التهاب السحايا والدماغ في افراخ اللحم نتيجة للاصابة بالرشاشيات الدخناء

حارث محمد إبراهيم الحيالي

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

تاريخ الاستلام 2002/1/5 تاريخ القبول 2002/5/2

الخلاصة

تم دراسة 45 حالة افراخ لحم عمرها بين 7-14 يوم من مجموع عدد الحالات المرسلة الى مراكز تشخيص امراض الدواجن والبالغة 2375 حالة ما بين بداية عام 2000 وحتى نهاية تشرين اول عام 2001 كانت تعاني من علامات تنفسية وعصبية وكان يشك بانها اصابات بمرض نيوكاسل او حالة تلين الدماغ. وقد تم اخذ نماذج مسحات من الاكياس الهوائية والاعضاء الاخرى التي لوحظت عليها عقيدات صفراء اللون وزرعها على وسط السابرويدويكستروز حيث لوحظ وجود مستعمرات لنمو فطري مميز لفطريات الرشاشيات الدخناء وبعد سبعة ايام من الحقن بدرجة حرارة 30 م. وتم تأكيد التشخيص باصابة افراخ بعمر يوم واحد برشها بعالق المستعمرات الفطرية وعالق الاعضاء المصابة وبعد سبعة ايام اظهرت علامات تنفسية وعصبية مشابهة لما لوحظ حقلياً كما تم التأكد من المستعمرات الفطرية بطريقة الشريط اللاصق وصبغة النيكروسين حيث اظهرت تراكيب مماثلة لفطريات الرشاشيات ولدى دراسة الافات المرضية للمقاطع النسيجية للمخ والمخيخ وجدت افات نسجية متمثلة بالورم الحبيبي المكونة من مركز تنخري محاط بخلايا لمفية وبلعمات ومحاطة بنسيج ضام وخلايا عملاقة وبذلك تأكد من ان الاصابة هي فطريات الرشاشيات. اكد التشخيص بصبغ المقاطع النسجية للمخ والمخيخ بصبغة فوق ايوديد شيف Periodic Acid Schiff (PAS) لملاحظة اذرع الفطر في الاعضاء المصابة.

MENINGOENCEPHALITIS IN BROILER CHICKS DUE TO *ASPERGILLUS FUMIGATUS* INFECTION

H.M. I. AL-Hyali

Department of Pathology and Poultry Diseases, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad, Baghdad- Iraq.

Summary

Forty five cases, 7-14 day–old chicks were studied, they showed respiratory and nervous signs with yellowish granulomatous necrotic foci on the air sacs, liver, kidneys, cerebellum and cerebrum. Swabs were taken 7 days post inoculation, culture was made on Sabouraud's dextros agar,. *Aspergillus fumigatus* was isolated. Diagnosis was confirmed by experimentally exposed

one day-old chicks to aerosols of *A. fumigatus* conidia and also by microscopic demonstration of typical fruiting bodies and spores of the fungus in fresh preparations made from Sabouraud's agar. Examination of histological sections of cerebrum and cerebellum tissues from fungal-infected chicks stained with hematoxylin and eosin and PAS stains revealed granulomas lesion with a central area of necrosis containing heterophils surrounded by macrophages, gaint cells, lymphocytes and layer of fibrous tissue. It was concluded that the cases deal within this study had been infected with *A. fumigataus*.

المقدمة

تصاب الدواجن بالعديد من الامراض ومن ضمنها الامراض الفطرية واكثرها شيوعاً هو داء الرشاشيات الذي يصيب الرومي والدجاج والطيور البرية. يصيب الجهاز التنفسي وملتحمة العين والاعضاء الداخلية والجهاز العصبي المركزي[1،2]. تحدث العدوى بالمرض باستنشاق ابواغ الفطر من الفرشة او العلف الملوث بالفطر كما يمكن انتقالها في الفقاسات الملوثة[3، 4، 5].

