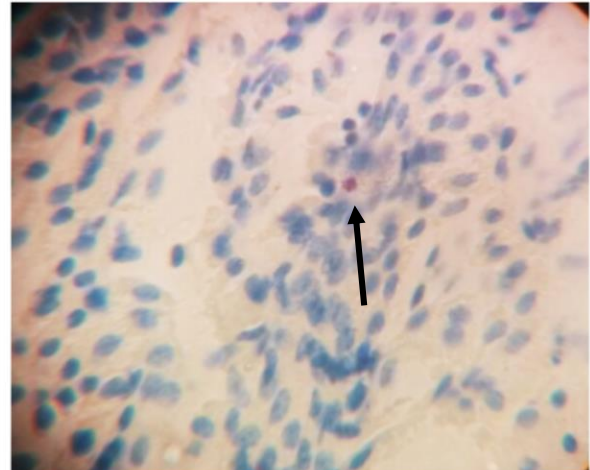


H&E X60
الشكل. (4-33): نخر نبيبي وكبيبي مع وجود كثيف للخلايا الالتهابية (أحمر)

4-3-2-3-2- وجود الخلايا البدينة في المقاطع النسيجية من الكلية لمجموعة الأغنام المصابة:
 بيّن الفحص المجهرى وجود للخلايا البدينة حول الأوعية الدموية في المقاطع النسيجية من عينات الشاهد
 الشكل. (4-35)، وكانت موجودة بشكل متزايد عم حالاتها الطبيعية ومتفاوت بين كل مقطع نسيجي وآخر في
 الهينات من الأغنام المصابة. الشكل (4-36).

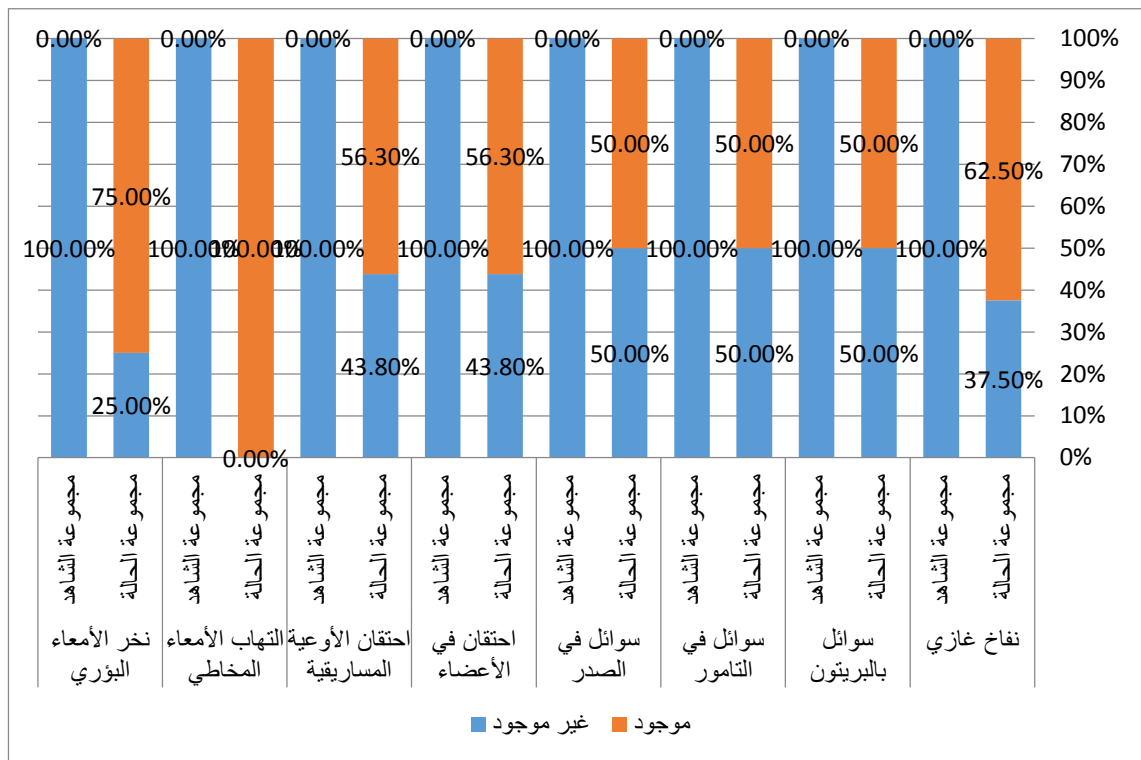


الشكل. (4-36): الخلايا البدينة في الكلية-يلاحظ المواد الوردية المفرزة.
 Toluidine blue X100

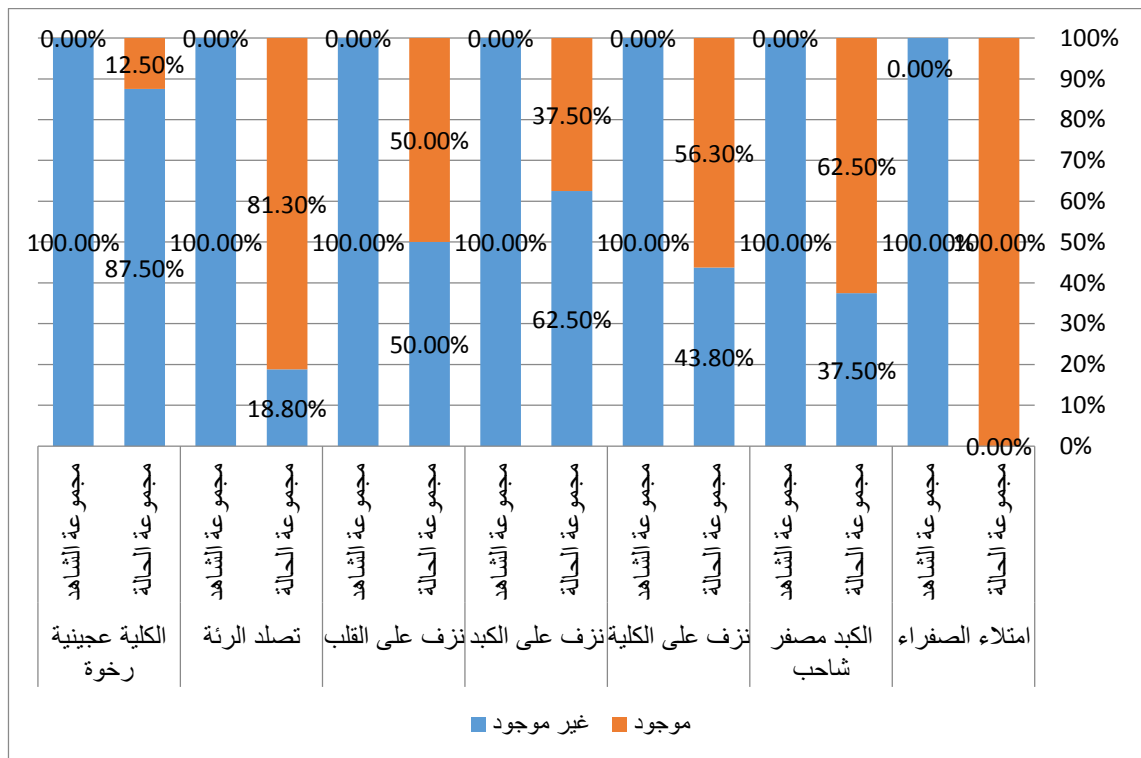


الشكل. (4-35): الخلايا البدينة في نسيج الكلية للشاهد.
 Toluidine blue X100

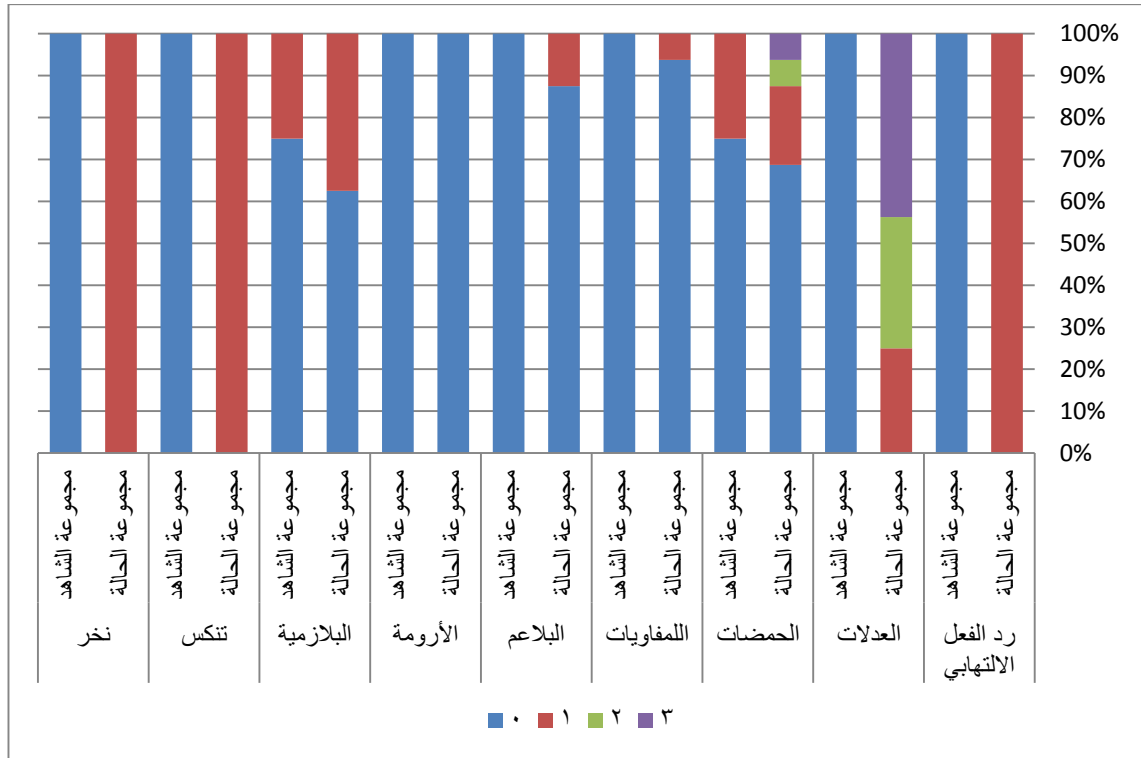
4-2-4- نتائج التحليل الإحصائي:



المخطط (2-4): النتائج الإحصائية للتغيرات المرضية العيانية.

