

بررسی ارتباط هیستوپاتولوژی و الایزا در گله‌های مرغ مادر گوشتی دارای

تیترا سرمی نسبت به متاپنوموویروس‌های طیور (AMPV)

دکتر رضا گودرزی^{۱*} ، دکتر ایرج سهرابی حقدوست^۲ ، دکتر محمدجواد قراگزلو^۳

چکیده

به منظور بررسی و شناخت ضایعات و تغییرات هیستوپاتولوژیک ناشی از متاپنوموویروس‌های طیور سرم‌هایی از ۱۵ گله مرغ مادر گوشتی جمع‌آوری و مورد آزمایش الایزا قرار گرفت. بدنبال آن علائم بالینی، ضایعات کالبدگشایی و تغییرات هیستوپاتولوژیک در گله‌های مثبت و منفی ثبت شد و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS آنالیز گردید.

نتایج این مطالعه نشان داد که عفونت با متاپنوموویروس‌های طیور می‌تواند سبب علائم بالینی چون تورم سر و ملتحمه، آبریزش رقیق از چشم، خروج اکسودای آبکی تا چرکی از بینی و عطسه و سرفه شود. همچنین تغییرات ماکروسکوپی قابل توجه شامل حضور ادم ژلاتینی در زیر پوست سر، آماس، پرخونی و اکسودا در بوقک میانی بینی و به میزان کمتر در سینوس اینفرارابتال، اکسودای شفاف در نای و به مقدار کم تحلیل رفتن اویدوکت بود.

تغییرات میکروسکوپی قابل توجه با استفاده از رنگ‌آمیزی Hematoxylin and Eosin (H&E) در بافت‌های مختلف بوقک میانی بینی، سینوس اینفرارابتال و نای شامل موارد زیر بود: پرخونی، ادم، پوسته‌پوسته شدن اپی‌تلیوم و از بین رفتن مژک‌های مخاط بینی، افزایش فعالیت غدد و هیپرپلازی غدد موکوسی، نفوذ سلول‌های آماسی تک‌هسته‌ای در زیر مخاط بوقک میانی بینی.

این تغییرات به مقدار کمتر در سینوس اینفرارابتال و نای مشاهده گردید اما در سایر قسمت‌های مورد آزمایش مانند ریه، کبد، کلیه، اویدوکت، سکوم و طحال تغییرات عمده‌ای دیده نشد. همچنین مشخص گردید که اگرچه ضایعات حاصل از این ویروس اختصاصی نیست اما بررسی هیستوپاتولوژیک این ضایعات می‌تواند برای تأیید تشخیص الایزا مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: متاپنوموویروس طیور، هیستوپاتولوژی، مرغ مادر گوشتی

Study of histopathology and ELISA relationship in broiler breeder flocks with positive serum titre to Avian Metapneumovirus (AMPV)

Goodarzi. R¹, Sohrabi Haghdoust . I², Gharagozlo.M.J³

1-Department of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Borujerd Branch, Borujerd, Iran.

2-Department of Pathology, Faculty of specialised Veterinary sciences, Islamic Azad University, Science & Research Campus, Tehran, Iran.

3-Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.

To study lesions and histopathological changes of avian metapneumovirus, serum sample of 15 broiler breeder flocks were collected and tested by ELISA. Then clinical signs and gross lesions and histopathologic changes in positive and negative cases were recorded and were analyzed by SPSS data.

The results showed that Infection by AMPV can be tend to clinical signs such as swelling of head and conjunctiva, serous discharge of the eyes, serous to purulent discharge from the nostrils, sneezing and coughing. Noticeable macroscopic lesions included gelatinous edema in the subcutaneous tissue of the head, inflammation, congestion and exudate in the middle turbinate of the nose and with a mild Lesions in the infraorbital sinus, clear exudate in the trachea and slight oviduct regression. Major microscopic changes in the middle turbinate of the nose, infraorbital sinus, trachea, using haematoxylin and eosin staining were congestion, edema, epithelial exfoliation, deciliation, Increasing of glandular activity and hyperplasia in mucosal glands along with mononuclear Inflammatory Infiltration in submucosa of the middle turbinate. These lesions were lesser in the infraorbital sinus and trachea and were absent in the lung, liver, kidney, oviduct, caecum and spleen.

Although lesions from AMPV are not specific but histopathological lesions can be used for confirmation of ELISA, examination.

Key words: Avian metapneumovirus, Histopatholog, Broiler breeder

۱-گروه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد، بروجرد، ایران

۲-گروه پاتولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران

۳-گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

مقدمه

بیماری‌های حاصل از متاپنوموویروس‌های طیور که قبلاً به اسامی عفونت پنوموویروسی طیور (APV)، سندرم کله‌بادی (SHS)، رینوتراکئیت بوقلمون (TRT) و رینوتراکئیت طیور (ART) نامیده می‌شد یک عفونت حاد و بسیار مسری سیستم تنفسی فوقانی در بوقلمون، ماکیان و برخی از گونه‌های طیور است (۴، ۷، ۸، ۱۰، ۲۴، ۲۶). در بعضی از مناطق دنیا این بیماری بعد از آنفلوآنزا مهمترین بیماری تنفسی بوقلمون محسوب می‌گردد (۳). بیماری اولین بار توسط Buys & Dupreez (۱۹۷۰) در افریقای جنوبی مورد شناسایی قرار گرفت اما تا به امروز تقریباً از تمام کشورهای دنیا گزارش شده است (۱۰، ۱۸، ۲۶، ۴۱).

ویروس عامل بیماری RNA ویروسی از خانواده پارامیکسوویریده بوده (۳۸) که براساس تفاوت‌های موجود در آنالیز ردیف‌های نوکلئوتیدی ژن کدکننده پروتئین G ویروس (۲۹) و آنتی‌بادی منوکلونال (۹) و نیز ردیف‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی پیش‌بینی شده ژنها F و M به تحت‌تیپ‌های A، B، C، D طبقه‌بندی می‌شود (۴۱). اشکال شدیدتر بیماری احتمالاً ناشی از عفونت دوگانه یا ثانویه با میکروارگانسیم‌هایی چون بوردوتلا اویوم، اجرام شبه پاستورلایی، برخی از انواع مایکوپلاسماها، ارنیتوباکتریوم رینوتراکئیه آ *Ornithobacterium rinotrachea* (۳) و اشیریشیاکولای (۲۶) است که منجر به ابتلاء بالا و مرگ و میر متغیر می‌گردد (۱۰). در مزرعه، این بیماری غالباً به کرات در مرغ‌های مادر و به میزان کمتر در مرغ‌های تخمگذار گزارش شده است (۱۸).

متاپنوموویروس‌های طیور موجب خسارات اقتصادی قابل توجهی در پرندگان اهلی بصورت افزایش مرگ‌ومیر، تأخیر در رشد، افزایش تعداد لاشه‌های حذفی در کشتارگاه‌های طیور و کاهش تولید تخم مرغ

در گله‌های مادر (بوقلمون و ماکیان) می‌شود. همچنین در مزارع مرغ مادر و تخمگذار سبب کاهش تولید تخم مرغ و گاهی ضعیف‌شدن پوسته تخم مرغ می‌گردد (۲۱). علاوه بر این بیماری در پولات‌های بوقلمون سبب ابتلاء تا ۱۰۰ درصد و مرگ‌ومیر از ۵۰ تا ۱۰۰ درصد می‌گردد (۱۳). تنها در ایالات متحده آمریکا از زمان شیوع اولیه بیماری در سال ۱۹۹۷، سالیانه ۱۵ میلیون دلار به صنعت پرورش بوقلمون ایالت مینوسوتا خسارت وارد کرده است.