من المعروف بان المرض يحدث في مختلف انواع الطيور ولكنه اكثر حدوثاً في افراخ الرومي والدجاج مسبباً ظهور علامات تنفسية واسهال وتدمع وهزال ومن ثم الموت، وعند تشريح الافراخ الهالكة يلاحظ وجود عقيدات صغيرة ذات لون اصفر في الرئتين والاكياس الهوائية الصدرية والبطنية والاعضاء الداخلية الاخرى[6].

ينتشر المرض في معظم انحاء العالم بضمنها العراق حيث شخص داء الرشاشيات سريرياً (الشكل التنفسي) في افراخ اللحم من قبل[6] وبلغت نسبة الاصابة 0.8%. كما سجل داء الرشاشيات في الرومي من قبل[8، 9] حيث تمكنوا من عزل الفطر ودراسة تأثيره على القصبة الهوائية والرئتين والاكياس الهوائية والعين والدماغ. اما في الدجاج فقد تمكن[10] من عزل العديد من الفطريات من ضمنها الرشاشيات الدخناء من 146 رئة افراخ لحم بعمر 2-4 اسابيع كانت تعاني من علامات تنفسية. في حين استطاع[11] من تشخيص داء الرشاشيات سريرياً في الدجاج وشكلت نسبة 2.2% من مجموع الحالات المشخصة خلال مدة الدراسة.

وبالنظر لكثرة انتشار حالات الافراخ الصغيرة التي تعاني من علامات عصبية وباعمار مبكرة والتي يشتبه في تشخيصها على انها اصابات نيوكاسل او حالات تليين الدماغ. وبالنظر لاقتصار الدراسات السابقة في القطر على الشكل التنفسي في الدجاج وكذلك في افراخ الرومي فقد خطط لهذه الدراسة لعزل وتشخيص الفطر المسبب ودراسة الآفات العيانية والنسجية للفطر في المخ والمخيخ.

المواد وطرق العمل

بلغ عدد النماذج التي فحصت للفترة ما ين بداية عام 2000 الى نهاية تشرين اول عام 2001 هو 2375 نموذج والتي وردت الى مختبرات تشخيص الدواجن في بغداد وكانت ضمن الحالات المرسلة 45 حالة افراخ باعمار 7-14 يوم تعاني من علامات عصبية تشمل التواء بسيط للرقبة وامتدادها للخلف والترنح وعدم القدرة على الاتزان وبعضها اظهرت علامات تنفسية مثل صعوبة التنفس والشهقة، ولدى تشريح الافراخ الهالكة لوحظ وجود عقيدات صغيرة في الرئتين والاكياس الهوائية الصدرية والبطنية والكبد والكلى والخلب وذات لون ابيض مصفر كما لوحظ في ادمغة الافراخ التي تعاني من العلامات العصبية وجود كبر في حجم المخ والمخيخ واحتقان في المخيخ مع ملاحظة عقيدات بيضاء في المخ. واشتبه بالحالات بانها مرض نيوكاسل او حالة تلين الدماغ.

لغرض تشخيص الحالات المرضية المشتبه بها، اخذت مسحات من الاكياس الهوائية والاعضاء المصابة واستعملت اوساط زرعية مثل وسط الاكار المغذي ووسط السابرود دكستروز. تمت محاولة عزل فايروس نيوكاسل من الحالات التي اظهرت اعراض عصبية والمشتبه باصابتها بمرض نيوكاسل وذلك بحقن عالق الاعضاء المصابة في البيض الحاوي على اجنة افراخ الدجاج بعمر 9-11 يوم ومن ثم تم اجراء فحص التلازن الدمي واختبار اثباط التلازن الدمي حسب الطريقة المذكورة سابقا[12].

تم اصابة 10 افراخ بعمر يوم واحد وذلك برش عالق الاعضاء المصابة والتي اظهرت العقيدات الحبيبية وعالق المستعمرات الفطرية على وسط السابرود في نقيع القلب والدماغ وذلك حسب الطريقة المنشورة سابقا[6].