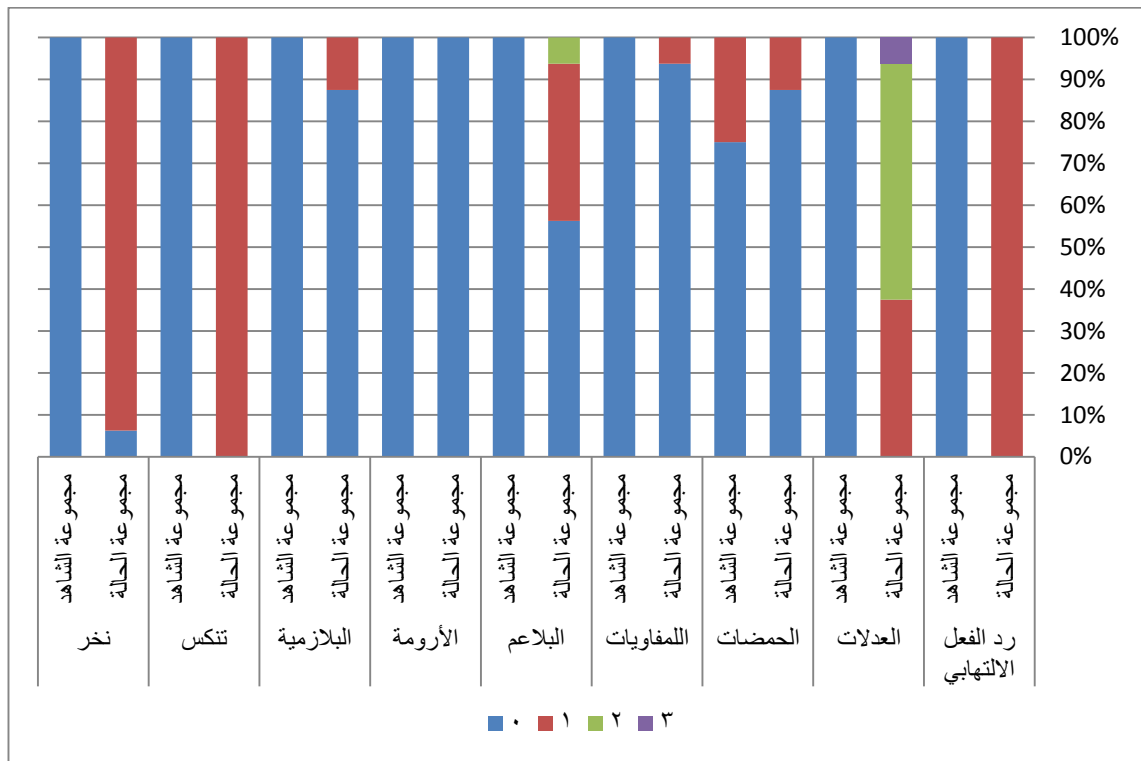


المخطط (3-4): النتائج الإحصائية للتغيرات المرضية العيانية.

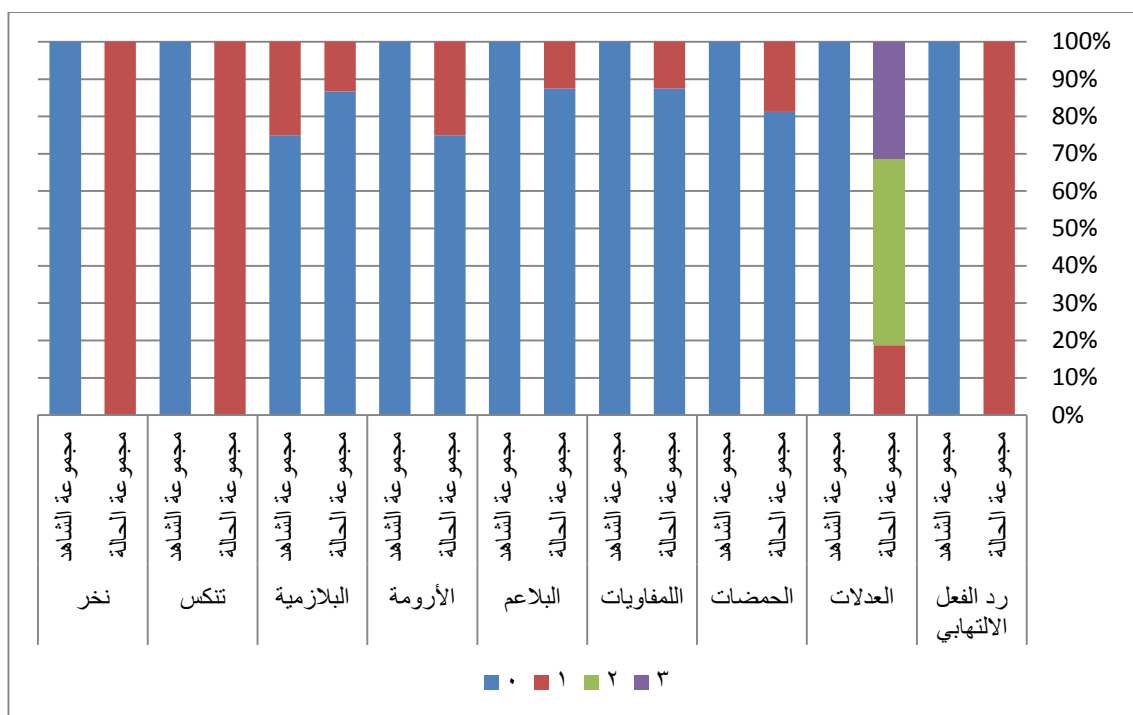


المخطط (4-4): وجود الخلايا الالتهابية والتنكس والنخر في أنسجة الأمعاء المدروسة.

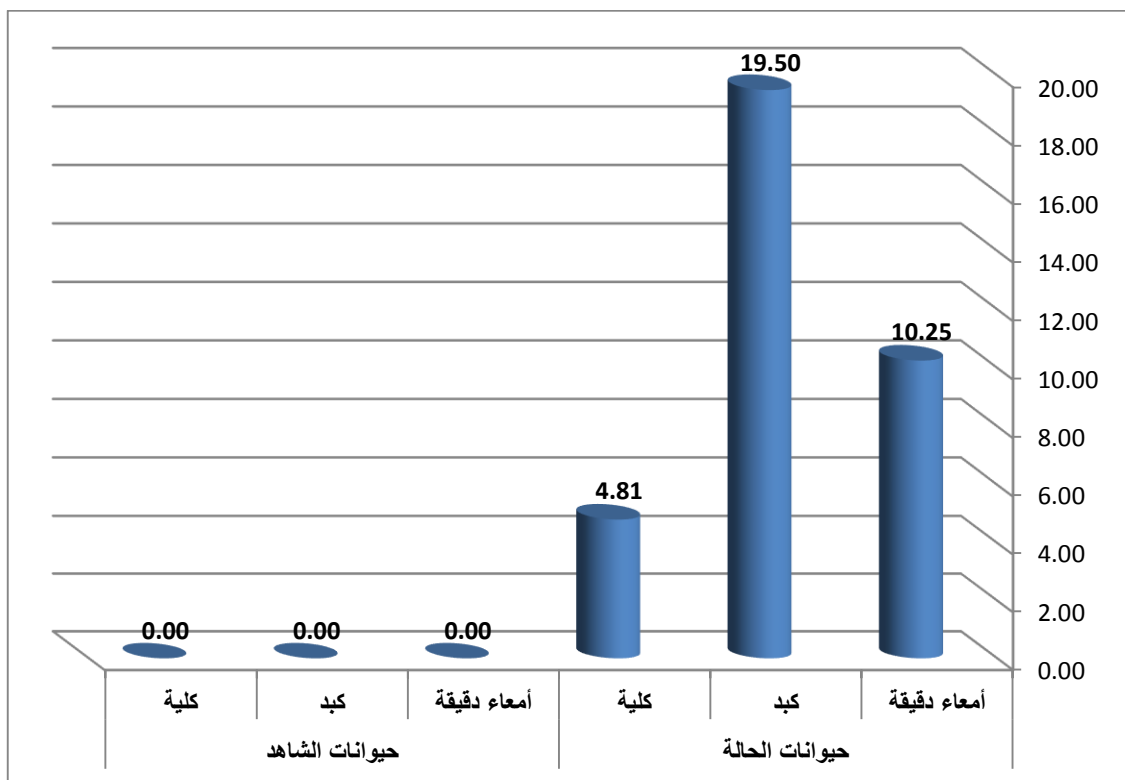
0: وجود طبيعي للخلايا الالتهابية. (1): زيادة خفيفة. (2): زيادة متوسطة. (3): زيادة كثيفة.



المخطط (5-4): وجود الخلايا الالتهابية والتنكس والنخر في أنسجة الكبد المدروسة.



المخطط (4-6): وجود الخلايا الالتهابية في أنسجة الكلية المدروسة.



المخطط (4-7): وجود الخلايا البدينة في الأنسجة المدروسة.

المناقشة

DISCUSSION

5 المناقشة Discussion

أظهرت هذه الدراسة وجود مرض التذيقن الدموي المعوي في قطيع الأغنام الموجود في مركز البحوث العلمية الزراعية في حماة، حيث تم جمع العينات من الأغنام النافقة نفوقاً مفاجئاً وكان معدل النفوق للحالات المدروسة المصابة بمرض التذيقن الدموي المعوي 100% وذلك في فترة الدراسة المحصورة في الفترة الواقعة ما بين شهر كانون الأول عام 2021 إلى شهر تموز من عام 2022، وكانت نسبة الإصابة 3.66% حيث كان عدد الأغنام المصابة 16 من الأغنام من قطيع مؤلف من 436 رأس من الأغنام مؤلف من 147 نعجة، و 31 كبش، و 51 رأس من الدغالي، و 57 من الثنايا و 82 من الخراف الصغيرة، و 68 من الحملان الصغيرة.

وُجد أن الأغنام المصابة كانت من فئة النعاج والخراف الصغيرة والحملان حديثة الولادة، فقد كان عدد الحملان المصابة 9 إلى 68 حمل في القطيع، أي بنسبة إصابة 13.23% من مجمل الحملان، أما نسبة الحملان الصغيرة المصابة (9) إلى القطيع الكلي (436) فقد كانت 2.06%، وكان عدد الخراف الصغيرة المصابة 4 من الخراف إلى 82 خروف أي بنسبة إصابة 4.87% خروف، أما نسبة الخراف الصغيرة المصابة (4) إلى عدد القطيع الكلي (436) فقد كانت 0.97%، وكان عدد النعاج المصابة 2 نعجة إلى 147 نعجة أي بنسبة إصابة 1.3% نعجة بالنسبة إلى عدد النعاج، أما نسبة النعاج المصابة (2) إلى عدد القطيع الكلي (436) فقد كانت 0.458%.

وقد تعزى نسبة النفوق العالية إلى شدة فوعة المسبب أو إلى أن الحالات المريضة كانت من النوع الحاد أو فوق حاد وهذا يتوافق مع ما أشارت إليه دراسات عديدة منها (Songer, 1996)، في حين ذكر تولوي ومسعودي (Tooloei and Masodei, 2008) أن نسبة النفوق fatality rates قد تراوحت في قطعان دراستهما بين 0-80% وبمعدل 40%، بينما أشار (Gökce et al., 2007) إلى أن معدل الإصابة من الممكن أن يصل إلى 30% بمعدل نفوق مرتفع 100%.

(El-Idrissi and Ward., 1992; Greco et al., 2005; Nazki et al., 2021).

توافقت نسبة النفوق مع ما وجدته (حمد، 2010) في دراسة للحالات النافقة لقطعان الأغنام في مدينة حماة وريفها حيث تراوحت نسب انتشار المرض في قطعان الدراسة بين 7.03-47.32% وبمعدل 18.61% حيث تعتبر نسبة مرتفعة على الرغم من أنها أقل من النسب المذكورة في العديد من الدراسات حول العالم والتي تراوحت بين 24.13% و 100%.