اپیدمیولوژی بیماری هنوز کاملاً درک نشده است (۵، ۳) اما ویروس در موارد سندرم تنفسی بسیار حاد (SARS) نیز مشاهده گردیده است (۲۲). علائم بیماری در ماکیان شامل تنفس منقطع (snick)، صداهای رال تنفسی، عطسه، آبریزش بینی تورم ملتحمه کف آلود، تورم سینوس زیر حدقه چشم و ادم زیر فکی است. ضایعات کالبد گشایی عمده شامل ادم وسیع ژلاتینی زرد رنگ تا چرکی در بافتهای زیر پوست ناحیه سر، گردن و ریش و التهاب در سینوس زیر حدقه چشم است (۳). اهمیت روزافزون و گسترش جهانی متاپنوموویروس‌های انسان و طیور و نیز خسارات اقتصادی حاصل از متاپنوموویروس‌های طیور انگیزه‌ای برای بررسی ضایعات کالبدگشایی و هیستوپاتولوژیکی ناشی از این ویروس و تأثیر آن بر روی گله‌های مرغ مادر گردید. ضمن آنکه پایه و زمینه مناسبی را برای مطالعات آینده و بررسی بیشتر این بیماری در ایران فراهم می‌آورد.

مواد و روش کار

به منظور پی‌بردن به حضور آنتی‌بادیهای حاصل از پاسخ ایمنی بدن نسبت به متاپنوموویروس طیور، تعدادی از گله‌های مرغ مادر بصورت تصادفی انتخاب شد و به نسبت

پوسته پوسته شدن و کنده شدن اپی تلیوم (Epithelial exfoliation) و ... براساس معیار (Dung worth) (1993) و بشرح زیر مورد درجه بندی (Scoring) قرار گرفت (۲۶).

۰ = ضایعه وجود ندارد، ۱ = ضایعه به میزان بسیار اندک، ۲ = ضایعه به میزان اندک، ۳ = ضایعه به میزان خفیف، ۴ = ضایعه به میزان متوسط و ۵ = ضایعه به میزان شدید.

نتایج

نتایج حاصل از انجام آزمایش الایزا بر روی ۱۵ گله مورد آزمایش نشان داد که دو گله از ۱۵ گله (۱۳/۳٪) از نظر حضور آنتی بادی AMPV مثبت بودند. گله شماره ۳ گله ای ۲۹ هفته با تولید ۸۱٪ از نژاد کاب (Cobb 500) و گله شماره ۷، با سن ۴۴ هفته و با تولید ۷۳٪ از نژاد راس (Ross) بود. در بررسی وضعیت ظاهری گله و مرغ و خروس هایی که علائم بیماری را نشان می دادند، مهمترین چهره بالینی که جلب توجه می کرد، تورم سر و صورت و ادم دورچشمی بود (نگاره ۱). این تورم اغلب یک طرفه و گاهی نیز دوطرفه بود. همچنین علاوه بر تورم سر در تعداد نسبتاً زیادی از نمونه ها آبریزش از بینی قابل مشاهده بود. در یک نمونه (از نمونه اخذ شده) از گله شماره ۳ ریزش مایع شفاف از چشم دیده شد. در بعضی از نمونه ها تورم سینوس اینفرارابتال و همزمان با آن خروج اکسودای شفاف و در یک نمونه خروج اکسودای چرکی از منخرین مشاهده گردید و در موارد خیلی کم تورم ریش نیز دیده شد. از دیگر علائم مشاهده شده در سطح گله عطسه و سرفه بخصوص در گله شماره سه بود. در این گله با کمی دقت، تنفس با دهان باز در تعداد کمی از مرغ و خروس های گله به چشم می خورد. همچنین علائم خواب آلودگی، بی حالی، افسردگی، سیخ شدن پرها و بی میلی به حرکت در درصد کمی از گله دیده می شد. در بررسی وضعیت تولید و

۱٪ گله نمونه برداری انجام گرفت و پس از انجام خونگیری از ورید زیر بال، هر سرنگ برچسب خورده و شماره گذاری گردید و مشخصات مربوط به گله در فرم مربوط به خود ثبت گردید. سپس سرنگها در شرایط مطلوب به آزمایشگاه انتقال داده شد. در آزمایشگاه خون درون هر سرنگ سانتریفوژ گردید و سرمی که به این طریق حاصل شد مورد آزمایش الایزا قرار گرفت. برای اجرای آزمایش الایزا از کیت Flock check APV Elisa Kit ساخت شرکت IDEXX استفاده گردید.

پس از انجام مراحل مختلف آزمایش الایزا میزان جذب نور نمونه ها در طول موج ۶۵۰ نانومتر مشخص شد و در صورتی که نسبت جذب نور نمونه به کنترل مثبت (S/P) برابر یا کمتر از ۰/۲ بود نتیجه منفی و در صورتی که S/P بزرگتر از ۰/۲ (تیترا بیشتر از ۳۹۶) بود نتیجه مثبت قلمداد می شد. پس از تعیین گله های مثبت و منفی، با مراجعه به هر یک از گله ها، علائم بالینی موجود در گله ثبت شد و پس از ذبح نمونه ها، کالبدگشایی صورت گرفت. در این مرحله پس از ثبت ضایعات عمومی موجود در لاشه ها بلافاصله جهت جلوگیری از اتولیز، نمونه برداری از بافت های مختلف مانند پوست سر، ملتحمه، بوقک میانی بینی، سینوس زیرچشمی (Infraorbital Sinus)، نای، ریه، اویدوکت، کلیه، دئودنوم و ... صورت گرفت. بطوریکه از هر یک از این قسمت ها مقاطعی به اندازه مناسب بریده و جدا شد و سپس در ظروف حاوی محلول فرمالین بافر ۱۰٪ به نسبت یک قسمت بافت و ۱۰ قسمت محلول فرمالین بافر قرار گرفت و پس از انتقال به آزمایشگاه هیستوپاتولوژی مقاطع تهیه شده با روش H&E مورد رنگ آمیزی قرار گرفتند (۱). به منظور سهولت بررسی مقاطع هیستوپاتولوژیک بافت های مختلف، ضایعات موجود در آنها از قبیل پرخونی، ادم، از بین رفتن مژکها (Deciliation)،

کدر و ضخیم بود و ریه‌ها در اغلب موارد سالم بود. در بررسی دستگاه تناسلی در موارد کمی اویداکت تحلیل رفته بود و در یک مورد کلفت شدن اویداکت و نیز حضور مقدار بسیار کمی از اکسودا بر روی آن دیده شد. پریتونیت ناشی از تخم‌مرغ نیز در یک مورد مشاهده گردید. در سایر موارد با مشاهده کلیه، کبد، طحال یا سکوم ضایعه خاصی مشاهده نگردید.

ب- یافته‌های هیستوپاتولوژیک

نتایج هیستوپاتولوژی نمونه‌های اخذشده از مرغ و خروس‌هایی که در تشخیص سرمی مثبت یا منفی بود و علائم بالینی و کالبدگشایی آنها نیز ثبت شده بود، به شرح زیر درجه‌بندی و ثبت شد:

- پوست ناحیه سر

در مواردی که تورم سر وجود داشت با برداشتن پوست ناحیه سر در قسمت ادماتوز، یک ادم زرد ژلاتینی شامل تجمع لنفوسیت‌ها و هتروفیل‌ها مشخص گردید. بعلاوه در برخی از قسمت‌ها اکسودای پنیری که دارای لنفوسیت و هتروفیل بود، مشاهده شد. همچنین در ناحیه دارای تورم در بعضی مواقع ادم و بافت همبند جوانه‌ای (Granulation tissue) حضور داشت.

- بوقک

در بررسی هیستوپاتولوژیک بوقک‌ها که با استفاده از سیستم نمره‌بندی (Scoring) شدت ضایعاتی چون ادم، پرخونی و ... درجه بندی گردید، در تمامی نمونه‌ها مواردی چون پرخونی، ادم، از بین رفتن مژکها، افزایش فعالیت غدد همراه با ترشح و هیپرپلازی آنها، نفوذ التهابی سلولهای تک‌هسته‌ای از جمله لنفوسیت‌ها، پلاسماسل‌ها، ماکروفاژها و همچنین هتروفیل‌ها و به تعداد کم دیو سلول مشاهده

تخم‌گذاری، با بررسی کارتهای ثبت روزانه و اخذ سابقه گله مشخص گردید که همزمان با شروع بیماری در گله نه تنها تولید روند افزایشی نداشته است بلکه به مدت ۵-۴ روز و به میزان ۲-۱ درصد کاهش در تولید وجود داشته است. اما با این حال وضعیت ظاهری تخم‌مرغ‌ها و درصد جوجه‌درآوری طبیعی بود. در ادامه بررسی گله هیچیک از علائم عصبی مانند تورتیکولیس (Torticollis)، حرکات تیک (Tic) یا اپیستوتونوس (Opisthotonus) مشاهده نگردید ولی میزان تلفات در هر دوگله بصورت افزایش مرغ و خروس‌های وازده افزایش نسبتاً کمی نشان می‌داد.