اخذت قطع من المخ والمخيخ وتم حفظهما في محلول 10% فورمالين المتعادل لمدة 24-48 ساعة وحسب الطريقة المذكورة سابقا[13] وصبغت المقاطع النسيجية بصبغتي الهيماتوكسلين والايوسين وصبغة شيف فوق الايودين (PAS) وفحصت بالمجهر الضوئي وصورت بتكبيرات مختلفة.

النتائج

اظهرت نتيجة تنمية وزرع النماذج من الاعضاء المصابة على وسط السابروید دیکستروز ظهور نمو فطري واضح بعد 3-7 ايام من الزرع وبدرجة حرارة 30 ?م حيث تميز النمو الفطري

باللون الابيض في البداية وذو شكل قديفي ثم تحول الى اللون الاخضر وباستمرار الحضن تحول لون المستعمرة الى اخضر مسود (الصورة 1).

تم تأكيد تشخيص الفطر بطريقة الشريط اللاصق بعد تمريره على المستعمرات الفطرية وصبغه بالنيكروسين ولصقه على شريحة زجاجية حيث تم ملاحظة شكل الغبيرات لفطر الرشاشيات الدخناء حيث كانت ناعمة مرصوصة قرب الحويصلة ذات الشكل الكروي ومحمولة على الفيلايدس (الصورة2) وبذلك تم التأكد من كون الاصابة ناتجة عن فطريات الرشاشيات الدخناء.

لم يظهر الزرع الجرثومي على وسط الاكار المغذي وجود أي نوع من البكتريا وكذلك لم يظهر فحص التلازن الدموي واثباط التلازن الدموي اية نتيجة موجبة مما يشير الى ان الحالة لم تكن اصابة بمرض نيوكاسل. اظهرت الاصابة التجريبية برش الافراخ بعالق الاعضاء المصابة وعالق المستعمرات الفطرية ظهور علامات تنفسية تمثلت بصعوبة تنفس ووجود علامات عصبية مثل التواء الرقبة وحدوث تشنجات وسحب الرأس الى الخلف كما لوحظ حدوث اسهال وهزال وذلك بعد 7 ايام من الحقن. تميزت الافات المرضية المرئية للافراخ المصابة تجريبياً بوجود عقيدات صغيرة بحجم رأس الدبوس صفراء اللون متجبنة في الرئتين والاكياس الهوائية الصدرية والبطنية وفي الكبد لوحظ وجود عقد نخرية صفراء اللون مع احتقان شديد في الكبد، كما لوحظ وجود نفس العقد في الخلب، اما في الدماغ فقد لوحظ وجود عقد بيضاء مصفرة في المخ والمخيخ مع وجود احتقان في الاوعية الدموية وتضخم كلا المخ والمخيخ وفي بعض الحالات لوحظ اختفاء تعاريج المخيخ بسبب التضخم مع الاحتقان الشديد في المخيخ كما موضح في الصورة 3.

الفحص النسجي:

1- المخيخ: لوحظ وجود بقعة نخرية متجبنة او حبيبية في المركز واخرى حبيبية لا نخرية مع وجود الخلايا المتغايرة وتحاط بنطاق ليفي تتخلله خلايا التهابية مع وجود الخلايا العملاقة كما لوحظ وجود التهاب الاغشية السحائية (الصورة 4).

2- المخ: لوحظ وجود منطقة نخرية متجبنة محاطة بالخلايا وحيدة النواة والخلايا المتغايرة وبنطاق ليفي مع تثخن اغشية السحايا مع تخلل الخلايا الالتهابية واحتقان الاوعية الدموية (الصورة 5) وفي المقاطع التي صبغت بصبغة شيف فوق الايوديد لوحظ وجود الخيوط الفطرية في نسيج المخيخ كما موضح في الصورة (6).

