التغيرات النسيجية المرضية في رئات دجاج اللحم المترافقة بالإصابة بالمايكوبلازما جاليسيبتيكم

*د. عبد الله نزار البارودي **أ. م. د. وديع يعقوب شديد

(الإيداع:25 نيسان 2019 ، القبول: 16 حزيران 2019)

ملخص:

تهدف الدراسة إلى معرفة التغيرات النسيجية التي تسببها المايكوبلازما جاليسبتيكوم (MG) في نسيج الرئتين عند دجاج اللحم. تم جمع عشرة طيور حية من دجاج اللحم بعمر أربعين يوما ظهرت عليها الأعراض السريرية للإصابة، وأخذ منها عينات دم لإجراء اختبار الإليزا لتأكيد الإصابة، ثم تم ذبحها وتشريحها ووصف التغيرات التشريحية المرضية وأخذ عينات من الرئتين للدراسة النسيجية و تم تثبيتها بالفورمالين المتعادل بتركيز 10% .

لوحظ على الطيور قبل الذبح خراخر، وعطاس وسيلان أنفي وعيني، وتورم حول العينين، والتهاب الملتحمة. عند إجراء اختبار الأليزا لعينات الدم المأخوذة من الطيور لوحظ نتيجة إيجابية بنسبة 80%، وشوهد عيانيا عند تشريح الطيور احتقان متفاوت الشدة وتكبد بالرئتين، مع وجود طبقة فبرينية عليها. أما نسيجيا فكانت التغيرات عبارة عن تضخم الطبقة المخاطية للقصيبات الأولية، وغياب الأهداب، واحتقان الأوعية الدموية وتنكس ونخر الغدد المخاطية، ولوحظ في القصيبة الثانوية والثالثية نزف وارتشاح الخلايا الالتهابية (وحيدات النوى، والبلاعم، واللمفاويات، والخلايا المحبحبة)، مع وجود ألياف الكولاجين والخلايا أرومة الليفية.

الكلمات المفتاحية: المفطورة الإنتانية الدجاجية، دجاج اللحم، نسيج الرئة، الجهاز التنفسي، القصيبات الأولية، القصيبات الثانوية، القصيبات الثالثية.

* طالب دراسات عليا – كلية الطب البيطري – جامعة حماه.

** اختصاص تشريح مرضي – كلية الطب البيطري – جامعة حماه.

Histopathological changes in Broiler Chickens lungs associated with maycoplasma gallisepticum

*Dr. Abdullah Nezar Al–Baroudy **Asst Prof. Dr. Wade Yakob Shaded

(Received:25 April 2019, Accepted: 16 June 2019)

Abstract:

This research was performed to study the histological changes caused by Mycoplasma gallisepticum (MG) in lung tissues of broiler chicken. Ten live birds of forty day old were collected. Bird showed symptoms of Mycoplasma infection. Blood samples were obtained and tested by ELIZA test to confirm the infection. These birds were slaughtered and autopsied. Lung tissues were collected in 10% buffered formalin.

Infected birds suffered from runny nose and eyes, swelling around the eyes and conjunctivitis. The ELISA test of blood samples were positive in 80% of birds. Grossly, lung tissues of affected birds were hyperemic with different intensity. lungs were consolidated and covered with fibrin layer. Histologically, there was hyperplasia in the Mucous layer of primary bronchioles, absence of cilia. Degeneration and necrosis of mucous glands were observed. Secondary and tertiary bronchioles were inflamed and infiltrated with macrophages, lymphocytes, heterophils and fibroblastsis.

Key words: maycoplasma gallisepticum, Broiler Chicken, lung tissue, Respiratory system, Histological, Premary bronchus, Secondary bronchus, Tertiary bronchus.

*Postgraduate student, – Faculty of Vet. Med. Hama University–Syria.