وقد تتفاوت نسبة الإصابة من منطقة إلى أخرى ومن دولة إلى أخرى حيث ذكر العالم سونجر في عام (Songer, 1996) أن نسبة الإصابة بالمرض عند الأغنام قد تصل إلى 30% ومعدلات نفوق Fatality rates مرتفعة قد تصل إلى 100% وبشكل خاص عند الإصابة بالنمط D، كما أشار العالم نيلو في عام (Niilo, 1988) إلى أن معدلات الإصابة يمكن أن تتراوح بين 30 إلى 50% وقد تصل معدلات النفوق بين 50 إلى 100% ترافقها أعراض تدوم أقل من 24 ساعة وبشكل خاص عند الإصابة بالنمط C، وقد أكدت الطرق التشخيصية في هذه الدراسة إيجابية الإصابة بالتذيقن الدموي المعوي في جميع الحالات النافقة والمشتبه بإصابتها بالمرض التي جمعت من

قطيع الأغنام في مركز بحوث حماة بغية الدراسة التشريحية المرضية وهذا ما يتوافق مع الباحثين (Songer, 1996; Niilo, 1988) ومع ما وجدته الباحثة (Greco et al., 2005) عن نسبة نفوق قد تصل إلى 100% في الأغنام المصابة

وفي الدراسة التي تُعنى بالدراسة الوبائية للمرض للباحث (حمد، 2010) حيث كانت نسبة الإصابة مرتفعة جداً بحدود 73.37% في عام 2008 وعند مقارنتها مع نتائج الصحة الحيوانية لنفس العام كانت متشابهة نسبياً حيث أنّ أعلى نسب للإصابة سُجّلت من قبل الصحة الحيوانية خلال الفترة 2006-2008 كانت في عام 2008، فكانت نسبة الإصابة في العينات من الأغنام الواردة خلال عام 2006 هي 29.91% بينما ارتفعت النسبة في عام 2007 ووصلت إلى 34.17% وبلغت أعلى نسبة خلال عام 2008 بنسبة إصابة 41.15% على الرغم من أن العينات الواردة في عام 2008 كانت أقل من الأعوام السابقة لكن كانت نسبة الإصابة مرتفعة ما يدل على خطورة المرض كما وتشهد هذه النسب ارتفاعاً مستمر ويرجع ذلك إلى عوامل الخطورة وعوامل الفوعة للمسبب والعوامل المهيئة للمرض ومدى العمل على تفادي تلك العوامل ومدى تطبيق طرق التشخيص والعلاج والسيطرة على المرض.

قد يعزى هذا التفاوت في معدلات الإصابة والنفوق إلى عدة عوامل منها التغيرات البيئية واختلاف مواسم الدراسة والتحصينات والوقاية باللقاحات وطبيعة التغذية واختلافها من دولة لأخرى ومن منطقة لأخرى ومدى مهارة الأطباء البيطريين في تشخيص المرض والوعي التثقيفي والصحي لدى المربين.

تمّ في هذه الدراسة أخذ العينات للفحص الجرثومي مباشرة عند النفوق وتمّ الزرع بشكل فوري في أنابيب مجهزة بمرق الثيوغليكولات وتمّ تحضينها مباشرة ومن ثمّ تمّ الزرع على الأوساط حيث تدلّ النتائج الإيجابية للزرع من الأمعاء الغليظة على وجود جراثيم المطثية الحاطمة المتعايشة وتدلّ النتائج الإيجابية للزرع من الأمعاء الدقيقة على وجود للمطثية الحاطمة بالشكل الممرض وتدلّ النتائج الإيجابية من الكبد أو الكلية أو الاثني عشر معاً على تأكيد الإصابة حيث تنتقل هذه الجراثيم إلى الأوعية الدموية المساريقية والمعوية بعد تخريب جدار الأمعاء ومن ثمّ إلى مجرى الدم ومنه إلى الأعضاء الأخرى.

أظهرت نتائج الفحص الجرثومي وجود جراثيم المطثية الحاطمة من الجنس *Clostridium* نوع *Perfringens* في العينات المأخوذة من وسط الأمعاء الغليظة في جميع الحالات المشتبهة وفي 50% من حالات الشاهد السليمة، حيث تشكل الأمعاء الغليظة الوسط الذي توجد فيه جراثيم المطثية الحاطمة بشكل متعايش كمكوّن من الفلورا الطبيعية، ويمكن أن تعزى النتيجة السلبية لوجودها في 50% من أمعاء الغليظة للشاهد إلى انخفاض كبير لنسبة هذه الجراثيم في وسط الأمعاء الغليظة مما أدى إلى تعذر نموها على المنابت الجرثومية وهذا ما يتوافق مع (Quinn et al., 2003).

أكدت النتائج السلبية لعينات الشاهد من الأمعاء الدقيقة أن مكان وجود جراثيم المطثية الحاطمة الطبيعي (السليم) في الأمعاء الغليظة فقط، وأن وجودها خارج الأمعاء الغليظة يدل على الحالة المرضية حيث لم توجد هذه الجراثيم في العينات من أماكن أخرى غير الأمعاء الغليظة عند الأغنام السليمة، وهذا ما يتوافق مع (Songer, 1996). وقد كانت النتائج إيجابية لعزل جراثيم المطثية الحاطمة في جميع العينات من الأمعاء الدقيقة المأخوذة من الحالات المدروسة النافقة، وكان السؤال قبل البدء بالعمل في هذه الدراسة (كيف سيتم إثبات أن جراثيم المطثية الحاطمة المعزولة من أغنام الدراسة هي جراثيم متعايشة أم جراثيم مرضية، حيث أن هذه الجراثيم هي جزء من الفلورا المتعايشة بشكل طبيعي في الأمعاء الغليظة) وبعد البحث في مراجع علمية كثيرة منها (Simpson et al., 2017) و (Quinn et al., 2004) تبين أن وجود هذه الجراثيم في الأمعاء الدقيقة يدل على أن الجراثيم المتعايشة في الأمعاء الغليظة أصبحت ممرضة عندما توفرت البيئة الغنية للتكاثر (العوامل المهيئة) ما أدى إلى ارتفاع التعداد الجرثومي وارتفاع شدة فوعة المسبب الأمر الذي أدى إلى انتشار هذه الجراثيم باتجاه الأمعاء الدقيقة، الأمر الذي يعمل على إنتاج كميات كبيرة من الديدانات التي تسبب تخريباً نسيجياً كبيراً في بطانة الأمعاء والأوعية الدموية ومن ثم امتصاص الديدانات وتسربها إلى الدم عبر الأنسجة المتضررة ما يؤدي إلى تذيبن الدم المعوي وباستمرار تأثير ذلك الأذى الواقع على نسيج الأمعاء والأوعية الدموية يتم خروج قسم من جراثيم المطثية الحاطمة إلى مجرى الدم ويزداد ذلك بازدياد شدة الإصابة إلى أن تصل هذه الجراثيم إلى أعضاء الجسم عبر الدورة الدموية ما يفسر إيجابية نتيجة عزل جراثيم المطثية الحاطمة من الكبد والكلية في معظم الحالات النافقة، الأمر الذي يؤكد إيجابية الإصابة ويدل على شدة الإصابة وسيرها المرضي.

إلا أنه في دراسة (حمد، 2010) لم يتم تحديد منطقة معينة من الأمعاء التي تم أخذ العينات منها ولم يؤخذ بعين الاعتبار إن كان وجود هذه الجراثيم بشكلها الممرض أم بالشكل الطبيعي لها، كما أن الفحص الجرثومي للكبد والكلية وأعضاء أخرى المباشر بعد النفوق قد أظهر وجود نتائج سلبية لجميع العينات، وأنه قد وجد نتائج إيجابية لعينات للزرع الجرثومي من بعض تلك الأعضاء التي أخذت بعد النفوق بأكثر من 4-6 ساعات، إلا أن النتائج الصحيحة والحقيقية تكون من عينات أخذت عند النفوق مباشرة وتعبر عن نتائج مرضية بينما تهمل نتائج العزل الجرثومي من عينات أخذت بعد النفوق بـ 4-6 ساعات لأنها نتائج غير مرضية ناتجة عن تفسخ الجثة بعد الموت حيث تنتشر الجراثيم في الجثة بعد النفوق في أماكن لم تتواجد بها أثناء الحياة وبذلك فهي مؤشر غير مرضي وإنما هي مؤشر رمي.

من المحتمل أن يُعزى السبب الذي يجعل جراثيم المطثية الحاطمة جراثيم متعايشة في الأمعاء الغليظة في ذات الوقت التي من الممكن أن تصبح جراثيم ممرضة عند توفر الظروف والعوامل المهيئة إلى الطبيعة النسيجية لبنية الأمعاء الغليظة التشريحية التي تحتوي على عقيدات لمفاوية في الصفيحة المخصوصة لجدار الأمعاء تمتد على طول الطبقة تحت المخاطية، بينما توجد في الأمعاء الدقيقة العقيدات الليمفاوية (لطخ باير) في الجزء اللفائفي من الأمعاء الدقيقة، ومن جهة أخرى فإن

بنية الطبقة العضلية في الأمعاء الغليظة تتألف من ألياف طويلة وألياف دائرية لكنها تختلف عن الطبقة العضلية الموجودة في الأمعاء الدقيقة في أن طبقة الألياف تتألف من ثلاث حزم بالإضافة إلا أن جدار القولون يحتوي على شرائط عضلية (Bacha and Linda, 2012) الأمر الذي يعمل على دعم البنية النسيجية للأمعاء الغليظة ويشكل سماكة مقاومة لعمل الليفانات الناحر للخلايا.

من الممكن أن يُعزى السبب الذي يجعل جراثيم المطثية الحاطمة جراثيم متعايشة في الأمعاء الغليظة في ذات الوقت التي من الممكن أن تصبح جراثيم ممرضة عند توفر الظروف والعوامل المهيئة إلى بنية الأمعاء الغليظة التشريحية التي تحتوي على عقيدات لمفاوية في الصفيحة المخصصة لجدار الأمعاء تمتد على طول الطبقة تحت المخاطية، بينما توجد في الأمعاء الدقيقة العقيدات الليمفاوية (لطخ باير) في الجزء من اللفافي، ومن جهة أخرى فإن بنية الطبقة العضلية في الأمعاء الغليظة تتألف من ألياف طويلة وألياف دائرية لكنها تختلف عن الطبقة العضلية الموجودة في الأمعاء الدقيقة في أن طبقة الألياف تتألف من ثلاث حزم بالإضافة إلا أن جدار القولون يحتوي على شرائط عضلية (Bacha and Linda, 2012) الأمر الذي يعمل على دعم البنية النسيجية للأمعاء الغليظة ويشكل سماكة مقاومة لعمل الليفانات الناحر للخلايا.