المناقشة

داء الرشاشيات من الامراض الفطرية التي تصيب افراخ الدجاج وهو مرض معدي يصيب الجهاز التنفسي والعصبي المركزي مسبباً خسائر فادحة حيث تحدث اضرارها بسبب الفطر نفسه او من سمومه او منهما معاً. بدأت حالات الرشاشيات بالازدياد خلال السنوات الماضية حيث شكلت نسبة 1.8%، 45 حالة من مجموع 2375 حالة وردت لمختبرات التشخيص للفترة بين عامي 2000-2001 وقد قورنت النتائج مع ما سجله الباحث[7] في جانب من دراسته الخاصة بحالات الفطريات حيث سجل نسبة 0.8% حينذاك كما قورنت النتائج الحالية مع نتائج سابقة[11] في مسح لامراض الدواجن حيث بلغت نسبة الاصابة بالفطريات في عام 1989 بلغت 1.63% ، وفي عام 1999 بلغت 1.79% ومن خلال هذه المقارنة يتضح لنا مقدار الزيادة الحاصلة في حالات الاصابة بالفطريات وما تسببه هذه الفطريات على كفاءة افراخ اللحم.

تتميز العلامات السريرية التي تم ملاحظتها على الافراخ المصابة بالعلامات التنفسية مثل الشهقة والسعال وصعوبة التنفس واصوات صفير وامتناع الافراخ عن تناول العلف وشرب الماء وهذا يتفق مع ما لاحظه باحثون سابقون[14، 15] كما لوحظت افات مرضية مشابهة لما سجله باحثون اخرون[14، 16] ولكن في هذه الدراسة تم التركيز على العلامات العصبية حيث كان يخطأ في تشخيصها على انها حالات نيوكاسل او تلين المخيخ (نقص فيتامين هـ) وفي هذه الدراسة اتضح ان سبب هذه العلامات العصبية يعود الى الرشاشيات الدخناء. المقاطع النسجية للمخ والمخيخ التي اظهرت افات متميزة مثل التهاب السحايا ووجود تنخرات وكتل حبيبية في كل من المخ والمخيخ وبذلك تكون الدراسة سابقة لم يتطرق اليها الباحثون في القطر حيث تركزت دراساتهم على افراخ الرومي وعلى الاعضاء الاخرى مثل العين والاكياس الهوائية والرئتين في افراخ الدجاج[9، 10].

يعود سبب انتشار الفطريات في الفترة الاخيرة الى استخدام فرشة من خشب الاشجار حيث تعتبر وسط جيد لنمو الفطريات مع ازدياد العوامل المهيئة لها من رطوبة ودرجات حرارة ملائمة[17]. يحدث المرض بعد 5-6 ايام عندما تكون الفرشة ملوثة بالفطريات حيث تسمع اصوات غرغرة وصفير وتتوقف الافراخ عن تناول العلف والماء.

وقد يعود السبب الى انتشار الفطريات نتيجة لتلوث الحاضنات والمفقسات بالفطريات[5] حيث تظهر العلامات التنفسية مثل الشهقة والسعال وصعوبة التنفس خلال 2-3 ايام بعد الفقس بالنظر لتوفر

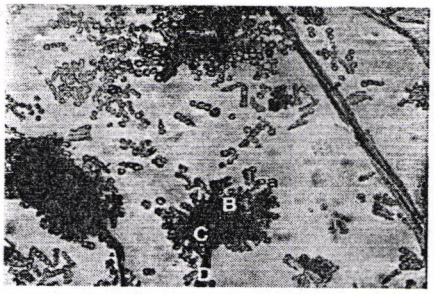
الظروف الملائمة من حرارة ورطوبة طيلة مدة 21 يوم داخل الحاضنات والمفقسات مما يؤدي الى نمو الفطريات فيها وبالتالي انتشار العدوى الى الافراخ وان بقاء الفطريات في الحاضنات والمفقسات وعدم تعقيمها جيداً بعد كل فقسة سيؤدي الى اصابة جميع الافراخ الفاقسة التي تليها. احياناً يقوم العاملون بالمفاقس بتعقيم جميع اجزاء المفقس ولكن تهمل مجاري الهواء التي تضخ الهواء الدافئ وهي اهم مصدر داخل المفقس الواجب تعقيمه للتخلص من الاصابات الفطرية[5].