**Professor in . Vet., Med. Hama University, Hama– Syria.

1– المقدمة: Introduction

تعد الإصابات التنفسية عند الدواجن من المشاكل الصحية والاقتصادية التي تواجه تربية الدواجن في كل أنحاء العالم (22)، وتختلف الرئتين في الطيور عن تلك الموجودة في الحيوانات اللبونة من الناحية النسيجية والتشريحية حيث لا يوجد عند الطيور أسناخ (حويصلات) هوائية وإنما تستبدل بشعيرات هوائية تمثل الفروع الانتهائية للقصيبات الثالثية حيث تحدث عملية التبادل الغازي (7,24,26)، تمتلك الطيور رئتين صغيرتين نسبيا وتحتل التجويف الصدري وتقوم بعملية التبادل الغازي(8,19,23)، ونظرا لانتشار الإصابات التنفسية وظهور أعراضها على الطيور، وتأثيرها على تربية الدواجن اقتصاديا باعتبارها مصدرا غذائيا مهما للإنسان، تم إجراء هذا البحث لمعرفة التغيرات النسيجية التي تحدثها المفطورة الإنتانية الدجاجية (maycoplasma gallisepticum) في الرئتين عند دجاج اللحم وبالتالي يتسنى لنا التمييز بين النسيج الطبيعي والنسيج المرضي لغرض المعالجة المبكرة وتفادي الخسائر، وكذلك توفير قاعدة لدراسات أخرى.

2– مواد وطرق العمل Materials and Methods :

تم في هذه الدراسة أخذ عشرة طيور من دجاج اللحم بعمر أربعين يوما مصابة بالمفطورة الإنتانية الدجاجية، أخذت عينات من الرئتين بعد ذبح وتشريح الطيور، ووضعت في محلول الفورمالين المتعادل بتركيز (10%) ولمدة (48) ساعة، ثم أخذت العينات وغسلت بالماء الجاري لمدة (24) ساعة، بعدها مررت العينات في سلسلة تراكيز متصاعدة من الكحول الإيثيلي (70,80,90,100%) لإتمام عملية سحب الماء من العينة، وتمت عملية الترويق باستخدام الزايلول، ثم طمرت بشمع البارافين الذائب بدرجة (58c)°، وقطعت بالمكروتوم اليدوي لشرائح بسمك (5) مكرون، ثم صبغت بصبغة الهيماتوكسيلين أيوزين (H&E) لتوضيح المعالم النسيجية (18)، ثم فحصت المقاطع النسيجية باستخدام المجهر الضوئي.

2–1– مواد خاصة باختبار مقايسة الممتز المناعي المرتبط بالأنزيم غير المباشر (ELISA):

– عتيدة الإليزا الخاصة بالمفطورة الإنتانية الدجاجية Mg Elisa Kit (Biochek, Holland)

– طبق خاص بتمديد عينات المصل.

3– النتائج: Results

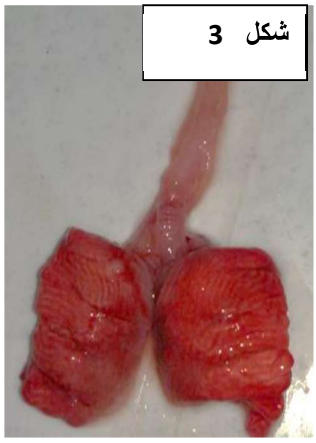
3 –1– اختبار الإليزا للكشف عن أضداد المايكوبلازما MG عند طيور الدراسة:

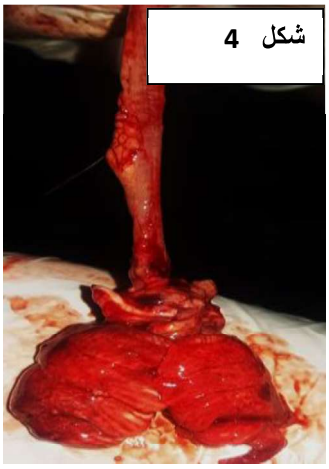
أظهرت النتائج أن عدد العينات الإيجابية لاختبار الإليزا المستخدم في الكشف عن أضداد المفطورة الإنتانية الدجاجية عند طيور الدراسة بلغ ثمان عينات من عشرة عينات مفحوصة، إذ بلغت نسبة الانتشار المصلي للمفطورة الإنتانية الدجاجية لدى الطيور المفحوصة % 80.