من المحتمل أنه قد يحدث الموت المفاجئ نتيجة الصدمة Shock وهي على عدة أشكال وبعده آليات، معظم الأسباب التي تؤدي إلى الصدمة ممكن أن يسببها مرض تذيغن الدم المعوي، وهي تعبر عن قصور الدورة الدموية الطرفية وتتصف بتجمع الدم في الفُرش النهائية للدورة الدموية وقد تكون سبباً رئيسياً للنفوق، وتعني في علم الأمراض Pathological أن الدم غير كافٍ عند فتح جميع الفرش الشعرية الانتهازية وعدم كفاية الدم العائد إلى القلب Hypovolemic shock فينخفض جريان الدم العام وينخفض ضغط الدم وبالتالي عدم وصول الدم إلى الأعضاء الهامة في الجسم وأهمها الكلى حيث ينخفض ضغط الترشيح للكبيبات ويحصل توقف كامل لتشكيل البول ما يدعى بالرزام Anuria ما يؤدي إلى حدوث تلبون الدم Uremia، وبذلك نجد أنه إن لم تحدث الصدمة بقصور الدورة الطرفية فقد تحدث بتأثير نسبة اليوريا السامة المرتفعة على الدماغ، وقد يؤدي هبوط ضغط الدم فيزيولوجياً إلى رد فعل تضيق وعائي Vasoconstriction، فيتحرر الرينين Renin الذي يعمل في الكبد على تنشيط الأنجيوتنسن، الذي يرفع ضغط الدم ويحرر الألدستيرون Aldosterone من قشرة الكظر مسبباً احتباس الصوديوم والماء فيزيد حجم الدم الذي قد يكون مميتاً أحياناً نتيجة قصور في القلب Cardiogenic shock كما يؤدي التضيق الوعائي الشديد في علم الأمراض إلى الإقفار Ischemia التنكسي ونخر عشوائي في الكلية Septicimia السممية إلى جانب التخريب الشديد في بطانة الأوعية الدموية وكلاً من الليفانات والبطانة المخربة يعملان على تشكّل خثرات صغيرة منتشرة في الشعيرات الدموية والشرينات والأوردة الصغيرة وينجم عن ذلك التخثر داخل الوعائي المنتشر Disseminated

intravascular coagulation، نجد نتيجة لتأثير ذيفانات المطثية الحاطمة عدة آليات يمكن أن تسبب الصدمة وقد لاحظ (Gohari et al., 2022). تلك التغيرات.

يعزى وجود السوائل في تجاويف الجسم إلى عمل الذيفانات (Iota – Epsilon- Beta - Alpha -²Beta- الذيفان المعوي) المفرزة من جراثيم المطثية الحاطمة بالإضافة إلى الأنزيمات (Clostripain- Sialidase- Collagenase- Hyaluronidase- NetB- Tpel-) التي تؤثر في نفوذية الأوعية الدموية أو نخرها (UzaL et al., 2020) و (Finnie et al., 1999)، ما يؤدي إلى تسرب مصل الدم أو البلازما مع الألبومين وألياف الفيبرين وبروتينات الدم الأخرى إلى تجاويف الجسم التي تلعب دوراً هاماً في حركة السوائل من الدم إلى الأنسجة وبالعكس وذات أهمية كبيرة في المحافظة على توازن الضغط التناضحي Osmotic Pressure، وصولاً في التأذي إلى تسرب الكريات الحمراء إضافة للبروتينات في المنطقة المتضررة فيكون الرشيع نزف دموي وقد وجد ذلك جلياً في الحالات المدروسة حيث لوحظ وجود سوائل مصلية إلى فيبرينية أو دموية في تجويف الصدر Hydrothorax و/أو في تجويف البطن Ascites و/أو في كيس التامور Hydropericardium.

يمكن أن يفسر ملاحظة النخر المنتشر في الغشاء المخاطي في الأمعاء بشكل واسع لتأثير الذيفانات الجرثومية على الخلايا الظهارية المعوية، وهذا ما أشار إليه (Popoff, 1984)، وقد لوحظ الالتهاب المخاطي والالتهاب التقرحي حيث وجد تجمع كبير لسائل مدمم وخثرات فيبرينية ناتج عن تحطم الخلايا بفعل الذيفانات وهذا ما يتوافق مع ما وجدته (Quinn et al., 2004)، (UzaL et al., 2020) حيث يبدأ الأذى في الخلايا المبطنية للأمعاء ومن قمم الزغابات المعوية بالتحديد المتأثرة بشكل موضعي بالذيفانات المفرزة من الجراثيم الحاطمة، يرتبط الذيفان بشكل أساسي بأطراف الزغابات المعوية لكنه يتسبب بتدمير الزغابات بأكملها حيث تطلق الخلايا الحساسة للذيفان المتأذية عاملاً (سيرين يروتياز Serine protease) لنخر الخلايا الغير حساسة وبذلك يتم تدمير الخلايا المعوية المجاورة.

سجلت الأعراض الاكلينيكية الظاهرة على الأغنام المصابة بالتذيفن الدموي المعوي على شكل خمول وتعب وانخفاض في الشهية والمغص المفاجئ والرقود والاستلقاء على الأرض واللهات وهذا ما يتوافق مع الكثير من الباحثين منهم (Dadhich, Hayati and Tahamtan, 2020)، (et al., 2021)، ومن الممكن أن 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 جميع أنماط الحاطمة بتأثيره المباشر على الموصلات الخلوية والشحوم المفسفرة في الغشاء الخلوي وفي الخلايا المبطنية للأمعاء والأوعية الدموية والكريات الدموية الحمراء والبيضاء والخلايا العضلية والصفائح الدموية على وجه الخصوص وتشكيل مسام فيها مسبباً تفجى الخلية وتحللها بتأثيره الناصر والحال للدم وهذا ما أيده (Songer, 2006) كما يؤدي الخلل في الغشاء السيتوبلازمي إلى انخفاض سريع في مستويات البوتاسيوم السيتوبلازمي وتدفق أيونات الصوديوم والكلوريد مما يؤدي إلى نضوب في الطاقة الأدينوزين

ثلاثي الفوسفات ATP ونخر في الخلايا البطانية، كما يعمل الذيفان ألفا (CPA) على تراس الصفائح الدموية الأمر الذي يعيق جريان الدم ويسبب نقص التروية ونقص الأكسجة الخلوية، وتشكيل خثرات أو صمات في الأوعية الدموية، وقد تؤدي تأثيراته المختلفة بالاشتراك مع تأثيرات ذيفانات أخرى للحاطمة إلى الصدمة والموت بدون أي عرض سابق وهذا ما لاحظته (Timoney et al., 1988).

قد وجد في الفحص العياني والفحص المجهرى حالات من النزف Hemorrhage في ملاحظة وجود لكريات الدم الحمراء خارج الأوعية الدموية المخربة على شكل نزف حبري Petechial أو كدمي Ecchymosis على القلب وكذلك في الكبد وأنسجة الكلية ما يتوافق مع مشاهدات (Kalender et al., 2023) ومن الممكن أن يعزى ذلك إلى فعل الأذى المطبق على أنسجة الجسم الناتج عن تأثير الذيفانات التي تعمل على تخريب الخلايا المبطنة للأوعية الدموية وأنسجة الجسم وخلايا العضلة القلبية ما يسبب تسرب الدم عبر البطانة المتضررة للأوعية الدموية حسب شدة الإصابة وسير المرض ما يتوافق مع (Songer, 2006)، النزف شائع الحدوث تحت محفظة الكلية في حالات تجرثم الدم Bacteremia أو تسمم الدم Septicemia حيث أنه غالباً ما يرافق السمدية المعوية المطثية النزف المحفظي وتم ملاحظته في أغلب الحالات المدروسة،

كما لاحظ الباحث (UzaL et al., 2020) النزف المحفظي والنزف على شغاف القلب وفي الأغشية المخاطية.

وجد من خلال نتائج الفحص النسيجي المجهرى نخر في ظهارة الأمعاء ونخر في الزغابات المعوية في جميع الحالات المدروسة وهذا ما يؤكد نتائج الفحص الجرثومي والفحص التشريحي والأعراض الإكلينيكية وهذا ما يتوافق مع (UzaL et al., 2020) حيث تتسبب ذيفانات المطثية الحاطمة بتخريب الخلايا المبطنة للأمعاء كما تسبب نخر في الصفحة المخصوصة وقد يصل الضرر إلى طبقات نسيج الأمعاء كافة (Finnie et al., 1999).

حيث لوحظ أيضاً احتقان في الأوعية الدموية وتنكس فجوي في الخلايا المعوية وتضخم الغدد الخبيثة، كما لوحظ الضرر الأكبر في الجزء العلوي من الأمعاء بالآفات النخرية وقد يعزى ذلك إلى وجود مفرزات العصارة الصفراوية والتي تعمل على تحريض نمو جراثيم المطثية الحاطمة وتبوغها.

يفسر الشحوب في لون الكبد المسجل في أغلب الحالات المدروسة وتضخم حجمه وظهوره بمظهر باهت مصفر على التنكس الدهني بما وجد من تأذي الخلايا، كما لوحظ وجود بؤر تنكسية وبؤر نخرية ما ينجم عن ذلك تراكم الغليسيريدات الثلاثية والدهون والجليكوجين بسبب تأذي الخلايا الكبدية التي تقوم بعمليات الاستقلاب ومعادلة السموم ما ينجم عن ذلك التنكس الدهني في الكبد الذي يعطي عيانياً اللون المصفر للكبد والقوام الهش والحواف المدورة وهذا وجده أيضاً (Brown et al., 2007).

وجد عند فحص مقاطع نسيج الكلية حالات مختلفة من الكلاء Nephrosis وذلك عند ملاحظة آفات تنكسية مترافقة مع وجود البروتينات الحاملة للأوكسجين مثل خضاب الدم وهي من السموم الداخلية، فقد لوحظ لدى الفحص المجهرى وجود لقوالب من خضاب دم تسد لمعة النبيبات الكلوية الأمر الذي له دور مشارك للذيفانات كما أكد (Dorca-Arévalo and Gõmes de Aranda, 2022) على تأثير تلك الذيفانات في نخر الخلايا المبطنة للنبيبات الكلوية كما أنه من الممكن أن يرتبط حدوث نخر حاد في النبيبات الكلوية وهذا ما لاحظته (Manday et al., 2020)، (Kalender et al., 2023) أيضاً بنقص الأكسجة الناتج عن انحلال الدم داخل الأوعية الدموية وبالتالي فقر الدم الناتج عنه مع تسلل عدد كبير من العدلات ويفسر وجود خضاب الدم في لمعة النبيبات على تحلل الدم وذلك بفعل ذيفانات المطثية الحاطمة وترسب خضاب الدم المتسرب من الكريات الحمراء المتهتكة وتوضعه على شكل قوالب هيموغلوبينية في لمعة النبيبات الكلوية الذي يشكل البيلة الخضابية والتي هي من أعراض ومميزات التذيفن الدموي المعوي وبشكل خاص من النمط A وقد وجد الباحث فرانسيسكو أوزال في دراسة عن النمط A أن جميع الحالات في الأغنام كانت تعاني من بيلة خضابية (Uzal et al., 2020)، كما وجدت حبيبات هيموغلوبينية في الخلايا المبطنة للنبيبات ويفسر ذلك في محاولة الخلايا النبيبية لاسترجاع السوائل إلى الدم فتمتص مع الراشح التي تظهر باللون البرتقالي عادة بصبغة H&E.

تعمل ذيفانات جراثيم المطثية الحاطمة على نخر الخلايا المبطنة للأنسجة بشكل عام وبشكل خاص يعمل الذيفان إيسيلون على نخر الخلايا المبطنة للأوعية الدموية (Dorca-Arévalo and Gõmes de Aranda, 2022) وعند النظر إلى الكبيبات الكلوية تحت المجهر وجد نخر كبيبي مختلف الشدة، والتي بدورها تقوم بترشيح السوائل من الدم بدون بروتينات مصل الدم وعند وجود تهتك أو أي ضرر في بنيتها الدقيقة يحدث أن يتم نزوح للبروتينات من الدم وترسبها في النبيبات الكلوية التي تعمل على إعادة امتصاص السوائل الزائدة من الرشيح الكبيبي، وبازدياد شدة الأذى المطبق على الكبيبات الكلوية والنفرونات بشكل عام تزداد نسبة البروتينات المتسربة من الكبيبات الكلوية فقد لوحظ توضع لمواد بروتينية حامضية الصبغة في فراغ بومان لبعض الحالات وعلى الأغشية القاعدية لبطانة النبيبات الكلوية وعلى الأنسجة الضامة في الكلية في حالات أخرى.