الف - یافته‌های کالبدگشایی

در کالبدگشایی نمونه‌های بدست آمده، پس از برداشتن پوست تعدادی از نمونه‌ها با تورم سرو بررسی نواحی از سینوس دور و زیرچشمی، در بیشتر موارد ادم ژلاتینی با رنگ کدر در زیر پوست و در برخی موارد مقدار کمی بافت همبند جوانه‌ای مشاهده گردید. بعلاوه در برخی از قسمت‌ها اکسودای پنیری و در موارد خیلی کمتر پوستول مشاهده شد. همچنین پرخونی و ادم در زیر پوست پلک نیمی از نمونه‌ها دیده شد (جدول ۱). با کالبدگشایی قسمت میانی بینی و مشاهده سطح بوقک‌ها، مخاط بینی در بیشتر موارد مرطوب بود. همچنین در بیشتر موارد التهاب و پرخونی و در موارد خیلی کمی پتشی ملایم بر روی مخاط بوقک و اکسودا در قسمت میانی حفره بینی قابل مشاهده بود. اما سینوس‌های اینفرا اربیتال کمتر مبتلا بود. همچنین در درون حفره سینوس، تنها در دو مورد اکسودا حضور داشت. با مشاهده نای، اغلب اکسودای شفاف بر روی سطح آن حضور داشت که در برخی موارد این اکسودا سرریزی یا موکوئیدی و کف‌آلود بود. در موارد کمی نیز مخاط نای، آماس و پرخونی را نشان داد. کیسه‌های هوایی در یک مورد

گردید (نگاره های ۲، ۳ و ۴). علاوه بر ضایعات عمومی که در تمامی اسلایدها مشاهده گردید، برخی از ضایعات به صورت انفرادی در هر یک از لامها وجود داشت. در نمونه شماره ۱، نکروز کانونی اپی تلیوم، افزایش ترشح موکوس و افزایش تعداد لنفوسیتها، از بین رفتن مژکها به شکل کانونهای کوچک و بزرگ مشاهده شد (نگاره ۲). در نمونه شماره ۲، علاوه بر موارد عمومی، وجود نکروز، کانونهای لنفاوی در اپی تلیوم، از بین رفتن مژکها به شکل کانونهای کوچک حضور داشت (نگاره ۴). در نمونه شماره ۳، همچنین نکروز کانونی اپی تلیوم بوقک و نیز فولیکولهای لنفاوی دیده شد. تجمع کانونی هتروفیلها و پوسته پوسته شدن اپی تلیوم و حضور خرده ریزه های بافتی (debris) در لومن بوقک مشاهده گردید (نگاره ۳). در نمونه شماره ۵، همچنین نکروز اپی تلیوم همراه با عفونت ثانویه با باکتریها، خونریزی، پوسته پوسته شدن اپی تلیوم، از بین رفتن مژکها بصورت کانونهای بزرگ و کوچک و نیز تجمع ترشحات موکوسی همراه با باکتری در لومن بوقک مشاهده شد. در نمونه شماره ۸، همچنین پوسته پوسته شدن اپی تلیوم و حضور آن در لومن بینی مشاهده گردید. ازم به ذکر است که در تمامی موارد اکسودای موجود از نوع غیرچرکی بود و فقط در بین آنها کانونهایی از تجمع هتروفیل وجود داشت. در مطالعه حاضر بررسی هیستوپاتولوژیک بوقکها که شدت ضایعات آن درجه بندی شده و در جدول (۲) درج گردیده است، نشان می دهد که تقریباً بیشتر ضایعات با آنچه که در موارد فیلدی SHS یا موارد تجربی آن در ماکیان یا بوقلمون رخ می دهد مشابهت دارد. خصوصاً مواردی چون پرخونی، ادم، از دست رفتن کانونی مژکها، افزایش فعالیت غدد همراه با ترشح و هیپرپلازی آنها، نفوذ التهابی سلولهای تک هسته ای مانند لنفوسیتها، پلاسماسلها، ماکروفاژها و

همچنین نفوذ هتروفیلها را می توان نام برد. (نگاره های ۳، ۴ و ۵)

- سینوس اینفرا ارییتال

در بررسی مقاطع هیستوپاتولوژیک سینوس اینفرا ارییتال در مواردی که این مقطع در سطح مقاطع به شکل آشکار قابل رؤیت بود ضایعات شبیه به بوقکها اما خفیف تر از آن بود. همچنین در درون لومن سینوسها، در بیشتر موارد اثری از اکسودا به چشم نمی خورد.

- نای

در بررسی نای ضایعاتی به صورت ادم، افزایش التهابی سلولهای تک هسته ای (لنفوسیت، پلاسماسل)، افزایش سلولهای لنفوئیدی و بندرت یک التهاب حاد دیده شد. همچنین ضخامت مخاط افزایش یافته بود. اما تعداد مژکها اغلب طبیعی و مژکها دست نخورده بود.

- ریه

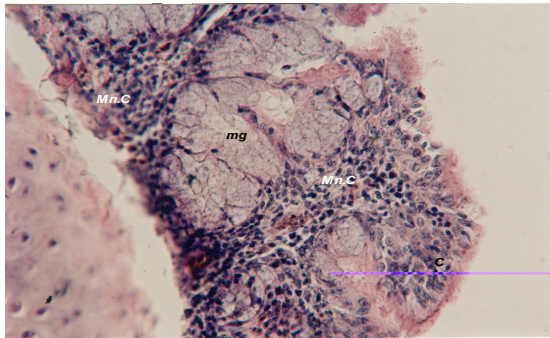
در ریه ضایعات میکروسکوپی در موارد کمی بصورت ادم، پرخونی شدید، هیپرپلازی بافت لنفوئیدی، نفوذ تعداد اندکی هتروفیل در پیرامون پارابرونشها، از بین رفتن مژکها در تعدادی از سلولهای اپی تلیال و ضخیم شدن بافت عضلانی برونشها دیده شد. در یکی از نمونه ها پنومونی حاد و آنتراکوز نیز حضور داشت. در سایر موارد ضایعه خاصی در ریه دیده نشد. در کیسه های هوایی ضایعه میکروسکوپی اغلب مشاهده نگردید.

- اویداکت

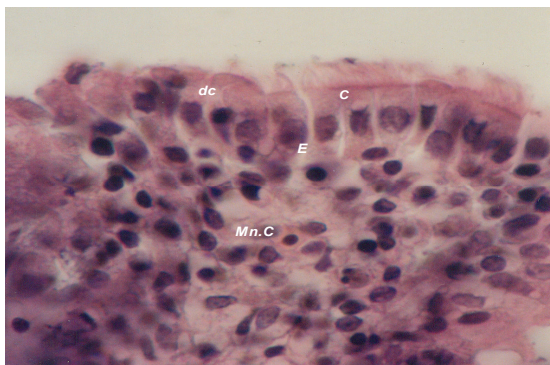
در بررسی هیستوپاتولوژیک مقاطع اویدوکت بجز نفوذ متوسط سلولهای التهابی (تک هسته ای و هتروفیل) در یک مورد، در سایر موارد ضایعه خاصی مشاهده نگردید.

- طحال

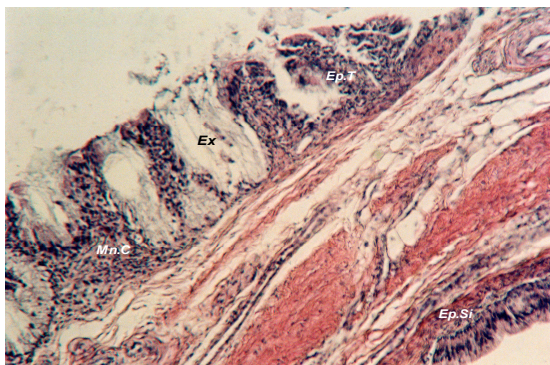
در بررسی نمونه ها هیچ ضایعه خاصی وجود نداشت.