وقد يعود سبب انتشار الرشاشيات الى تلوث العلف لذا ينصح بتوفير الشروط الصحية في معامل العلف وقد يكون العلف المخزون لفترة طويلة في مكان رطب وسطاً جيداً لنمو الفطريات وان تأخر رفع صواني العلف الدائرية المستخدمة في الاسبوع الاول وبقائها لفترة طويلة تمتد احياناً لغاية عمر 20 يوم من عمر الافراخ او اكثر لدى بعض المربين قد تكون سبباً للاصابة بعدوى الفطريات حيث ان بقاء الصواني يساعد الافراخ على بعثرة العلف حولها واختلاطه بالفرشة وترطبه مما يجعل تناوله من قبل الافراخ مصدر جيد للعدوى.

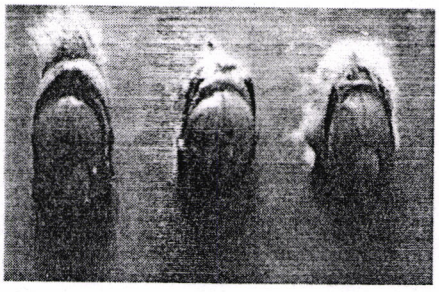
وبخصوص الدراسة المرضية النسجية لوحظ بان المخ والمخيخ اظهرت افات مرضية نسجية مميزة للاصابة بالرشاشيات حيث ان وجود الآفات النخرية وتخلل الخلايا اللمفاوية والبلعمية والخلايا العملاقة صفة مميزة للاصابة بالرشاشيات وبذلك تختلف عن الافات النسجية في حالات الاصابة بمرض نيوكاسل والتي تتميز بالتهاب غير قيحي وكثرة عدد الخلايا الدباقية في المخيخ مع تنخر خلايا بركنجي مع تخلل خلايا اللمفوسايت والبلازما حول الاوعية الدموية[18]، كما وتختلف عن حالات تليين المخيخ التي تمتاز نسجياً بوجود نخر ذووي ischemic necrosis وزوال النخاعين demyelination وتنكس عصبوي neuronal degeneration واحتقان شديد بالاوعية الدموية في الاغشية السحائية[19].

يستنتج من هذه الدراسة ان هناك إصابة بالرشاشيات الدخناء في الافراخ الحديثة الفقس متأتية من تلوث المفاقس والفرشة المستخدمة في بيوت التربية.

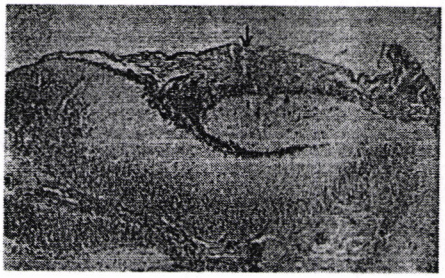
الصورة 1: فطر الرشاشيات الدخناء النموذجي على وسط السابروويد بعد سبعة ايام بعد الزرع بدرجة حرارة 30 م.



الصورة 2: صورة للرشاشيات الدخناء (A) سلسلة الكونيدات (B) ذنيبات (C) الحويصلة (D) حامل الكونيدات. صبغة النكروسين 200x.

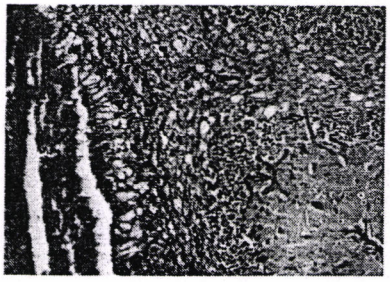


الصورة 3: ادمغة افراخ مصابة بالرشاشيات توضح احتقان شديد وتلين في المخيخ مع ملاحظة بقع نخره وكبر حجم المخيخ.



الصورة 4: مقطع في مخيخ افراخ مصابة بالرشاشيات نلاحظ فيه تثخن اغشية السحايا (↓) لارتشاحه بخلايا وحيدة النواة مع احتقان في الاوعية الدموية. صبغة H&E 125x.