3-2- الأعراض السريرية والصفات العيانية المشاهدة على طيور الدراسة:

لوحظ من خلال الفحص السريري للطيور المصابة عطاس، وخراخر، وتورم حول العينين، والتهاب الملتحمة (الشكل 1) ووجود سيلان أنفي وعيني (الشكل 2)، وانخفاض الوزن وصعوبة التنفس، أما الصفات التشريحية العيانية فكانت احمرار واحتقان دموي في القصبة الهوائية واحتقان مختلف الشدة في الرئتين، وفي الحالات الشديدة شوهد ظهور شكل التكبد الرئوي (الأشكال 3,4,5,6).

الشكل رقم (1): تورم حول العينين بسبب الاصابة بال MG. **الشكل رقم (2):** الإفرازات العينية بسبب الإصابة بال MG.

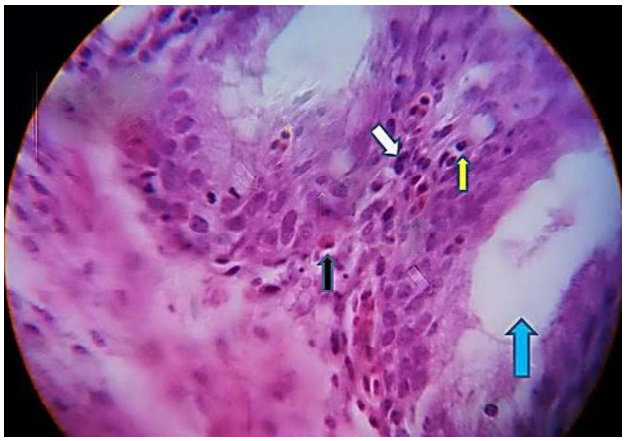




(الشكل رقم 3-4-5-6) : تظهر تفاوت في شدة الالتهاب في الرئة وصولا إلى التكبد الرئوي وملاحظة الاحتقان في القصبة الهوائية بسبب الإصابة بالمفطورات.

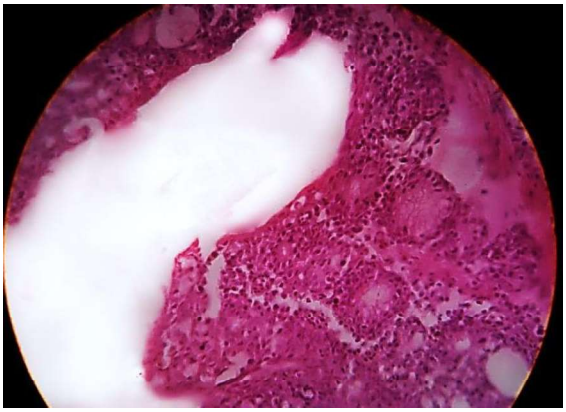
3- 3- التغيرات المجهرية في المقاطع النسيجية:

تظهر الآفات النسيجية المرضية المجهرية على شكل نخر وتوسف الظهارة التنفسية للقصبة الأولية وكشف الفحص النسيجي للرئتين عن احتقان ملحوظ، وتوضع فبريني، وارتشاح الخلايا وحيدة النواة والخلايا الليمفاوية والخلايا المستغيرة(المحبحبة) heterophil (الخلايا متغايرة الحبيبات) في الغالب(**شكل رقم 7**)، ولوحظ تضخم الغدد المخاطية والخلايا الكأسية في القصيبات الأولية، إضافة لما سبق شوهد توسع في النسيج الضام بين الفصيصي (شكل 8)، وتراكم الفبرين وارتشاح الخلايا الالتهابية إلى القصيبات الأولية والثانوية والثالثية وأغلبها من اللمفاويات والخلايا المحبحبة (شكل 9)، وتوسف الظهارة التنفسية، وتضخم المخاطية، وتنكس ونخر الغدد المخاطية والخلايا الكأسية في الطبقة المخاطية وارتشاحها بالخلايا الالتهابية (شكل 10)، وتوضع ألياف الكولاجين(تليف النسيج) وارتشاح الخلايا أرومة الليفية، وثخانة جدر الأوعية الدموية (شكل 11).