نگاره ۲- منظره ریزبینی مخاط بوقک میانی بینی مرغ نگاره ۱؛ هیپرپلازی و افزایش ترشح غدد موکوسی (mg)، نفوذ سلولهای تک هسته‌ای (mn.c) و کندن شدن سطح مخاط. H&E



نگاره ۳- منظره ریز بینی مخاط بوقک میانی بینی؛ نفوذ سلولهای تک هسته‌ای (mn.c) و هتروفیل، پوسته پوسته شدن مخاط (Ex). H&E



نگاره ۴- منظره ریزبینی مخاط بوقک میانی بینی؛ از دست رفتن کانونی مژکها (dc) در کنار اپی تلیوم مژک دار (C و E) و افزایش سلولهای تک هسته‌ای (mn.c). H&E

تنها در یکی از نمونه‌ها تجمع تعداد قابل توجهی هموسیدروفاز و هتروفیل منتشر دیده شد.

- سکوم

در بررسی هیستوپاتولوژیک مقاطع سکوم به عنوان بخشی از روده هیچ ضایعه‌ای مشاهده نگردید.

- کبد

در کبد عموماً ضایعه‌ای مشاهده نگردید جز یک مورد که کانوهای نکروز همراه با انفیلتراسیون هتروفیلی در مرکز کانوهای نکروزه و التهاب دریافت کبد وجود داشت.

- کلیه

در بررسی میکروسکوپی کلیه عموماً موردی مشاهده نشد جز یک مورد که پرخونی و افزایش میزان بافت لنفوئیدی در بافت بینابینی حضور داشت.

آنالیز داده‌ها

روش آماری مورد استفاده برای آنالیز داده‌های این مطالعه، روش تحلیل همبستگی بود. بدلیل آنکه نمره بندی ضایعات و تیتراژها هر دو متغیر کیفی هستند بنابراین از ضریب همبستگی اسپیرمن (Spearman) که یک ضریب Non Parametric است، استفاده شد و مشخص گردید که هر دو متغیر از نظر آماری رابطه مستقیم دارند ($P < 0.05$)



نگاره ۱- حالت ظاهری مرغ مبتلا به سندرم کله بادی (SHS)؛ با علائم بالینی تورم سر و سینوس اینفرا ارییتال. H&E

جدول ۱: تعداد و درصد ضایعات ماکروسکوپی مشاهده شده در مرغ و خروس گله های شماره ۳ و ۷ که در آزمایش الایزا نسبت به AMPV مثبت بودند.

نوع ضایعات ماکروسکوپی لاشه	ادم ژلاتینی موجود در زیر پوستهای متورم	بافت همبند جوانه ای در زیر پوست های متورم	پرخونی و ادم در زیر پوست پیک	آماس، پرخونی و اکسودا در حفره بینی	آماس، پرخونی و اکسودا در سینوس اینترا اریبنال	آماس و پرخونی در نای	اکسودای شش ف در نای	وجود ضایعه در ریه	کدورت کیسه های هوایی	تحلیل رفتن اویدوکت	پریتونیت ناشی از زرده	ضایعات کلیه، طحال یا سکوم
گله شماره ۳	۴	۰	۲	۴	۱	۱	۴	۱	۱	۱	۱	۰
درصد علائم بالینی	۱۰۰٪	۰	۵۰٪	۱۰۰٪	۲۵٪	۲۵٪	۷۵٪	۲۵٪	۲۵٪	۲۵٪	۲۵٪	۰
گله شماره ۷	۳	۱	۲	۳	۱	-	۴	-	-	۱	۰	۰
درصد علائم بالینی	۷۵٪	۲۵٪	۵۰٪	۷۵٪	۲۵٪	۰	۱۰۰٪	۰	۰	۲۵٪	۰	۰
تعداد کل	۷	۱	۴	۷	۲	۱	۷	۱	۱	۲	۱	۰
درصد نسبی	۸۷/۵٪	۱۲/۵٪	۵۰٪	۸۷/۵٪	۲۵٪	۱۲/۵٪	۸۷/۵٪	۱۲/۵٪	۱۲/۵٪	۲۵٪	۱۲/۵٪	۰

جدول ۲: درجه بندی (Scoring) شدت ضایعات هیستوپاتولوژیک بوفک میانی در هر یک از نمونه های مربوط به گله های دو و سه

جمع کل نمرات گله و درصد نسبی آن	درصد نسبی ضایعات هر نمونه	جمع نمره	حضور ماکروفاژ	نفوذ هتروفیل	نفوذ تک هسته ایها		افزایش ترشح و هیپر پلازی غدد موکوسی	از بین رفتن مژکها	پوسته پوسته شدن اپیتلیوم	ادم	پرخونی	شماره نمونه	شماره گله
					پلاسماسل	لنفوسیت							
گله سه ۵۰٪	۴۴٪	۴۰	+۴	۰	+۲	+۳	+۳	+۳	۰	+۱	+۴	۱	۴
	۳۳٪	۱۵	۰	+۱	+۱	+۳	+۲	+۲	۰	+۲	+۴	۲	۳
	۸۰٪	۳۶	+۱	+۴	+۵	+۵	+۴	+۵	+۴	+۳	+۵	۳	۳
	۴۲٪	۱۹	۰	+۱	+۲	+۴	+۳	+۳	۰	+۲	+۴	۴	۳
گله دو ۴۹٪	۶۰٪	۲۷	۱	+۲	۰	+۲	+۴	+۵	+۴	+۴	+۵	۵	۷
	۴۲٪	۱۹	۰	+۲	+۴	+۲	+۲	+۳	۰	+۲	+۴	۶	۷
	۴۲٪	۱۹	۲	+۲	+۲	+۲	+۲	+۴	۰	+۲	+۳	۷	۷
	۵۳٪	۲۴	۰	+۲	+۴	+۴	+۱	+۳	+۳	+۳	+۴	۸	۷
			۱۵٪	۴۰٪	۵۰٪	۵۰٪	۴۵٪	۷۵٪	۳۵٪	۵۵٪	۸۰٪	در صد ضایعه	

روش درجه بندی: ۰=دون ضایعه، ۱=ضایعه بسیار اندک، ۲=ضایعه اندک، ۳=ضایعه خفیف، ۴=ضایعه متوسط، ۵=ضایعه شدید.

توضیح: در تمامی نمونه ها اکسودا از نوع غیر چرکی است. فقط در بین آنها کانونهایی از هتروفیل وجود دارد.

بحث

در مطالعه حاضر همانگونه که در آزمایش الایزا مشخص گردید دو گله یعنی ۱۳/۳ درصد گله‌های مورد آزمایش از نظر حضور آنتی‌بادی AMPV مثبت بودند. نتیجه مثبت در آزمایش الایزا در اثر واکسیناسیون بر علیه این بیماری یا درگیری طبیعی با این ویروس حاصل می‌شود اما بررسی تاریخیچه گله‌های مورد آزمایش هیچ سابقه‌ای از واکسیناسیون در مقابل این ویروس را نشان نمی‌دهد، بنابراین می‌توان نتیجه مثبت را به درگیری این دو گله با ویروس طبیعی نسبت داد. در این رابطه جزئیات بیماری در بوقلمون و ماکیان در بسیاری از مناطق دنیا به تفصیل بیان گردیده است. علائم بالینی مشخص در پولت‌های بوقلمون شامل، تنفس منقطع، صداهای رال تنفسی، عطسه، آبریزش بینی، آماس ملتحمه کف‌آلود، تورم سینوس اینفرا ارییتال و ادم تحت فکی است. سرفه و تکان دادن سر نیز به کرات بویژه در پولت‌های بالغ دیده شده، بعلاوه پرولاپس رحم ناشی از سرفه در بوقلمونهای پرورشی مشاهده شده است (۳).