الصورة 5 : مقطع نسجي لمخ افراخ مصابة بالرشاشيات يلاحظ وجود بقعة نخرية ومتجبنة حبيبية (←) صبغة H & E 200x.



الصورة 6: مقطع لمخيخ افراخ مصابة بالرشاشيات نلاحظ فيه وجود الحصيرة الفطرية (→) ذات الصبغة الحمراء الارجوانية. صبغة PAS 200x.

REFERENCES

1. Veen, P.J. (1973) Torticollis and disease of respiratory tract caused by *Aspergillus fumigatus* in fowl. Neth. J.Vet. Sci: 5: 132-133.
2. Beckman, B.J., Howe, C.W., Trample, D.W., De Bey, M.C., Richard, J.L., and Niyo, Y. (1994) *Aspergillus fumigauts* keratitis with intraocular invasion in 15- day old chicks. Avain Dis. 36: 660-665.
3. Saif, A. and Aboul- Kheir, F.A. (1979) Studies on the epidemiology of aspergillosis in poultry and poultry men. J. Egypt Vet. Med. Assoc. 39: 5-19.
4. Ogundero, V.W. (1980) Fungal flora of poultry feeds. Mycologia. 72: 200-202.
5. Chute, H.L. (1984) Fungal Infections In.: Diseases of Poultry, 8th ed. edited by Hofstad. M.S. et al, Iowa State, University Press, Ames. Iowa.
6. Richard, J.L., Cutlip, R.C., Thurston, J.R. and Songer, J. (1981) Response of turkey poults to aerosolized spores of *Aspergillus fumigatus* and aflatoxigenic and non aflatoxigenic strains of *Aspergillus flavus*. Avian Dis. 25: 53-67.
7. Ibrahim, H.M. (1982) Survey on diseases of chickens in Baghdad for the year 1981-1982. M.Sc. Thesis, College of Veterinary Medicine,University of Baghdad.
8. Shalash, A.A., and Thwaini, A.N. (1990) Microbiological and pathological studies on mycosis outbreak of turkey in Iraq. Proceeding of second Scientific Technological Conference, J.Med. Res. Pp.212-224.
9. Shalash, A.A., K.H. Zenad, and Thwaini, A.N. (1991) Pathology of acute mycosis in broiler chickens. Veterinarian 1: 165-175.
10. Kamas, E.J. (1998) Fungal infection in broiler lungs. Veterinarian 8: 40-46.
11. Al- Obaidi, S.M. (2000) A survey of fowl diseases in Baghdad from October 1998 to June 1999. MSc Thesis, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad,.
12. Allan, W.H., Lancaster, J.E. and Toth, B. (1973) The production and use of Newcastle disease vaccines. Food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome. No.10, pp.1-8.
13. Luna, L.G. (1968) Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of pathology. 3rd ed. McGraw- Hill Company, New York.

14. Korbel, R., Baur, S., Gedek, B. (1993) Pathologic anatomic and mycotoxicologic studies of Aspergillosis in birds. Tierarzlt- prax. 21: 134-139.
15. Quinn, P.J., Carter, M.F., Markey, B.K., and Carter, G.R. (1998) Clinical Veterinary Microbiology. MOS International, London. 391-394.
16. Barton, J.T., Daft. B.M., Read, D.H., Kinde, H and Bickford, A.A. (1992) Tracheal aspergillosis in 6 week-old chickens caused by *Aspergillus flavus*. Avain Dis. 36: 1081-1085.
17. Richard, J.L., Thurston, J.R., Peden, W.H. and Pinello, C. (1984) Recent studies on Aspergillosis in turkey poults. Mycopathologia 87: 3-11.
18. Wilczynski,S.P., Cook, M.I. and Steven,J.G. (1977) Newcastle disease as a model for paramyxovirus induced neurologic syndroms. Am. J. Pathol.89:649-666.
19. Jortner, B.S., Meldrum, J.B., Domermuth, C.H. and Potter, L.M. (1985) Encephalomalacia associated with hypovitaminosis in Turkey poults. Avian Dis. 29: 488-498.