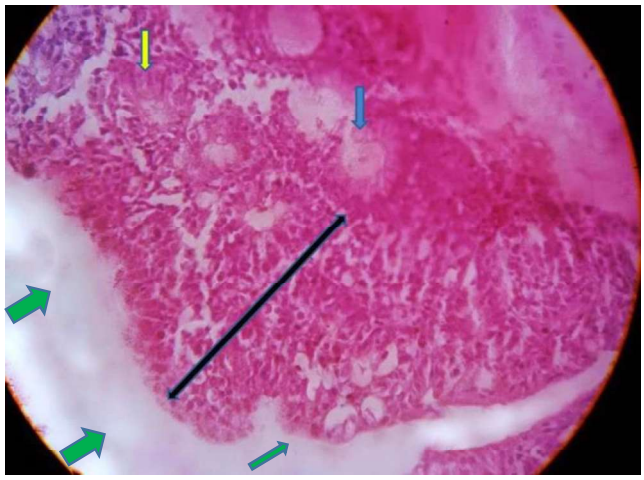


الشكل رقم (7): مقطع نسيجي للقصبة الهوائية : يشاهد رد الفعل الالتهابي في الطبقة المخاطية وتحت المخاطية للظهارة التنفسية بسبب الإصابة بالمفطورات متمثلا بارتشاح الخلايا المحبحبة (السهم الأسود) واللمفاويات (السهم الأصفر) والخلايا وحيدة النوى (السهم الأبيض)، وتنكس وتضخم الغدد المخاطية وتراكم المخاط بداخلها(السهم الأزرق). H&E×1000

الشكل رقم (8): يلاحظ البنية الفصيصية لنسيج الرئة عند دجاج اللحم، واحتقان وعائي متعدد، وتوسع النسيج الضام بين الفصيصات المركزية في أماكن وتضيقه في أماكن أخرى من النسيج بسبب تراكم الفبرين (HE x 10)

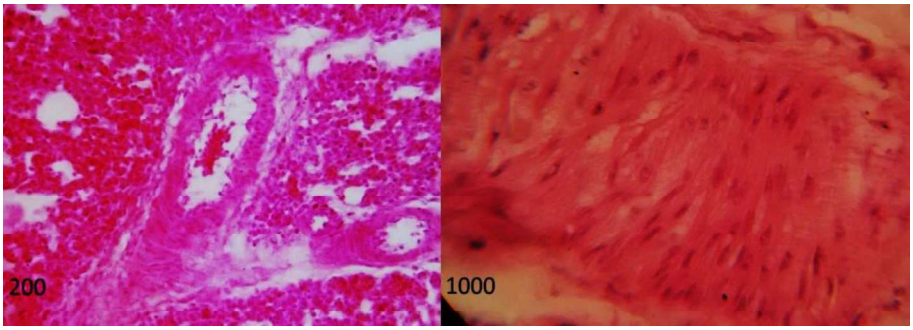


الشكل رقم (9): مقطع نسيجي للرئة يلاحظ تراكم الفبرين (التهاب فبريني)، وغياب الأهداب وتنكس وتضخم الغدد المخاطية وتراكم المخاط بداخلها، وارتشاح البلاعم واللمفاويات ووحيدات النوى والخلايا المحبحبة H&E×200



الشكل رقم 10: مقطع نسيجي في الرئة يوضح الظهارة التنفسية للقصيبة الأولية: يلاحظ تضخم المخاطية (السهم الأسود) وغياب الأهداب (الأسهم الخضراء) وتنكس(السهم الأزرق) ونخر(السهم الأصفر) في الغدد المخاطية وارتشاح الخلايا الالتهابية.

H&E×200



الشكل رقم 11: مقطع نسيجي في الرئة يظهر تخرب النسيج الضام بين الفصيصات المركزية، ونزف في القصيبات الثالثية وارتشاح البلاعم وثخانة في جدار الوعاء الدموي (الصورة على اليسار) H&E×200 ، ووجود ألياف الكولاجين والخلايا أرومة الليفية (تليف في النسيج الصورة على اليمين) H&E×1000