Jirjis و همکاران (۲۰۰۲) در عفونت تجربی به AMPV قابل توجه‌ترین ضایعات را آبریزش از بینی، تورم سینوس‌های اینفرا ارییتال و ترشحات کفدار از چشم ارزیابی کردند (۱۵). Panigrahy و همکاران (۲۰۰۰)، Turpin و همکاران (۲۰۰۲) نیز علائم عطسه، افسردگی، رینوتراکئیت، اکسودای بینی و در موارد شدیدتر بیماری تکان دادن سر، تورم سینوس‌ها و افزایش ابتلاء و مرگ و میر را در تلقیح تجربی AMPV به بوقلمون مشاهده نمودند (۴۱، ۳۴). Alkhalaf و همکاران (۲۰۰۲) نیز علائم خفیف تنفسی شامل اکسودای بینی و افسردگی را تا روز ۷ پس از تلقیح ویروس به بوقلمون مشاهده کردند (۴).

Majo و همکاران (۱۹۹۵) علائم بالینی تلقیح تجربی AMPV را به جوجه‌های سه هفته، پولت‌های بوقلمون ۳ هفته و مرغ‌های مادر گوشتی ۲۷ هفته علاوه بر تعدادی از موارد

فوق، حضور ترشحات موکوئیدی در زمانی که نوک به ملایمت و از پشت منخرین تحت فشار قرار می‌گیرد ذکر کردند و نیز بدنبال فعالیت پرندگان تنفس مشخصاً دهانی و تنفس نفس زدن را مشاهده نمودند (۲۴). در تحقیق Majo و همکاران (۱۹۹۷) در جوجه‌های ۱۵ روزه مورد تلقیح با AMPV علائم خواب‌آلودگی، سیخ‌شدن پرها، آبریزش چرکی از بینی و احتقان ملتحمه دیده شد (۲۶). Jones و همکاران (۱۹۸۸) در موارد تجربی کاهش تولید را تا ۷۰٪ در بوقلمونهای تخمگذار گزارش کردند (۲۰).

همچنین Stuart و همکاران (۱۹۸۹) و Cook و همکاران (۱۹۹۶) نشان دادند که AMPV سبب ضعیف شدن تخمگذاری در بوقلمونهای تخمگذار پرورشی می‌شود (۱۱). Morley و Thomson (۱۹۸۴) در وقوع فیلیدی SHS، اولین علامت را در روز اول عطسه و تنفس منقطع ذکر کردند که فرم‌شدن ملتحمه همراه با تورم غدد اشکی و سپس ادم زیرپوستی که از اطراف چشم شروع و به بالا و نیز پائین سر (بافت‌های فک پائین و ریش) کشیده می‌شود، نیز دیده شده است. خارانندن سر و کاهش تولید تخم‌مرغ از علائم دیگر SHS است و گاهی احتضار و مرگ و میر در مراحل بعدی نیز دیده می‌شود (۲۷). Wyeth و همکاران (۱۹۸۷) علائم SHS را در مرغ‌های مادر، سرفه، تورم سینوس دور و زیرچشمی، تورتیکولیس، اپیستوتنوس، عدم هماهنگی در قسمت‌های مختلف بدن، بی‌میلی به حرکت و در پایان مرگ و میر بدلیل ناتوانی در دریافت غذا ذکر می‌کنند (۴۲). O'Brein و همکاران (۱۹۸۵) نیز علائم SHS را در ۱۱ گله مرغ مادر گوشتی، تورم سر، افسردگی شدید، تورتیکولیس، حرکات تکراری سر، اپیستوتنوس، بی‌حالی و مرگ و میر در اثر عدم دسترسی به غذا ذکر کردند. میزان مرگ و میر نیز ۵-۴٪ و میزان کاهش تولید تخم‌مرغ ۳-۲٪ بود (۳۳). Perelma و همکاران (۱۹۸۸) نیز علائم بالینی را

شامل ادم شدید سر و صورت، بطوریکه منجر به بسته شدن چشم‌ها می‌گردید، ذکر کردند. ادم به بافت‌های زیر فک و گردن کشیده شده و فقط در تعداد کمی از ریش‌ها تورم دیده شد. (۳۶).

همانطور که ملاحظه می‌شود علائم بالینی ابتلاء به AMPV چه در شکل تجربی و چه بصورت طبیعی در ماکیان و بوقلمون تا حد زیادی مشابهت دارد. در ماکیان عمده‌ترین علائم بالینی بیماری علائم تنفسی و تورم مشخص سر و صورت ناشی از تورم سینوس دور چشمی و زیرچشمی است. بعلاوه گاهی علائم عصبی تورتیکولیس، کج شدن ستون مهره و اپیستونوس نیز دیده می‌شود. در مطالعه حاضر عمده‌ترین علائم بالینی شامل تورم سر و صورت ناشی از ادم دور و زیرچشمی بود بطوریکه در تمام نمونه‌های (۸ نمونه) جدا شده از هردو گله تورم سر و صورت و در نیمی از موارد تورم ملتحمه مشاهده شد. این یافته‌ها مطابق با اغلب مشاهدات بالینی SHS است. همچنین در تعداد زیادی از نمونه‌ها علائم آبریزش از بینی و در یک مورد آبریزش از چشم مشاهده شد. خروج اکسودای شفاف از بینی بطور قابل توجهی دیده شد و سایر علائم تنفسی مانند عطسه و سرفه بخوبی در نمونه‌ها دیده می‌شد، اما برخلاف مشاهدات Wyeth (۱۹۸۷) و O'Brein (۱۹۸۵) علائم عصبی در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نگردید. Hafez (۱۹۹۳)، Lu (۱۹۹۴) و Tanaka (۱۹۹۵) در موارد شیوع SHS، ضایعات کالبدگشایی مهم را، ادم ژلاتینی وسیع و زردرنگ چرکی در بافت پوست ناحیه گردن و ریش و احتقان مخاط این ناحیه و درجات مختلفی از تورم سینوس اینفرارابتال ذکر کردند (۳، ۲۳، ۴۰). همچنین ملاحظه گردیده که اگر در طول شیوع طبیعی بیماری در فیلد، میکروبه‌های پاتوژن سبب تشدید بیماری گردند، تورم کیسه‌های هوایی، پنومونی، پریکاردیت و پری‌هپاتیت نیز مشاهده می‌گردد (۳).

Majo و همکاران (۱۹۹۷) در تلقیح تجربی AMPV به جوجه‌های ۱۵ روزه، با کالبد گشایی همه پرنندگان در روز ۵ بعد از تلقیح ویروس، احتقان بینی و حضور فراوان موکوس غلیظ در حفره بینی و سینوس اینفرارابتال را نشان دادند. همچنین در یکی از پرنندگان ذبح شده که افسرده بود، ادم دور چشمی و ادم پلک در یک طرف سر و احتقان و تورم فیبرینی کیسه‌های هوایی و پریکارد دیده شد. در همه پرنندگان در روزهای ۹ و ۱۰ فقط احتقان بینی و حضور موکوس و ادم در حفره بینی و سینوس‌های تحت حدقه‌ای مشاهده شد. در روزهای ۱۴ و ۱۸ احتقان بوقک‌های بینی و حضور موکوس در حفره بینی تنها یافته قابل توجه بود (۲۶). Nunoya و همکاران (۱۹۹۱) و Droual و همکاران (۱۹۹۴) در موارد وقوع فیلیدی SHS ضایعات کالبدگشایی را به صورت تورم سر ناشی از ادم ژلاتینی وسیع پوست صورت و بافت‌های دور چشم و حضور مقادیر مختلفی از اکسودای پنیری در غدد اشکی، کیسه ملتحمه و بافت زیرپوست صورت ذکر کردند. همچنین در برخی موارد اکسودای نکروتیک منعقدشده کازئوز، در اندازه‌های مختلف دیده شد (۱۲، ۳۲). O'Brein و همکاران (۱۹۸۵)، Preleman و همکاران (۱۹۸۸) و Jones و همکاران (۱۹۹۱) و در گله‌های مرغ مادر گوشتی، مبتلا به SHS، آماس بافت ملتحمه چشم و ادم شدید زیرپوستی را در ناحیه سر، صورت و بافت‌های اطراف آن مشاهده کردند (۱۹، ۳۳، ۳۶). در مطالعه حاضر با انجام کالبدگشایی در قسمت‌هایی از سر که دارای تورم بود در بیشتر موارد یک ادم ژلاتینی با رنگ کدر مشاهده گردید که مطابق با یافته‌های قبلی در مورد این بیماری است (بیشتر در نمونه‌های گله شماره ۳). با انجام کالبدگشایی بینی، مخاط آن در بیشتر موارد مرطوب بود و حضور اکسودا در این ناحیه جلب توجه می‌کرد که اغلب بیشتر از سینوس اینفرارابتال بود.