يفسر حدوث ليونة في قوام الكلية التي كانت عجينية رخوة في ملمسها ومقطعها (في حالتين من حيوانات الدراسة) بتأثير الذيفانات والذيفان إيسيلون (ETX) على وجه الخصوص على بروتينات الخلايا الكلوية والفوسفوليبيدات والكولاجين الذي يعمل على تحللها ما يؤدي إلى تليين ورخاوة في أنسجة الكلية، كما تتضرر مكونات الخلايا والأنسجة بفعل الأنزيمات التي تفرزها الجراثيم الحاطمة وتأثيرها المحلل على الجيلاتين والكازئين والهيموغلوبين، وتشير تلك التأثيرات مجتمعة إلى أن نمط الإصابة هو من النمط D الذي يتميز بإفراز الذيفان إيسيلون المسبب للكلية الرخوة، يتوافق ذلك مع ما وجدته كل من الباحثين (Quinn et al., 2004)، (Brown et al., 2007)، (Uzal et al., 2020).

لوحظ وجود الخلايا الالتهابية وذلك في جميع المقاطع النسيجية للحالات المدروسة من الأمعاء والكبد والكلية، وكانت الخلايا العدلة هي الخلايا السائدة الموجودة في النسيج المتنكس أو المنتخر وبدل وجودها بشكل سائد على أن الالتهاب في الطور الحاد للمرض، وهذا ما يتوافق مع *et al., (UzaL 2020)*، وقد ترافقت مع وجود بعض الحمضات في بعض الحالات وهي الخلايا المستجيبة غالباً كرد فعل تحسسي ضد السموم والذيفانات، وهذا ما يتوافق مع حالة وجود الذيفانات المفترزة من جراثيم المطثية الحاطمة، كما وجدت بعض الخلايا المصورية ومن خصائص هذه الخلايا أنها تنتج الأضداد كما رافقت الخلايا العدلة بعض البلاء في بعض الحالات وبعض اللمفاويات في بعض الحالات الأخرى وهذا ما يتوافق مع ما وجدته *(Kalender et al., 2023)* و *(Manday et al., 2020)*.

يمكن تفسير الحالة التي سجل فيها وجود كثيف للعدلات إلى جانب وجود للخلايا البلعمية والحمضات واللمفاويات والمصورية على أن سير المرض فيها في الطور تحت حاد وهي حالات قليلة جداً.

تمت دراسة **الخلايا البدينة** في المقاطع النسيجية التي أخذت من الأغنام الشاهد ومن الأغنام الناقصة وقد كان الهدف من دراستها هو العمل على تطبيق صبغة نوعية لإظهار الخلايا البدينة دون غيرها من الخلايا وذلك بناءً على خصائصها الكيميائية والنسيجية والكيمياءحيوية حيث ظهرت باللون الأرجواني الوردى عند تطبيق صبغة أزرق التلوين ما يتوافق مع ما أشار إليه *(Michaloadi 1999)* and *Papadopoulos*، حيث ظهرت حدود الخلايا باللون الأزرق في الساحة المجهرية كما ظهرت الحبيبات الإفرازية للخلايا البدينة باللون الأرجواني الوردى إذ أن قابلية الصبغة لأزرق التلوين غالباً ما تدل على حبيبات البروتوغليكان الموجودة في هيولى الخلية أو خارج الخلية بالقرب منها في حال إطلاقها من قبل الخلية البدينة فقد شوهد في بعض المقاطع الخلية متضمنة للحبيبات داخلها وفي البعض الآخر كانت مطلقة خارج الخلية وبالقرب منها تظهر باللون الوردى في الساحة المجهرية بالإضافة إلى أن الخلية لازالت متضمنة لقسم منها الذي ظهر باللون البنفسجي الوردى أيضاً وهذا ما أشار إليه *(Wastling et al., 1998)*.

وجودت الخلايا البدينة في النسيج الضام بين الغدد المعوية (لابريكان) في الأمعاء وغالباً ما وجدت في الكبد على جذر الجيبانات الكبدية وفي الكلية بين النبيبات الكلوية وغالباً بالقرب من وعاء دموي، وقد لوحظ بأنها وجدت بأعداد أكبر في الكبد على جذر أشباه الجيوب الكبدية أو حولها وقد بلغت في إحدى عينات الكبد 70 خلية في المقطع الواحد، تلى عينات الكبد من حيث العدد العينات من الأمعاء وقد بلغ أقصى عدد لها 34 خلية في المقطع النسيجي الواحد، ثم العينات من الكلية فقد تراوحت أعدادها بين 3-4 وأقصاها 22 خلية في المقطع الواحد، في حال كانت أعداد الخلايا البدينة في المقاطع النسيجية من أغنام الشاهد 0-2 في كامل المقطع، وقد يعزى وجودها بشكل أكبر في الكبد كونه الأكثر تأثراً بحالة الجهاز الهضمي حيث وجدت على جذر الجيبانات غالباً، وتكون أفضلية وجودها طبيعياً في الحدود الفاصلة بين الجسم والوسط الخارجي كالجلد ومخاطية الرتتين والأنبوب الهضمي *(Lee et al., 2012)* حيث غالباً ما وجدت في العينات من

الأمعاء ما يفسّر أعدادها في المقاطع من الأمعاء حيث أنّها كانت أقل من أعدادها في المقاطع من الكبد وأكثر من أعدادها في المقاطع من الكلية.

وجد أنّ أعداد الخلايا البدينة قد تفاوتت من حالة إلى حالة ومن عضو إلى عضو آخر للعينات من الأغنام النافقة المدروسة وقد يُعزى ذلك وهذا ما وجدته أيضاً الباحثان (Michaloadi and Papadopoulos, 1999)، حيث تتفاوت أعدادها بين الأنواع من الحيوانات المختلفة ولدى الإنسان كما أنها تتفاوت بين الأفراد من نفس النوع، بشكل عام وجدت أعداد الخلايا البدينة مرتفعة في واحد على الأقل من الأعضاء المدروسة لكل حالة كالكلب مثلاً، أو وجدت بأعداد مرتفعة في عضوين كالكلب والأمعاء مثلاً وفي حالات أخرى وجدت أعدادها مرتفعة في الأعضاء الثلاث المدروسة (كبد- أمعاء- كلية).

كما أنه من الممكن أن تلعب عوامل أخرى مهينة دوراً هاماً في ذلك كالحالة الفيزيولوجية للأفراد والحالة المناعية وسير المرض لكل منها.

يعمل الهيستامين الذي تطلقه الخلايا البدينة عبر إزالة التحسس على توسيع الوريدات ما بعد الشعيرات الدموية وينشط بطانة الأوعية الدموية ويزيد نفوذية الأوعية الدموية ما يؤدي إلى التسبب في وذمة موضعية (Moon et al., 2014) وبالتالي من الممكن أن تعمل الخلايا البدينة كعامل مساعد لحدوث الوذمة في هذا المرض.

وجد أثناء الفحص الجهري للعينات التي تمت صباغتها بأزرق التلودين خلايا مغايرة للخلايا البدينة لكنها أبدت قابليتها لصبغة أزرق التلودين وكانت محتوية على حبيبات إفرازية تلوّنت باللون الأرجواني الوردى إلا أن تلك الخلايا كانت أصغر حجماً عن البدينة ونواتها مختلفة عن نواة البدينة ولدى إجراء البحث لإيجاد توضيح لهذا الأمر فقد وجد أنّه هناك تشابه ما بين الخلايا البدينة والخلايا القاعدية المحببة إلى حد كبير إذ أنّ كليهما تملكان حبيبات إفرازية من الهيستامين والهيبارين لكن الاختلاف بينهما بالنواة إذ تكون نواة الخلية القاعدية مفصصة بينما نواة الخلية البدينة مدوّرة (Franco et al., 2010) كما في الشكل (1-5)، تحيط المنطقة FC من الغلوبولين المناعي IgE بالخلايا البدينة والخلايا القاعدية وعندما ترتبط هذه الغلوبولينات بموّلد الضد تحرّض الخلايا على إطلاق الهيستامين والوسائط الالتهابية الأخرى، أدّت هذه التشابهات إلى الاعتقاد بأنّ الخلايا البدينة خلايا قاعدية تستقر في النسيج، بالإضافة إلى ذلك فقد وجد سلف مشترك بين كلتا الخليتين في نخاع العظم يعبر عن جزيء CD₃₄.



الشكل. (1-5): تلوّن خلية قاعدية (أزرق) بالقرب من خلية بدنية (أحمر) بصبغة أزرق التلودين حيث تبدو الخلية القاعدية صغيرة وبنواة مفصصة.

لكن اتّضح أنّ الخليّتين تتطوّران من سبل اصطناع دمويّة مختلفة وبالتالي لا يمكن اعتبارها خليّة واحدة (Franco *et al.*, 2010) حيث تغادر الخلايا القاعدية نخاع العظم بعد نضجها بينما تجول الخلايا البدنية بشكلها الغير ناضج ولا تتضج حتى تستقر في موقعها النسيجي، من المحتمل أن موقع الخلايا البدنية له دور في تحديد خصائصها الدقيقة، حيث أنّه قد أُجري أول عمليّة تمايز ونمو خلوي للخلايا البدنية ضمن الزّجاج في المختبر بدءاً من خلايا جذعيّة فأريّة ضمن وسط بشروط محددة مشتق من الخلايا الطّحاليّة المحرّضة بكونكافالين A، اكتشف لاحقاً أنّ الإنترلوكين 3 الذي تطلقه الخلايا التائيّة كان واحد من المكوّنات الموجودة في الوسط المحضّر ضمن شروط نمو وتمايز الخلايا البدنية.

الاستنتاجات

Conclusions

6- الاستنتاجات: Conclusions

خلصت هذه الدراسة إلى ما يلي:

1. يُظهر مرض التذيفن الدموي المعوي أعراضاً إكلينيكية قبل النفوق، وقد تم عزل جراثيم المطثية الحاطمة من العينات التي أخذت منها وبالتالي يمكن الاعتماد على الأعراض الحقلية والاشتباه بشكل كبير بهذا المرض من خلال هذه الأعراض ويفيد ذلك في اتخاذ إجراءات طبية تخفف من نسبة النفوق ريثما تتم الفحوص المخبرية.
2. كانت الصفات التشريحية المرضية العيانية والنسجية واضحة وتؤكد الإصابة وقد لوحظت أنها كانت مشتركة في أغلب الحالات والتي تعتبر كمؤشر لتشخيص الإصابة في القطيع ومدى انتشارها.
3. أظهرت ردود الفعل الالتهابية عن وجود الخلايا المناعية إلى جانب الإصابة النسيجية في جميع العينات المأخوذة من الحالات المدروسة مع وجود كثيف للخلايا العدلة في أغلب الحالات ما يشير إلى سير المرض الحاد أو فوق الحاد.
4. وجدت الخلايا البدينة بأعداد متزايدة وبحالة نشطة والتي ظهرت كخلايا بحدود زرقاء مشتملة على حبيبات إفرازية وردية اللون في المقاطع النسيجية من الأمعاء والكبد والكلية المأخوذة من الأغنام المشتبهة.
5. من خلال العمل في هذه الدراسة تأكدت إصابة الحالات المدروسة من الأغنام النافقة بالتذيفن الدموي المعوي من مراحل التشخيص المختلفة والمتعددة ابتداءً بالأعراض الإكلينيكية والتشخيص الميكروبيولوجي والصفات التشريحية العيانية والصفات التشريحية المرضية المجهرية ومن ثم مشاهدات ردود الفعل الالتهابية.