4_ المناقشة: Discussion

تعد أمراض الجهاز التنفسي بما فيها الأمراض التي تسببها المفطورات ذات أهمية كبيرة في تربية الدواجن لكونها أحد المسببات الأساسية في إحداث معدلات نفوق عالية عند قطعان الدجاج، وخاصة في حالات انعدام الأمن الحيوي، ومن المعروف أن المرض التنفسي المعقد ينطوي على أكثر من عامل مسبب بالوقت نفسه (32، 3,4,6)، يوجد العديد من أنواع المفطورات الممرضة التي تسبب داء المفطورات عند الدواجن ولعل أشهرها هو المفطورة الإنتانية الدجاجية Mycoplasma gallisepticum، والمفطورة الزليلية Mycoplasma senoviae، والمفطورة مليغريدس Mycoplasma melegridis، والمفطورة آيوا Mycoplasma iowae ، وتعد المفطورة MG و MS الأكثر إمراضا في مجال تربية الدواجن، أما المفطورة MM و MI فهي تصيب طيور الرومي بشكل أكبر مما تصيب الدواجن(5،13،21)، تعد المفطورة الإنتانية الدجاجية المسبب الرئيسي للمرض التنفسي المزمنchronic respiratory disease (CRD) وهي الأكثر خطورة من الناحية الاقتصادية بين باقي المفطورات الطيرية الممرضة (17)، وتعد أخماج المفطورات من الأمراض الواجب الإبلاغ عنها إلى مكتب الأوبئة الدولي (21)(OIE).

4-1- مناقشة نتائج الاختبار المصلي (الإليزا) المستخدم في الكشف عن أضداد المفطورة MG:

معروف أنه لا يمكن تشخيص الإصابة بالمفطورات بالاعتماد على العلامات السريرية وذلك لتشابهها مع العلامات السريرية للعديد من الأمراض التنفسية الأخرى (13,14,21)، ويمكن الكشف عنها باختبارات اخرى مثل اختبار PCR (تحليل تفاعل البلمرة التسلسلي – Polymerase chain reaction) واختبار تثبيط التراص الدموي، ويعد الاختبار المصلي وسيلة مفيدة في الكشف المبكر عن الإصابة بالمفطورات وبالتالي التحكم بالمرض والسيطرة عليه (12). كان الهدف من إجراء الاختبارات المصلية في هذه الدراسة هو تأكيد الإصابة في دجاج اللحم بأن سببها العدوى بالمايكوبلازما غاليسبتيكوم MG.

بالرجوع إلى نتائج الاختبار المصلي الذي أجري (الإليزا) نجد أن الانتشار المصلي للمفطورة الإنتانية الدجاجية مرتفع في الإصابات التنفسية وخاصة الإصابات المعقدة التي يشترك بها أكثر من عامل ممرض ولاسيما جراثيم الإشريكية القولونية، ويعتقد أن سبب ارتفاع نسبة الإصابة يعود إلى ظروف التربية السيئة وعمر الطيور المأخوذة منها العينة (40 يوما) وعوامل الإجهاد في الحظيرة مما يمهد إلى الإصابة.

4-2- مناقشة العلامات السريرية والصفات العيانية المشاهدة عند طيور الدراسة:

تشابهت العلامات السريرية التنفسية المسجلة في هذه الدراسة والتي لوحظت على طيور دجاج اللحم مع ما أشير إليه من علامات سريرية من قبل كل من (2,10,15,16,25,29,33) في نتائج أبحاثهم ودراستهم التي تم إجراءها على دجاج اللحم، ومع ذلك ذكرت العديد من الأبحاث بأن هذه العلامات السريرية غير كافية لتشخيص الإصابة بالمفطورات كونها تتشابه مع الأعراض السريرية للعديد من الأمراض التنفسية التي تصيب دجاج اللحم مثل كوليرا الطيور، ومرض نيوكاسل، ومرض التهاب القصبات المعدي، وإصابات الأنف والقصبات الالتهابية، وغيرها من أمراض الجهاز التنفسي (12,13,14,21,28).

4-3- مناقشة التغيرات المجهرية في المقاطع النسيجية للرئتين:

تم الإقرار منذ فترة طويلة بأن المايكوبلازما جاليسبتيكوم من مسببات الأمراض التنفسية المشتركة وخاصة في الدجاج وهي تؤدي إلى الكثير من الخسائر المادية والغذائية في تربية الدواجن.