می‌توانند سبب آسیب به قسمت فوقانی مجرای تنفسی ماکیان و بوقلمون گردند.

Morley و Thomson (۱۹۸۵) در وقوع فیلیدی SHS در مرغ‌های مادر در زیرپوست ادماتوز سر، ادم زردرنگ تا چرکی شامل تجمع هتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها (پلی‌سروزیت - Polyserositis) را مشاهده کرد (۲۷). اما O'brein و همکاران (۱۹۸۵) در چندین مورد وقوع SHS در مرغ‌های مادر ۵۲-۲۴ هفته ضایعات سر را که شباهتی به سلولیت نداشتند، مشاهده کردند. با برداشتن پوست سر در این ناحیه ادماتوز، اکسودای پنییری دارای هتروفیل و لنفوسیت دیده شد (۳۳). در تحقیق Alexander و همکاران (۱۹۹۱) در ماکیان مبتلا به SHS علاوه بر ضایعات صورت، بطور معمول علائم عصبی خصوصاً در گله‌های مرغ مادر حضور داشت (۲۶). این یافته‌ها کمابیش در مطالعات دیگر بدست آمده است (۲، ۱۲، ۲۳، ۲۴، ۳۲، ۳۵، ۳۹).

برخلاف تجربیات و مشاهدات فوق Nakamura و همکاران (۱۹۹۸) در تلقیح AMPV و اشرشیا کلای به جوجه‌های سن ۴ هفتگی هیچ ضایعه معنی‌داری (از نظر کالبدگشایی و هیستوپاتولوژیک) در پوست سر و صورت و مجرای تنفسی فوقانی مشاهده نکردند (۲۸). در مطالعه حاضر نتایج هیستوپاتولوژی نمونه‌های اخذ شده که دارای تورم سر بودند، با موارد وقوع طبیعی SHS همخوانی داشت و یک ادم زرد ژلاتینی شامل تجمع لنفوسیت‌ها و هتروفیل‌ها را نشان داد، که در برخی از قسمت‌ها دارای اکسودای پنییری بود. همچنین در برخی مواقع ادم و بافت همبند جوانه‌ای نیز مشاهده گردید. در این مطالعه مواردی چون پرخونی فعال، گرانولوم‌های کلی‌فرمی و اکسودای فیبرینی نیز مشاهده نگردید. همچنین در ملتحمه و غدد اشکی نیز آماس دیده نشد. بررسی هیستوپاتولوژیک بوقک‌ها در پولت‌های بوقلمونی که مورد تلقیح

مواردی همچون ادم و پرخونی نیز بر روی مخاط بوقک بیشتر از سینوس‌ها دیده می‌شد که براساس تجربه Majo (۱۹۹۷) این امر قابل توجیه است. با بررسی مخاط نای در بیشتر موارد حضور یک اکسودای شفاف مشاهده شد. همچنین آماس و پرخونی به میزان کم (در نمونه‌ای از گله شماره سه) حضور داشت. سایر موارد چون وجود ضایعه در ریه، کدورت کیسه‌های هوایی و پریتونیت ناشی از تخم‌مرغ نیز به میزان خیلی کم مشاهده شد. اما در کلیه، کبد، طحال یا سکوم ضایعه خاصی تعیین نگردید. ضایعات هیستوپاتولوژی شاخص SHS شامل تورم صورت ناشی از سلولیت (Cellulitis)، بلغاریت (BlePHaritis)، پیری‌افتالمیت (PerioPhtalmitis)، التهاب سینوس اینفرا اریبتال است. گاهی پان‌افتالمیت چرکی (Purulent panophthalmitis) و سروزیت (Serositis) (پریکاردیت و پری‌هپاتیت) فیبرینی چرکی نیز وجود دارد (۲۸). همچنین در موارد بالینی SHS که اشرشیا کلای نیز جدا گردیده علائم زیر مشاهده شده است: ادم دور چشمی، رینیت چرکی شدید، التهاب نای، تورم فیبرینی کیسه‌های هوایی، پریکاردیت، نکروز فولیکولهای لنفاوی پالپ سفید طحال و تخلیه لنفوسیتی بورس فابرسیوس (۲۷، ۳۱، ۳۳). در مطالعات Majo و همکاران (۱۹۹۶) و Catteli و همکاران (۱۹۹۸) عفونت تجربی ماکیان به AMPV (جدا شده از ماکیان یا بوقلمون) یافته‌های هیستوپاتولوژیک مشابهی با ابتلاء تجربی بوقلمون به AMPV داشت (۲۶، ۶). نتایج مشابهی نیز با جزئیات بیشتر در سایر مطالعات بدست آمده است (۳). همچنین مطالعات هیستوپاتولوژیک در زمینه تلقیح تجربی AMPV به پولت‌های بوقلمون به تفصیل بیان شده است (۱۵، ۱۷، ۲۴، ۳۰، ۳۴). در مجموع نتایج این مطالعات نشان می‌دهد که متاپنوموویروس‌های طیور

تجربگی AMPV قرار گرفته‌اند در روز اول و دوم تغییرات زیر را نشان می‌داد: افزایش موضعی فعالیت غدد، از دست دادن کانونی مژکها، احتقان، نفوذ خفیف یا هیپرپلازی سلولهای تک‌هسته‌ای (لنفوسیت، پلاسماسل، ماکروفاژ) و هتروفیل در زیر مخاط همین ناحیه (۳۰، ۲۴، ۱۷، ۱۵). در تجربه‌ای Majo و همکاران (۱۹۹۷) با ابتلاء تجربی جوجه‌های ۱۵ روزه و تلقیح آنها با اشرشیا کلای در ۴ روز بعد همان نتایج قبلی را اما با شدت بیشتری بدست آوردند (۲۶). همچنین Jones و همکاران (۱۹۸۷) در آلودگی تجربی جوجه‌های گوشتی سه هفته با AMPV، در روز ۴ بعد از تلقیح ویروس به مقدار کم نفوذ کانونی هتروفیل‌ها را در اپی‌تلیوم پرخون (Congested) بینی مشاهده کردند (۳۰). در تجربه Catteli و همکاران (۱۹۹۸) یافته‌های هیستوپاتولوژیک در بافت‌های بینی، سینوس‌ها و نای مشابه نتایج Jones و Majo (۱۹۹۵) بود. با این تفاوت که برخلاف تجربه Jones نفوذ هتروفیل در لامینا پروپریا مشاهده نشد. همچنین برخلاف تجربه Majo اکسودای چرکی در لومن حفره بینی دیده نشد. Catteli و همکاران (۱۹۹۸) تغییرات میکروسکوپی را فقط در مجرای تنفسی مشاهده نمودند. همچنین قابل توجه‌ترین ضایعات در بوقک‌های بینی در روزهای ۳ و ۱۰ بعد از تلقیح ویروس و تقریباً همیشه در سمت داخل بوقک حلزونی بود و هیچگاه تمام مخاط تحت تأثیر قرار نمی‌گرفت و آسیب بافتی هم سریعاً پایان می‌پذیرفت. همچنین تورم و واکنش شدن اپی‌تلیوم استوانه‌ای شبه مطبق و گاهی تجمع سلولهای لنفوییدی و مسطح شدن و عاری از مژه شدن سلولهای اپی‌تلیال در بوقک‌ها مشاهده گردید (۶). Vande Zande و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که عفونت دوگانه AMPV با E.Coli در پولات‌های بوقلمون سبب از دست رفتن یکپارچگی سلولهای

اپی‌تلیال سیستم تنفسی می‌شود (۴۲) همچنین مطالعات دیگری با کسب همین نتایج صورت پذیرفته است (۳۹، ۳۷، ۱۵). برخلاف نتایج ذکر شده در بالا Chary و همکاران با تلقیح AMPV به پولات‌های بوقلمون دو هفته از دست دادن مژکهای اپی‌تلیوم بوقک و نای را مشاهده نکردند (۷). در مطالعه Jirjis نیز مژکهای بینی و نای سالم باقی ماندند (۱۵). علاوه بر مطالعات انجام شده در زمینه ابتلاء تجربی ماکیان یا بوقلمون به AMPV، در موارد ابتلاء طبیعی به این ویروس، ضایعات هیستوپاتولوژیک مشابهی در مجرای بینی ایجاد می‌شود (۱۲، ۲۳، ۲۷، ۴۱). ضایعات هیستوپاتولوژیک سینوس‌های اینفرا ارییتال در مطالعات مختلف مورد بررسی قرار گرفته است.