التوصيات والمقترحات
Recommendations & Suggestions

7- التوصيات والمقترحات: Recommendations and Suggestions

1. تحسين رعاية الأغنام الصحية وتجنب إعطاء الأغنام العلائق الخشنة والقاسية والمجمدة لتجنب حدوث أذى أو تضرر للأغشية المخاطية للأمعاء والعمل على المحافظة على صحة الأغشية المخاطية والظهارة المبطنية المعوية بإضافة المتممات الغذائية مثل فيتامينات A, C, D₃, E, K وللحد من النزف.
2. من الجيد إجراء دراسة مسحية شاملة لعموم الأغنام النافقة والمشتبه بإصابتها للقطعان الموجودة في مراكز ومحطات الهيئة العامة للبحوث العلمية الزراعية لتحديد الذراري المحلية المسببة للمرض والعمل على تطوير لقاحات خاصة بتلك الذراري المعزولة.
3. تحديد النمط المصلي المسبب للإصابة باستخدام تقنية تفاعل البوليمراز المتسلسل المتعدد PCR وربط كل نوع من الذايفانات الناتجة مع التغيرات التشريحية المرضية العيانية والمجهريّة.
4. اعتماد طريقة تشخيصية سريعة بواسطة كيتات سهلة الاستخدام للتشخيص المباشر لنوع النمط المصلي وذلك بعد ربط نوع الذايفان الناتج مع التغيرات التشريحية العيانية والمجهريّة.
5. بسبب طبيعة المرض التي تتصف بالشكل الحاد وجد أن المعالجات الدوائية قليلاً ما تكون ناجعة لذا ينصح باستعمال البدائل التي تعزز الصحة العامة وصحة القناة الهضمية والوقاية من حدوث الإصابة بهذا المرض وبعيداً عن الاستخدام الجائر للصّادات الحيويّة وبشكل خاص عندما تكون الفائدة من استخدامها منخفضة أو معدومة ومن هذه البدائل ما يضاف إلى العلف مثل البروبيوتيك والبريبايوتكس والأحماض الدهنيّة قصيرة السلسلة والمستخلصات النباتيّة والزيوت الأساسيّة حيث تعتمد هذه الإضافات على الاستجابة المناعيّة وتوازن الوسط الغذائي ورفع مقاومة المضيف والحد من فوعة مسببات الأمراض كما يجب تطبيق تدابير الأمن البيولوجي واستراتيجيات الوقاية والعلاج والتحصين للقطعان لحمايتها من هذا المسبب وغيره من المسببات المرضية الأخرى.



المراجع

References

8- المراجع: References

المراجع العربية:

- 1- المكتب المركزي للإحصاء. (2023). فصل السكّان، الكتاب الإحصائي السنوي، المجموعة الإحصائية لعام 2022، رئاسة مجلس الوزراء، دمشق، سورية.
- 2- وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي (2023). قسم الإحصاء، مديرية الإحصاء والتخطيط، وزارة الزراعة والإصلاح الزراعي، دمشق، سورية.
- 3- حمد، محمد علي. (2010). دراسة جراثومية لأخمّاج المطثية الحاطمة عند الأغنام في سورية. رسالة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة حماة، (167 صفحة).
- 4- لقمس، عمر عبد العزيز. (2018). دراسة التغيّرات المرضيّة النّاجمة عن الإصابة بالأميريّة نيكاتريكس والمطثية الحاطمة عند أمهات اللحم. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة حماة، (80 صفحة).

English References:

1. Aiello, S.E.; and Mays, A., (2000). "Enterotoxemias" In The Merck Veterinary Manual, 8th ed. Whitehouse Station, NJ: Merck and Co. Pp; 445-447.
2. Aitken, I.D. (2007). Diseases of Sheep, 4th ed. Blackwell Publishing Oxford .UK. pp; 158-160.
3. Amimoto, K.; Noro, T.; Oishi, E.; and MiShimizu, M. (2007). A novel toxin homologous to large clostridial cytotoxins found in culture supernatant of *Clostridium perfringens* type C. Microbiology 153: 1198-1206.
4. Bacha, W. J.; and Linda M.B. (2012). Color Atlas of Veterinary Histology. 3rd ed., WILEY -BLACKWELL, (358) Pp.
5. Barth, H.; Aktories, K.; Popoff, M.R.; and Stiles, B.G. (2004). Binary bacterial toxins: biochemistry, biology, and applications of common *Clostridium* and *Bacillus* proteins. Microbiol. Mol. Biol. Rev. 68: 373-402.
6. Bath, G.F.; van Wyk, J.A.; and Petty, K.P. (2005). Control measures for some important and unusual goat diseases in South Africa Small Ruminant Research. 60: 127-140.
7. Brown, C.; Baker, D.C.; and Baker, I.K. (2007) Alimentary System in Jubb, Kennedy and Palmer's: Pathology of domestic animals. 5th Ed. Elsevier Saunders, Philadelphia
8. Buxton, D.; MacLeod, N.S.M.; and Nicolson, T.B. (1981). Focal symmetrical encephalomalacia in young cattle, caused by *Clostridium welchii*. Vet.Rec.108: 459.
9. Cano, R.J.; Tiefenbrunner, F.; Ubaldi, M.; Del Cueto, C.; Luciani, S.; Cox, T.; Orland, P.; Kunzel, K.H.; and Rollo, F. (2000). Sequence analysis of bacterial DNA in the colon and stomach of the Tyrolean Iceman. Am. J. Phys. Anthropol., 113: 297-309.
10. Chai, T.; Wang, L.; Wang, H.; Duan, H.; Müller, W.; and Zucker, B. A. (2007). Isolation and characterization of *Clostridium perfringens* from apparently healthy animals of the Shandong province of China. Dtsch Tierarztl Wochenschr, 114(10): 394-396.
11. Chandran D. S. S. Naidu, P.; Sugumar, G. S.; Rani, S.P.; Vijayan, D.; Mathur, L. C.; Garg, V. A.; and Srinivasan. (2010). Development of a Recombinant Epsilon Toxoid Vaccine against Enterotoxemia and Its Use as a Combination Vaccine with Live Attenuated Sheep Pox Virus against Enterotoxemia and Sheep Pox. <https://doi.org/10.1128/CVI.00013-10>
12. Collins, M.D.; Lawson, P.A.; Willems, A.; Cordoba, J.J.; Fernandez-Garayzabal, J.; Garcia, P.; Cai, J.; Hippe, H.; and Farrow, J.A. (1994). The phylogeny of the genus *Clostridium* : proposal of five new genera and eleven new species combinations. International Journal of Systematic Bacteriology 44, 812-26.

13. Cooper, K.K.; and Songer, J.G. (2009). Necrotic enteritis in chickens: A paradigm of enteric infection by *Clostridium perfringens* type A. *Anaerobe*, 15: 55-60.
14. Crookham, J.; and Dapson, R.; Hazardous Chemicals in the Histopathology Laboratory, 2nd Ed, '991, Anatech.
15. Da Silva, E. Z.; Jamur, M. C.; and Oliver, C. (2014). "Mast cell function: a new vision of an old cell". *J. Histochem. Cytochem.* 738-698: 10. DOI:10.1369/0022155414545334. PMC:4230976. PMID:25062998. Davis, R., Oakley, R.G., Free, M., Miller, C., and Rivera, R., (1980). Proflaxis de la enteritis necrótica con la virginiamicina, P. 117-119.
16. Dadhich, H.; Mathur, M.; Rani, S.; Boyal, P.K.; and MehAbstract, M. (2021). Pathological study of kidneys in *Clostridium perfringens* type D enterotoxemia in sheep Renu. In *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2021; 9(2): 1395-1397
17. Dafwang, I.I.; Ricke, S.C.; Schaefer, D.M.; Brotz, P.G.; Sunde, M.L.; and Pringle, D.J. (1987). Evaluation of some commercial media for the cultivation and enumeration of *Clostridium perfringens* from the chick intestine. *Poult. Sci.* 66: 652-658.
18. De Bosschere, H.; and Deloose, S. (2009). Mast cell leukemia in dog. *Vlaams Diergeeskundig Tijdschrift*. Jan 2009, 78(1), 49-52.
19. Debeljak, Z.; Plavise, Z.; and Zarkovic, A. (1991). Vaccination Schedules to Raise Antibody Concentrations Against ϵ -Toxin of *Clostridium perfringens* in Ewes and Their Triplet Lambs. *J. Amin. Sci.* 75: 2328-2334.
20. Dhillon, A.S.; Roy, P.; Lauerman, L.; Schaberg, D.; Weber, S.; and Bandli, D. (2004). High mortality in egg layers as a result of necrotic enteritis. *Avian Dis.* 48:675–680.
21. Dohoo, I.R., Curtis, R.A., and Finale, G.G., (1985). A Survey of Sheep Diseases in Canada. *Can J Comp Med*; 49: 239-247.
22. Dorca-Arévalo, J.I.; and Gómez de Aranda, J. B. (2022). New Mutants of Epsilon Toxin from *Clostridium perfringens* with an Altered Receptor-Binding Site and Cell-Type Specificity. <https://www.mdpi.com/journal/toxins> 2022,14 ,288.
23. Duchesne, C.; Granum, P.E.; Menozzi, M.G.; Peck, M.; Pelkonen, S.; Popoff, M.; Stackebrandt, E.; and Titball, R. (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.
24. Ehrlich, P. (1878). "Beiträge zur theorie und Praxis der Histologischen Färbung". Leipzig University.
25. EL-Idrissi, A. H.; and Ward, G. E., (1992). Evaluation of enzymelinked immunosorbent assay for diagnosis of *Clostridium perfringens* enterotoxemias. *Vet. Microbiol.* 31: 89-99.
26. Finnie, J. W.; Navarro, M. A.; and Uzal, F. A. (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>.
27. Finnie, J.W.; Blumbergs, P.C.; and Manavis, J. (1999). Neuronal damage produced in rat brains by *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin. *J Comp Pathol.* 120(4):415-20.
28. Fleming, S. (1985). Enterotoxemia in neonatal calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract.* 1: 509-514.
29. Franco, C. B.; Chen, C. C.; Drukker, M.; Weissman, I. L.; and Galli, S. J. (2010). [*"Distinguishing mast cell and granulocyte differentiation at the single-cell level"*](#). *Cell Stem Cell.* 8-361 :4.

. [DOI:10.1016/j.stem.2010.02.013](https://doi.org/10.1016/j.stem.2010.02.013). [PMC:2852254](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/2852254/). [PMID:20362540](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20362540/).