تسبب العدوى بالمفطورة جاليسبتيكم غير المعقدة في الدجاج التهابا في الجيوب الأنفية بصورة معتدلة نسبياً والتهابا في القصبات الهوائية والتهابا في الشعب الهوائية، وغالباً ما تكون العدوى متزامنة مع الأشريكية القولونية وبالتالي تسبب ظهور المرض التنفسي المزمن (CRD)، وتؤدي إلى التهاب حاد و سماكة وضغط على الأكياس الهوائية، واحتقانا والتهابا شديدا

في الرئة مع تراكمات نضحيّة، والتهابا في التامور، والتهاب الكبد الفبريني (9,30, 31) وهذا يشابه ما لوحظ على الطيور المدروسة في هذا البحث.

من خلال الفحص النسيجي للرئات المصابة تبين ظهور النزف والاحتقان وارتشاح الخلايا الالتهابية (اللمفاويات، ووحيدات النوى، والخلايا المحبحبة) وتضخم الغدد المخاطية والكأسية وكانت هذه النتائج مطابقة لما ذكره كل من (3,11,20,27,31)، بالإضافة لبعض التغيرات النسيجية مثل وجود الخلايا أرومة الليفية ووجود ألياف الكولاجين(تليف الرئة)، وغياب الأهداب، وتوسع أو تضيق النسيج الضام بين الفصيصات المركزية، وتوسف الظهارة التنفسية وتنكسها، ووجود الفبرين (التهاب فبريني) الذي لم تشر إليه الدراسات المرجعية التي تم الاطلاع عليها، ويعتقد هنا أن الإصابة المعقدة بالإشريكية القولونية مع المايكوبلازما ولمدة طويلة أدت لتطور الإصابة في الرئتين وبالتالي تسببت في ظهور تغيرات نسيجية كالالتهاب الفبريني ونخر الغدد المخاطية وظهور مراحل التكبد الرئوي.

5- المراجع: References

1. Al-Hialli, A.A.A. and Al-Hamdani, A.H. (2009). A study of respiratory pathological lesions in broiler chickens. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, 23: 219-228.
2. Barot, J. (2011). Cultural and molecular detection of avian mycoplasmosis. M.V.Sc theses submitted to IVRI, Izatnagar.
3. BENCINA, D. and Dorrer, D., (1984). Demonstration of Mycoplasma gallisepticum in tracheas of healthy carrier chickens by fluorescent-antibody procedure and the significance of certain serologic tests in estimating antibody response. Avian Diseases, 28: 574-578.
4. Bradbury J. M. (2001). Avian Maycoplasmosis. In: Poultry Diseases. 5th ed. Jordan. D. and Raragher T. EDS. W. B. Sanders London, UK, 178-193
5. Bradbury, J. M., O. M. S. Abdul Wahab, C. A. Yavari, J. P. Dupiellet, and J. M. Bove. (1993). Mycoplasma imitans sp. nov. is related to Mycoplasma gallisepticum and found in birds. Int J Syst Bacteriol 43:721—728.
6. Bretz W L and Schmidt-Nielsen K (1971) Bird respiration flow patterns in the duck lung. J. Exp. Biol. 54: 103 – 118.
7. Dellmann H D and Eurell J A (1998) Veterinary Histology 5th (ed.): Lippincott William & Wilkins USA. Pp: 162 – 164.
8. Ficken, M. D. Respiratory System (1996).In.: Riddel, C., Editor. Avian Histopathology, 2nd ed. American Association of Avian Pathologists. Kennett Square, Pennsylvania.

9. Gharaibeh, S. and Al Roussan, D. (2008). The Use of Molecular Techniques in Isolation and Charaterization of Maycoplasma gallisepticum from Commercial Chickens in Jordan. Int. J. Poult. Sci, 7:28-35.

10. Hitchner, S.B.1949.The pathology of infectious sinusitis of turkeys.Poult Sci 28:106-118

11. Kempf,I.,Blachard, A., Gesbert, F., Guittet, M. and Bennejean, G.(1993). The polymerase chain reaction for Maycoplasma gallisepticum detection. Avian Pathology. 22: 739-750.

12. KLEVEN, S.H., (2003). Recent developments in diagnosis and control, in World Poultry, Vol. Mycoplasma Special, pp. 8-9.

13. Lakshmans,M.,Shashikumar,M.,andRajendranath, N. (2006). Pathology of lung affections in poultry – A field study. Indian Journal of Veterinary Pathology, 30: 4250-4758.