Majo و همکاران (۱۹۹۷) در تلقیح تجربی AMPV به ماکیان تجمع هتروفیل را در فضای خلفی سینوس‌های اینفرا ارییتال و درست در زیر حلقه چشم مشاهده نمودند. علاوه وسعت مواد چرکی از سینوس‌های اینفرا ارییتال تا کیسه‌های هوایی استخوانهای قدامی در قاعده جمجمه و تا بافت همبند دور چشمی بود (۲۶).

Catteli و همکاران (۱۹۹۸) و Majo و همکاران (۱۹۹۵) در نتایج مشابه ملاحظه نمودند که در زمان درگیری با AMPV سینوس و نای همیشه متأثر هستند. اما تغییرات التهابی کمتر مشهود است و ظرف مدت کوتاهی به پایان می‌رسد. همچنین مخاط سینوس از روز ۴ تا ۷ بعد از تلقیح ویروس دارای هیپرپلازی است و پوسته پوسته شدن اپی‌تلیوم استوانه‌ای مژکدار حضور دارد. تغییرات در اپی‌تلیوم با احتقان، ادم، خونریزی و نفوذ سلولهای تک‌هسته‌ای در پارین و در لومن با حضور اکسودای موکوسی همراه است. بعد از آن تنها از بین رفتن کانونی مژکها و بندرت نفوذ سلولهای تک‌هسته‌ای تا روز ۱۸ دیده می‌شود (۶). برخلاف تجربیات مذکور O'brein و همکاران

حاضر بطور معمول ادم، افزایش التهابی سلولهای تک‌هسته‌ای و افزایش سلولهای لنفونیدی مشاهده گردید. بعلاوه ضخامت مخاط نای افزایش یافته بود ولی با آنکه در برخی از قسمت‌ها، مژکها از دست رفته بود، اغلب تعداد مژکها طبیعی به نظر می‌رسید. حضور اکسودای التهابی در لومن برونش‌ها، افزایش فعالیت غده‌ای، هیپرپلازی اپی‌تلیوم برونش‌ها و حضور التهابی و فراوان سلولهای تک‌هسته‌ای در زیر مخاط برونش‌هایی که بطور قابل ملاحظه‌ای قطر لومن آنها کاهش یافته بود، قابل توجه بود (۲۶،۲۷،۳۲).

برعکس در تجربه‌های Catteli (۱۹۹۸) Turpin (۲۰۰۲) Al-Ankari (۲۰۰۱)، Alkhalaf (۲۰۰۲) و Jirjis (۲۰۰۲) اگرچه عمده‌ترین تغییرات هیستوپاتولوژیک در قسمت‌های فوقانی دستگاه تنفس حضور داشت؛ هیچ تغییر هیستوپاتولوژیک در ریه پرندگان مورد آزمایش مشاهده نگردید (۶،۷،۱۵). در مطالعه حاضر ضایعات میکروسکوپی ریه اغلب بصورت ادم، پرخونی شدید، هیپرپلازی بافت لنفونیدی و نفوذ تعداد اندکی هتروفیل در پیرامون پارابرونش‌ها بود. همچنین در تعدادی از سلولهای اپی‌تلیالی مژکها از بین رفته بود و ضخیم شدن بافت عضلانی برونش‌ها نیز مشاهده شد. سایر تغییرات مانند افزایش فعالیت غده‌ای و هیپرپلازی اپی‌تلیوم و نفوذ هتروفیل‌ها در لومن پارابرونش دیده نشد. علاوه بر این در این مطالعه کیسه‌های هوایی نمونه‌های مورد آزمایش سالم وبدون تغییر بودند. ضایعات هیستوپاتولوژیک مجرای تولیدمثلی ماکیان و بوقلمونهایی که به صورت تجربی یا طبیعی به AMPV مبتلا شده‌اند می‌تواند گاهی کاهش شدید تولید تخم‌مرغ، خصوصاً در زمانی است که عفونت ثانویه حضور داشته باشد (۱۱،۱۴،۳۰) Anonymous و همکاران (۱۹۸۵) و Lister و همکاران (۱۹۸۶) در وقوع فیلیدی TRT در بوقلمونهای تخمگذار کاهش تولید را گزارش کردند (۲۴). همچنین شواهد رو به افزایش حکایت از آن دارد که در SHS ناهنجاریهای تولید تخم‌مرغ نیز وجود دارد

(۱۹۸۵) در یک مورد وقوع فیلیدی SHS در مرغ‌های مادر ۵۲-۲۴ هفته هیچ تغییر هیستوپاتولوژیک یا ضایعه‌ای را در سینوس‌های اینفراربتیتال مشاهده نکردند (۳۳). بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه‌های سینوس اینفراربتیتال مطالعه حاضر ضایعاتی شبیه اما خفیف‌تر از ضایعات بوقک را نشان داد. همچنین در درون لومن سینوس‌های اینفراربتیتال اثری از اکسودا به چشم نمی‌خورد. در ابتلاء به AMPV ضایعات هیستوپاتولوژیک موجود در نای مکرراً بررسی شده است. که در بیشتر موارد این ضایعات شامل عدم پیوستگی کانونی مژکها و سپس فقدان وسیع مژکها همراه با جدا شدن سلولهای اپی‌تلیالی از لایه اپی‌تلیالی است. بعلاوه در درون اپی‌تلیوم واکنش‌شدن بندرت خرده ریزه‌های سلولی^۲ همراه با نفوذ هتروفیل و لنفوسیت دیده می‌شود. همچنین شامل کلفت شدن مخاط نای بدلیل احتقان، ادم و نفوذ سلولهای تک‌هسته‌ای در لامینا پروپریا که در ارتباط با مسطح شدن سلولهای اپی‌تلیالی و از بین رفتن کانونی مژکها بودند، دیده می‌شود. بدنبال آن فقط از بین رفتن کانونی مژکهای اپی‌تلیوم مژکدار و بندرت نفوذ سلولهای تک‌هسته‌ای در پارین دیده می‌شود (۶،۱۹،۲۶،۳۰). یافته‌های دیگری وجود دارد که در تضاد با نتایج ذکر شده است. مثلاً در مشاهده Thomson و Morley (۱۹۸۴)، بیماری SHS در جوجه‌های گوشتی و مرغ‌های مادر ضایعات چندانی را در نای ایجاد نمی‌کرد؛ اگرچه گاهی پتشی بصورت خفیف و گاهی کاهش فعالیت مژکها ممکن بود در قسمت بالای نای دیده شود (۲۷). همچنین عده‌ای معتقدند که در نای برخی از ضایعات بصورت گذرا وجود دارد (۳،۲۵).

Chary و همکاران (۲۰۰۲) در تلقیح AMPV به پولات‌های بوقلمون دو هفته، از دست دادن مژکهای اپی‌تلیوم نای را مشاهده نکردند. (۷) به نظر O'Brein در وقوع طبیعی SHS در مرغ‌های مادر ۵۲-۲۴ هفته هیچگونه ضایعه‌ای در نای وجود نداشت و نای کاملاً سالم بود (۳۳) در بررسی ضایعات نای در مطالعه

ای و هیستو تکنیک، چاپ پنجم، موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، ص ۵۶۲ - ۵۲۴

2. Al-Ankari, A.R., Bradbury, J.M., Naylor, C.J., Worthington, K.J., Payne -Johnson, C. & Jones, R.C. (2001): Avian pneumovirus infection in broiler chicks inoculated with *Escherichia coli* at different time intervals, *Avian Pathology*, 30:257 -267.