30. Garcia, J.P.; Adams, V.; Beingesser, J.; Hughes, M.L.; Poon, R.; Lyras, D.; Hill, A.; McClane, B.A.; Rood, J.I.; and Uzal, F.A. (2013). Epsilon Toxin Is Essential for the Virulence of *Clostridium perfringens* Type D Infection in Sheep, Goats, and Mice. RCJF. 2017.
31. Giannitti, F.; Garcia, J.I.; Rood, J.I.; Adams, V.; Armendano, J.I.; Beingesser, J.; and Uzal, F.A. (2021). Cardiopulmonary Lesions in Sheep Produced by Experimental Acute *Clostridium perfringens* Type D Enterotoxemia. In Veterinary Pathology: 2020, Vol. 58(1) 103-113, 2021.
32. Gohari, I. M.; Navarro, M.A.; Li, J.; Shrestha, A.; Uzal, F.A.; and McClane, B.A. (2021) Pathogenicity and virulence of *Clostridium perfringens*. Virulence. 2021 12; 12(1):723-753. PMID: 33843463; PMCID: [PMC8043184](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33843463/).
33. Gohari, I.M.; Li, J.; Rood, J.I.; and McClane, B.A. (2022). Reevaluation of whether a Functional Agr-like Quorum-Sensing System Is Necessary for Production of Wild-Type Levels of Epsilon-Toxin by *Clostridium perfringens* Type D Strains. (https://doi.org/10.1128/mBio.00275_11).
34. Gökçe, H.I.; Genç, O.; Sözen, M.; and Gökçe, G. (2007): Determination of *Clostridium* Perfringens Toxin-Types in Sheep with Suspected Enterotoxemia in Kars Province, Turkey. Turk J Vet Anim Sci. 31(5): 355-360.
35. Greco, G.; Madio, A.; Buonavoglia, D.; Totaro, M.; Corrente, M.; Martella, V.; and Buonavoglia, C. (2005). *Clostridium perfringens* toxin-types in lambs and kids affected with gastroenteric pathologies in Italy. Vet. J., 170: 346-350.
36. Hassanein, K. M. A.; Sayed M. M.; and Hassan A. M. (2017). Pathological and biochemical studies on enterotoxemia in sheep. In Comp Clin Pathol (2017) 26:513–518.
37. Hayati, M.; and Tahamtan, Y. (2020). Short Communication Toxin typing of *Clostridium perfringens* Associated with Enterotoxaemia in Sheep in Fars Province. Archives of Razi Institute, Vol. 76, No. 3 (2021) 691-697.
38. Hussein, H.A.; El-Amir, Y.O.; Amer, A.A.; and Abd Elghaffar, S.K. (2013). Bacillary hemoglobinuria in dairy cows: clinical, hematological, biochemical, and pathological alterations. Comp Clin Pathol 22:1137–1143.
39. Johansson, A. (2006). *Clostridium perfringens* the causal agent of necrotic enteritis in poultry Doctor's dissertation. ISSN 1652-6880, ISBN 91-576-7083-8.
40. Jost, B.H.; Billington, S.J.; Trinh, H.T.; Bueschel, D.M.; and Songer, J.G. (2005). Atypical cpb2 genes, encoding beta2-toxin in *Clostridium perfringens* isolates of nonporcine origin. Infection and Immunity 73, 652-62. McClane, B.A., 2001. The complex interactions between *Clostridium perfringens* enterotoxin and epithelial tight junctions. Toxicon 39, 1781-91.
41. Jubb, K.V.F.; Kennedy, P.C.; and Palmer, N. (1993). Pathology of domestic animals, vol. 2, 4th ed. Academic Press, London. Pp; 314-315.
42. Kalender, H.; Ongor, H.; Timurkaan, N.; Karagülle, B.; Karabulut, B.; and Lincili, C.A. (2023). Detection and molecular characterization of *Clostridium perfringens*, *Paenibacillus sordellii* and *Clostridium septicum* from lambs and goat kids with hemorrhagic abomasitis in Turkey. (<https://arxiv.org/abs/2022.16>). (2022/16).
43. Kiu, R.; Price, C.A.; Bedwell, H.; Dreger, S.A.; Fowler, W.J.; Cornwell, E.; Pickard, D.; Belteki, G.; Malsom, J.; Phillips, S.; Young, G.R.; Schofield, Z.; Alcon-Giner, C.;

- Berrington, G.E.; Stewart, C.J.; Dougan, G.; Clarke, P.; Douce, G.; Robinson, C.D.; Kroll, J.S.; and Hall, L.J. (2023). Particular genomic and virulence traits associated with preterm infant-derived toxigenic *Clostridium perfringens* strains. <https://doi.org/10.1038/s41564-023-01385-z>
44. Koneman, E. W.; Allen, S. D.; Dowell, V. R.; Janda, W.M.; Sommers, H. M.; and Winn, W. C. (1988). Color Atlas of Diagnostic Microbiology. 3rd ed., Lippincott Company.
 45. Kubo, M.; and Watase, H. (1985). Electron microscopy of *Clostridium perfringens* in the intestine of neonatal pigs with necrotic enteritis. Jpn. J. Vet.Sci. 47: 497-501.
 46. Lee, K.W.; and Lillehoj, H.S. (2021). Role of *Clostridium perfringens* Necrotic Enteritis B-like Toxin in Disease Pathogenesis. (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).
 47. Leite-Browning, M. L. (2008). Enterotoxemia (Overeating Disease) in Sheep and Goats. The Alabama Cooperative Extension System (Alabama AandM University and Auburn University).
 48. Luna, L.G. (1968). Manual of histological staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. 3rd ed. The Blakiston Division, McGraw-Hill Book Company, New York. 258p
 49. Mahmoud, B.S. (1991). Isolation and Identification of Clostridia among apparently healthy slaughtered Sheep and Goats. M. V. Sc. Thesis; Facul. Vet. Med. Cairo Univ. Egypt. Pp; 12-13.
 50. Manday, J.S.; Bentall, H.; Aberdein, D.; Navarro, M.; Uzal, F.A.; and Brown, S. (2020). Death of a neonatal lamb due to *Clostridium perfringens* type B in New Zealand. N Z Vet J. 2020 Jul; 68(4):242-246 PMID: 31852382.
 51. Malone, F. (2004). Clostridial Diseases of Cattle and sheep. Text of a paper presented at the annual meeting of the Association of Veterinary Surgeons Practising in Northern Ireland, Enniskillen.
 52. Manavis, J.; Blumbergs, P.; Jerrett, I.; Hanshaw, D.; Uzal, F.A.; and Finnie, J. (2022). Heterogeneous immunoreactivity of axonal spheroids in focal symmetrical encephalomalacia produced by *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin in sheep. Vet Pathol. 2022 03; 59(2):328-332. PMID: 34872408.0
 53. Mander, K.A.; Uzal, F.A.; Williams, R.; and Finnie, J.W. (2020). *Clostridium perfringens* type D epsilon toxin produces a rapid and dose-dependent cytotoxic effect on cerebral microvascular endothelial cells in vitro. In Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 2020, Vol. 32(2) 277–281.
 54. McClane, B.A. (2001). The complex interactions between *Clostridium perfringens* enterotoxin and epithelial tight junctions. Toxicon 39, 1781-91.
 55. McClane, B.A.; Lyster, D.M.; Moncrief, J.S.; and Wilkins, T.D. (2000). Enterotoxic clostridia: *Clostridium perfringens* type A and *Clostridium difficile*, p. 551-562. In V. A. Fischetti, R. P. Novick, F. J. J., A. D. Portnoy, and J. I. Rood (ed), Gram-positive pathogens. ASM Press, Washington, D. C.
 56. McDonel, J.L. (1986). Toxins of *Clostridium perfringens* types A, B, C, D, and E, p. 477-517. In F. Dorner and J. Drwes (ed.), Pharmacology of bacterial toxins. Pergamon Press, Oxford.
 57. McGinley, S. (1998). New ways to type a deadly bacteria. Online [http:// ag. arizona. edu/ pubs/general/ resrpt1998/ Clostridium . Htm1](http://ag.arizona.edu/pubs/general/resrpt1998/Clostridium_.htm1).

58. Michaloudi, H.C.; and Papadopoulos, G.C. (1999). Mast cells in the sheep, hedgehog and rat forebrain. In *Veterinary School, Aristotle University of Thessaloniki, 54006 Thessaloniki, Greece.* (1999)
59. Mohiuddin, M.; Iqbal, Z.; Siddique, A.; Liao, S.; Salamat, M.KF.; Qi, N.; Mohiud Din, A.; and Sun, M. (2020). Feces of Sheep (*Ovis aries*) and Goats (*Capra hircus*) in Punjab, Pakistan. /toxins12100657 www.mdpi.com/journal/toxins2020, 12, 657 -142.
60. Moonn, T. C.; Befuus, A. D.; and Kulka, M. (2014). "Mast cell mediators: their differential. 569: 5. Release and the secretory pathways involved". *Front Immunol.* DOI: 10.3389/fimmu. (2014). 00569. PMC: 4231949. PMID: 25452755.
61. Navarro, M.A.; and Uzal, F.A. (2020). Pathobiology and diagnosis of clostridial hepatitis in animals. *J. Vet Diagn Invest.* 2020 Mar.; 32(2):192-202. PMID: 31735127; PMCID: [PMC7081508](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/PMC7081508/)
62. Nazki, S.S.; Wani, A.; Parveen, R.; Ahangar, S.A.; Kashoo, Z.A.; Hamid, S.; Dar, Z.A.; Dar, T.A.; and Dar, P.A. (2021). Isolation, molecular characterization and prevalence of *Clostridium perfringens* in sheep and goats of Kashmir Himalayas, India. (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>)
63. Niilo, L. (1988). Haemolytic patterns for presumptive identification of *Clostridium perfringens* type C. *Vet. Rec.* 122: 281.
64. Özcan, C.; and Gürçay, M. (2000). Enterotoxemia incidence in small ruminant in Elazig and surrounding prvinces in 1994-1998. *Turk J Vet Anim Scin*; 24: 283-286.
65. Paul, W.E. (2008). editor. *Fundamental Immunology*. 6th ed. Philadelphia, PA: Lippincott Williams and Wilkins; 2008. pp. 22–23.
66. Popoff, M.R. (1984). Bacteriological examination in enterotoxaemia of sheep and lamb. *Vet. Rec.* 114: 324.
67. Popoff, M.R.; Rubin, E.J.; Gill, D.M.; and Boquet, P. (1988). Actin-specific ADP-ribosyltransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. *Infect. Immun.* 56: 2299-2306.
68. Quinn, P.J., Markey, B.K., Carter, M.E., Donnelly, W.J.C., Leonard, F.C., (2003). *Veterinary Microbiology and Microbial Diseases*. Blackwell publi-shing Company .USA.Pp.84-96.
69. Quinn, P.J.; Carter, M.E.; Markey, B.; and Carter, G.R., (2004). *Clinical Veterinary Microbiology* 6th ed. Mosby. Edinburgh, Newyork. Pp. 191-208.
70. Rajic, A.; Latinovic, V.; and Bajalo, N. (1992). Antibiotic sensitivity of *Clostridium perfringens* strains from the liver of clinically healthy animals, emergency slaughtered animals, and dead animals. *Vet. Glas.* 46: 79-83.
71. Russell, W.C. (1987). Type A enterotoxaemia in captive wild goats. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 157: 643-646.
72. Senthilkumar, V.; Thirunavukkarasu, M.; and Kathiravan, G. (2008). Economic losses due to enterotoxaemia in sheep. *Indian J.Sci. Techol.* 1(6): 1-3.
73. Shahna, F.W.; Al Hakeem, G.H.; Shanmugasundaram, R.; and Selvaraj, R.K. (2022). Necrotic Enteritis in Broiler Chickens: A Review on the Pathogen, Pathogenesis, and Prevention. selvaraj@uga.edu.
74. Sheehan, D.; and Hrapchak, B. (1980). *Theory and practice of Histotechnology*, 2nd Ed, 1980, pp282, Battelle Press, Ohio.
75. Shimizu, T.; Ohtani, K.; Hirakawa, H.; Ohshima, K.; Yamashita, A.; Shiba, T.; Ogasawara, N.; Hattori, M.; Kuhara, S.; and Hayashi, H. (2002). Complete genome