14. Landman, W. J. M. & Feberwee, A.(2001). Field studies on the association between amyloid arthropathy and Mycoplasma synoviae infection, and experimental reproduction of the condition in brown layers. Avian Pathology , 30,:629-639.

15. Ley,D.H.,(2003).Mycoplasma gallisepticum Infection.In:Saif,Y.M.,H.J.Barnes,J.R. Glisson, A.M. Fadly, L.R McDougald andD.E.Swayne(Eds.).Diseases of Poultry. Eleventh ed.Ames.Iowa, Iowa State Press,A Blackwell Publishing Company,USA.,pp: 722-744.

16. LEY, D.H., McLaren, J.M., Miles, A.M., Barnes, H.J., Miller, S.H. and Franz, G., (1997). Transmissibility of live Mycoplasma gallisepticum vaccine strains ts-11 and 6/85 from vaccinated layer pullets to sentinel poultry. Avian Diseases, 41: 187-194

17. Luna, L.G (1968): Manual of histologic staining method of armed forces institute of Pathology. 3rd (ed.) , Mc Graw. Hill Book Company. New york .

18. Maina J N, and Nathaniel C (2001) A qualitative and quantitative study of the lung of an Ostrich (Struthio camelus). J. Exp . Biol. 204: 2313 – 2330.

19. Neelu, Gupta. (2005). Pathomorphological changes in natural cases of lungs in chicken. pp .51 .In: Souvenir XXI Annual Convention of Indian Association of Veterinary Pathologists. 25-27 November, 2005, Department of Veterinary Pathology, Krantisinh Nana Patil College of Veterinary Science, Shirval, Satara, Maharashtra, India

20. OIE.(2008).MANUAL OF diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals .sixrth ed. International des Epizooties (word organization for animal health),paris,p,486(ISBN92-9044-510-66).

21. Pesek L(2000)The avian respiratory System, Winged Wisdom Pet Bird Magazine.pp:1–3
22. Reece.W.O(2005) Avian respiratory system morphology.In:Function Anatomy and Physiology of Domestic Animals,3rd (ed) ,Lippincott Williams and Wilkins. Pp:250– 268 Samuelson.D.A.(2007).Text book of Veterinary Histology.Saunders Elsevier.pp:246–248
23. Senti`es-Cue,G., Shivaprasad, H. L. and Chin, R. P.(2005).Systemic Maycoplasma synoviae infection in broiler chickens. Avian Pathology, 34(2), 137-142
24. Smallwood J E (2010) Selected topics in avian anatomy. Wild life Rehabilitators of North Carolina . pp : 21 – 24.
25. Stipkovits, L., Glavits, R. , Palfi, V. , Beres, A. , Egyed, L. , Denes, B., Somogyi, M. & Szathmary, S. (2012). Pathologic Lesions Caused by Coinfection of Mycoplasma gallisepticum and H3N8 Low Pathogenic Avian Influenza Virus in Chickens. Vet pathol., 49(2): 273-283
26. Thacker, E.L. (2006). Lung inflammatory responses. Veterinary Research, 37: 469-486.
27. Timurkaan, N., Yilmaz, F., Kilic, A. and Ozbey, G. (2008). Pathological and microbiological investigation on lung lesions of slaughtered broilers in the slaughter house. Journal of Animal and Veterinary Advances, 7: 1358-1363.
28. Van Roekel, H., J. E. Gray, N. L. Shipkowitz, M. K. Clarke, and R. M. Luchini. (1957). Etiology and pathology of the chronic respiratory disease complex in chickens. Univ Mass Agric Exp Stn Bull 486.
29. Whithear K. G., Harrigan K. E., Kleven S. H. (1996): Standardized method of aerosol challenge for testing the efficacy of Mycoplasma gallisepticum vaccines. Avian Dis. 40:654-660.
30. Yashpal, S. M., Devi, P. P. and Sagar, M. G. (2004). Detection of three avian respiratory viruses by single-tube multiplex reverse transcription –polymerase chain reaction assay. J. Vet.Diagn. Invest. 16:244-248.
31. Yilmaz, F., Timurkaan, N., KiliC, A., Kalender, H. and KilinC, U. (2011). Detection of Mycoplasma synoviae and Maycoplasma gallisepticum in chickens by immunohistochemical, PCR and culture methods. evue Med. Vet., 162, 2, 79-86.