- sequence of *Clostridium perfringens*, an anaerobic flesh-eater. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 99, 996-1001.
76. Simpson, K.M.; Callan, R.G.; and Van Meter, D.C. (2017). Abomasitis Enteritis by *Clostridium perfringens* in ruminants. <https://doi.org/10.1016/j.cvfa.2017.katie.simpson@colostate.edu>
 77. Smedley, J.G.; Fisher, D.J.; Sayeed, S.; Chakrabarti, G.; and McClane, B.A. (2004). The enteric toxins of *Clostridium perfringens*. Rev Physiol Biochem Pharmacol: 152: 183-204.
 78. Songer, G. (1997). Clostridial diseases of animals. In The Clostridia – molecular biology and pathogenesis. Edited by J.I. Rood, B.A. McClane, G. Songer and R.W. Titball. Academic Press. San Diego. 153 - 182. pp.
 79. Songer, J.G. (1995). Diagnosis of Clostridial infections of domestic animals, p.9. International Conference on the Molecular Genetics and Pathogenesis of the Clostridia, 1995.
 80. Songer, J.G. (1996). Clostridial Enteric Diseases of Domestic Animals. Clinical Microbiology Reviews.9(2): 216-234.
 81. Songer, J.G. (1999). *Clostridium perfringens* type A infection in cattle. Proc Am Assoc Bov Prac; pp 40-44.
 82. Songer, J.G. (2006). Clostridial abomasitis in: Duchesnes, C., Granum, P.E., Menozzi, M.G., Peck, M., Pelkonen, S., Popoff, M., Stackebrandt, E., and Titball R. European Commission-European Concerted Action QLK 2-CT2001-01267: Clostridia in medical, veterinary and food microbiology Diagnosis and typing Key Action 2-Control of infect. Dis. EUR 21463 EN.
 83. Songer, J.G.; Carlton, L.; Gyles, C.L.; John, F.; Prescott, J.F.; Songer, J.G.; and Thoen, C. O. (2004). Enteric Clostridia. In: Pathogenesis of bacterial infections in Animals. 3rd ed. Blackwell Publishing. Iowa. Pp; 132-134.
 84. Stackebrandt, E.; and Rainey, F.A. (1997). Phylogenetic relationships. In The Clostridia - molecular biology and pathogenesis. Edited by J.I. Rood, B. A. McClane, G. Songer and R.W. Titball. Academic Press. San Diego.
 85. Stackebrandt, E.; Kramer, I.; Swiderski, J.; and Hippe, H. (1999). Phylogenetic basis for a taxonomic dissection of the genus *Clostridium*. FEMS Immunology and Medical Microbiology 24, 253-8.
 86. Stutz, M.W.; Johnson, S.L.; and Judith, F.R. (1983a). Effects of diet and bacitracin on growth, feed efficiency, and populations of *Clostridium perfringens* in the intestine of broiler chicks. Poult. Sci. 62: 1619-1625.
 87. Thompson, A.; Hinton, J.C.; and Van Immerseel, F. (2006). Butyrate specifically down – regulates Salmonella pathogenicity island I gene expression. *Applied and Environmental Microbiology*, 72,946-949.
 88. Timoney, J.F.; Gillespie, J.H.; Scott, F.W.; and Barlough, J.E. (1988). Hagan and Bruner's microbiology and infectious diseases of domestic animals. Comstock Publishing Associates, Ithaca, N.Y. Pp; 221-223.
 89. Titball, R.; Mainil, J.; Duchesne's, C.; and Popoff, M. (2003). Protein toxins of the genus *Clostridium* and vaccination. In : Genus *Clostridium* ([http:// www. Genus-Clostridium .net](http://www.Genus-Clostridium.net)).
 90. Tooloei, M.; and Masodei, M. H. (2008). The distribution and prevalence rate of enterotoxemia in sheep in east Azerbaijan province, Northwestern Iran in spring. 2008. J of Animal and Veterinary Advances; 7(11): 1434- 1439.

91. Uzal, F.A.; and Giannitti, J. (2022). Asin. Yellow Lamb Disease (*Clostridium perfringens* Type A Enterotoxemia of Sheep): A Review. *Animals* (Basel). 2022 Jun 20; 12(12). PMID: 35739925; PMCID: [PMC9219707](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/35739925/).
92. Uzal, F.A.; and Songer, J.G. (2008). Diagnosis of *Clostridium perfringens* Intestinal Infections in Sheep and Goats. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 2008; 20:253-265.
93. Uzal, F.A.; Kelly, W.R.; Morris, W.E.; Bermudez, J.; and Baison, M. (2004). The pathology of peracute experimental *Clostridium perfringens* type D enterotoxemia in sheep. *J. Vet. Diagn. Invest.* 16:403-411.
94. Uzal, F.A.; Navarro, M.E.; Li, J.J.; Freedman, J.C.; Shrestha, A.; and McClane, B.A. (2019). Comparative pathogenesis of enteric clostridial infections in humans and animals. *Anaerobe*. 2018 October; 53: 11–20. doi: 10.1016/j.anaerobe.2018.06.002.
95. Van Kruiningen. H.J.; Nyaoke, C.A.; Sidor, I.F.; Fabis, J.J.; and Hinckley, L.S. (2009). Clostridial abomasal disease in Connecticut dairy calves. *Can Vet J* 2009; 50:857–860
96. Van Metre, D.C. (2006). Clostridial Infections of the Ruminant GI Tract. In: NAVC Proceedings, North American Veterinary Conference Publi-she: NAVC (www.tnavc.org).Internet Publi-she: International Veterinary Information Service, Ithaca NY(www.ivis.org).
97. Van-Khanh, N.; Bourges, N.; Concordet, D.; and Dorchies, P. (1995). Mastocytes et éosinophiles de la muqueuse respiratoire du mouton infesté par *Oestrus ovis* (linné, 1995).
98. Verherstraeten, S.; Goossens, E.; Valgaeren, B.; Pardon, B.; Timbermont, L.; Vermeulen, K.; Schauvliege, Haesebrouck, F.; Ducatelle, R.; Deprez, P.; and Van Immerseel, F. (2023). The synergistic necrohemorrhagic action of *Clostridium perfringens* perfringolysin and alpha toxin in the bovine intestine and against bovine endothelial cell.
99. Wang, X.; Huang, X., Yang, Q.; Yan, Z.; Wang, P.; Gao, X.; Luo,; and Gun, S. (2022). TMT labeled comparative proteomic analysis reveals spleen active immune responses during *Clostridium perfringens* type C infected piglet diarrhea. DOI 10.7717/peerj.13006-16.
100. Wastling, J.M.; Knight Ure, J.; Wright, S.; Thornton, E.M.; Scudamore, C.; Mason, J.; Smith, A.; and Miller, H.R.P. (1998). Histochemical and Ultrastructural odification of Mucosal Mast Cell Granules in Parasitized Mice Lacking the b-Chymase, Mouse Mast Cell Protease-1. In American Society for Investigative Pathology. 1998. 153 \2\.
101. Younan, M.; Both, H.; and Muller, W. (1994). Frequency of *Clostridium perfringens* types in Jordanian sheep. *Zentralblatt fur Bakteriologie*; 281: 240-247

الملخص باللغة الإنكليزية

ABSTRACT

Histopathological Changes Resulting from Enterotoxemia Cuased by *Clostridium Perfringens* in Awassi Sheep

Abstract

Enterotoxemia cuased by *Clostridium* Perfringens disease is one of the most important infectious diseases affecting sheep flocks, especially Awassi sheep in Syria. It causes huge economic losses resulting from sudden death of sheep and high costs of preventation and control. Hence, this research aimed to study the macroscopic and microscopic pathological changes and inflammatory reactions resulting from infection with *Clostridium* perfringens in the Awassi sheep.

Samples were collected from (16) sheep that died suddenly from improved breeding flocks at the Agricultural Scientific Research Center in Hama within a semi-intensive breeding system in semi-open pens. The study was completed at Hama University - Faculty of Veterinary Medicine.

Clostridium perfringens bacteria were isolated and identified from all samples were taken from death sheep. The studied cases of sheep showed clinical symptoms, the most important of which were nervous convulsions, recumbeneg on the ground, and pushing the legs forward and the head backward. The most important macroscopic pathological changes were observed, the most important microscopic of which were hemorrhagic and fibrinous necrotic enteritis, gallbladder filling and congestion of internal organs. Bleeding was observed in the liver, kidney, heart and other organs. The liver and kidney were pale and fragile, and serous to bloody fluids were observed in the body cavities in most cases. The kidney was found dark, pulpy, pasty (pulpy kidney) in some cases. Microscopic pathological changes were recorded in the intestine, liver and kidney, where erosion was found in the tissue layers of the ntestine, vascular degeneration and protein degeneration in the cells of the studied tissues, as well as necrosis in the lining of the renal tubules. In the histological sections of the liver, congestion was found in the hepatic sinusoids and central veins, and hemorrhage in some cases. In all samples, there was the infiltration of severe inflammatory cells dominated by neutrophils, in addition to the presence of some macrophages in some cases, some granulocytes in some cases, and some lymphocytes in others. various

inflammatory cells were also observed under the renal capsule, degeneration and necrosis in the renal tubules and glomerulonephritis, a presence of neutrophils, and inflammation in the renal interstitial tissue with clusters of inflammatory cells of neutrophils, eosinophils, lymphocytes, macrophages. In the liver tissue, degeneration and necrosis were found in the liver, the presence of neutrophils and granulocytes in some cases, and the neutrophils were accompanied by hepatic macrophage Kupffer cells in others, and in addition presence of neutrophils in the hepatic sinusoids and some granulocytes in others, and degeneration with the presence of inflammatory cells dominated by neutrophils with some eosinophils and macrophages was observed in others. An increase in mast cells was observed in the histological sections from the intestine, liver, kidney.

These results demonstrate the importance of studying the pathological changes in diagnosis, in addition to conducting a bacterial examination to confirm the identity of the cause and observing the symptoms that appear before death.

Keywords: pathological changes, Inflammatory Reactions, Mast Cells, Awassi sheep, Interotoxemia, *Clostridium perfringens*.

Syrian Arab Republic
Hama University
Faculty of Veterinary Medicine
Department of Pathology



Histopathological Changes Resulting from Enterotoxemia Cuased by *Clostridium perfringens* in Awssi Sheep

**Thesis submitted for Master degree (M.Sc.)
in vetrinary medicine (Bathology)**

Presented by Postgraduate student

Lolo Ghaleb Shaira

**General Commission for Scientific Agricultural Research, Hama
Center (GCSAR)**

Under Supervision

Dr. Wasef Al Wassouf

(Scientific Supervisor)

**Assistant Professor in the Department of
Pathological Anatomy
Faculty of Veterinary Medicine -
Hama University**

Dr. Ashraf AL-Saleh

(Co-Supervisor)

**Lecturer in the Department of
Microbiology
Faculty of Veterinary Medicine
Hama University**

1446 - 2025