3. Alexander, D.J. (2003): Newcastle disease and other avian pneumoviruses. In: *Disease of poultry*. 11th ed. Richard E. Gough, eds. Iowa State university press, Ames, IA. PP:92-99.

4. Alkhalaf, A.N., Ward, L.A., Derth, R.N., Saif, Y.M. (2002): Pathogenicity, Transmissibility, and Tissue Distribution of Avian Pneumovirus In Turkey Poults. *Avian Diseases*. 46:650_659

5. Alvarez, R., Jones, L.P., Seal, B.S., Kapczynski, D.R., Tripp, R.A. (2004): Serological Cross-reactivity of members of the metapneumovirus genus. *Virus Research* . 105(1) 67_73.

6. Catelli, E., Cook, J.K.A., Chesher, J., Orbell, S.J., Woods, M.A., Baxendale, W., Huggins, M.B. (1998): The use of virus isolation, histopathology and immunoperoxidase techniques to study the dissemination of a chicken isolate of avian pneumovirus in Chickens. *Avian Pathology*. 27:632_640.

7. Chary, P., Rautenschlein, S., Njenga, M.K., Sharmn, J.M., (2002): Pathogenic and Immunosuppressive Effects of Avian Pneumovirus In Turkeys. *Avian Diseases*. 46:153-161.

8. Collins, M .S., Gough, R.E. (1988). Characterisation of a virus associated with turkey rhinotracheitis . *Journal of General Virology*. 69 :909_916.

9. Cook, J. K. A., Jones, B. V., Ellis, M.M., Jing, Li. & Cavanagh, D. (1993b). Antigenic differentiation of Strains of turkey rhinotracheitis virus using monoclonal antibodies . *Avian Pathology*. 22: 257_273.

(۱۱، ۳۳، ۴۲). همچنین O'Brein (۱۹۸۵)، Wyeth (۱۹۸۷) و

Perelman (۱۹۸۸) کاهش تولید تخم مرغ را در مواقع شیوع SHS در گله های مرغ مادر گوشتی گزارش کردند (۴۲، ۳۶، ۳۳). که Perelman این کاهش تولید را حدود ۲-۳ درصد گزارش نمود (۳۳) طبق نظر Thomson, Morley (۱۹۸۴) وقوع بیماری SHS در مرغ های مادر کمتر از جوجه است و علامت اصلی آن کاهش تولید تخم مرغ بدون حضور سایر علائم بالینی است (۴۲).

در مطالعه حاضر با آنکه یکی از فارم هایی که در تست الایزا از نظر AMPV مثبت بود افت تولید تخم مرغ را به میزان ناچیزی از خود نشان داده بود ولی در بررسی هیستوپاتولوژیک مقاطع اوبدوکت ضایعه خاصی در نمونه های جمع آوری شده از آن فارم وجود نداشت. در بسیاری از موارد ابتلاء طبیعی و تجربی پرندگان به AMPV مشخص گردیده که بجز قسمت فوقانی مجرای تنفسی و مجرای تولید مثلی سایر قسمت های بندرت درگیر شوند (۶، ۱۱، ۱۴، ۲۶). بر اساس نظر Jirjis و همکاران (۲۰۰۴) در تلقیح تجربی AMPV به بوقلمون بجز بوقکها، سینوس اینفرا اربیتال و به مقدار خیلی کمی نای هیچگونه تغییر هیستوپاتولوژیک در بافت های ملتحمه، ریه، کیسه های هوایی، کبد، طحال، کلیه، مغز، پانکراس، روده کوچک، لوزه های سکومی و بورس فابرسیوس ایجاد نگردید (۱۶). در مطالعه حاضر هیچ یک از نمونه های کلیه، کبد، طحال یا سکوم ضایعه خاصی نداشتند. در مجموع مشاهده میکروسکوپی ضایعات مختلف حاصل از این آلودگی در مرغ های مادر گوشتی نشان داد که بیشترین ضایعات در دو بافت مجرای تنفسی و مجرای تولید مثلی حضور دارد.

فهرست منابع

۱- پوستی، ا.، ادیب راد، م. (۱۳۸۲): بافت شناسی مقایسه

- Detection and differentiation of avian pneumoviruses (metapneumoviruses). *Avian Pathology*. 31: 117_132.
11. Cook, J.K.A., Chesher, J., Orthel, F., Woods, M.A., Orbell, S.J., Baxendale, W. & Huggins, M.B. (2000): Avian Pneumovirus infection of laying hens: experimental studies. *Avian Pathology*. 29: 545-556.
12. Droual, R., Woolcock, P.R. (1994): Swollen head syndrome associated with E. Coli and infectious bronchitis virus in the Central Valley of California. *Avian Pathology*. 23:73_742.
13. Heckert, R.A., Myers, D.J., Afshar, A., Riva, J. (1994): Development and Evaluation of an enzyme-linked Immunosorbent assay for the detection of antibodies to avian pneumovirus. *Avian Disease*. 38:694-700.
14. Hess, M., Huggins, M.B., Mudzamiri, R., Heincz, U. (2004): Avian metapneumovirus excretion in vaccinated and non vaccinated specified pathogen free laying chickens. *Avian Pathology*. 33(1): 35-40
15. Jirjis F.F., Noll, S.L., Halvorson, D.A., Nagaraja, K.V., Shaw, D.P. (2002): Pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkey. *Vet. Pathology*. 39:300-310.
16. Jirjis, F.F., Noll, S.L., Halvorson, D.A., Nagaraja, K.V., Martin, F., Shaw, D.P. (2004): Effects of Bacterial coinfection on the pathogenesis of avian pneumovirus infection in turkeys. *Avian Disease*. 48:34-49.
17. Jirjis F.F., Noll, S.L., Halvorson, D.A., Nagaraja, K.V., Townsend, E.L., Sheikh, A.M. & shaw, D.P. (2000): Avian pneumovirus infection in minnesota turkeys: experimental reproduction of the disease. *Avian Diseases*. 44,222-226
18. Jones, R.C. (1996): Avian pneumovirus infection: Questions still unanswered. *Avian Pathology*. 25:639-648.
19. Jones, R. C., Naylor, C.J., Bradbury, J.M., savage, C.E., Worthington K. & Williams, R.A. (1991): Isolation of a
10. Cook J.K.A., Cavanagh, D. (2002) turkey rhinotracheitis like virus from broiler breeder chickens in England. *Veterinary Record*. 129, 509_510.
20. Jones, R. C., Williams, R.A., Baxter-Jones, C., savage, C.E., Wilding, G.P. (1988): Experimental infection of laying turkeys with rhinotracheitis Virus: Distribution of virus in the tissues and serological responses. *Avian Pathology* 17 :841-850.
21. Kehra, R. S., Jones, R. C. (1999): In vitro and in vivo studies on the pathogenicity of avian Pneumovirus for the chicken oviduct. *Avian Pathology*. 28: 257_262.
22. Kuiken, T., Van den Hoogen, B.G., Van Riel, D.A.J., Laman, J.D., Fouchirer, R.A.M., Osterhaus, A.D.M.E. (2004): Experimental human metapneumovirus infection of cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*) results in virus replication in ciliated epithelial cells and pneumocytes with Associated lesions throughout the respiratory tract. *Am.J. Pathology*. 164:1893-1900.
23. Lu, Y.S., shien, Y.S., Tsai, H.J., Tseng, C.S., Lee, S.H., Lin, D. F. (1994): Swollen head syndrome in Taiwan – Isolation of an avian pneumovirus and serological survey. *Avian Pathology*. 23:169-174.
24. Majo, N., Allan, G.M., Oloan, C.J., Pages, A., Ramis, A.j. (1995): A Sequential histopathologic and Immunocytochemical study of chickens, turkey poults and broiler breeders experimentally infected with turkey rhinotracheitis virus. *Avian Diseases*. 39:887-896.
25. Majo, N., Marti, M., Oloan, C.J., Allan, S.M., Pages, A., Ramis, A. (1996): Ultrastructural study of turkey rhinotracheitis virus infection in turbinates of experimentally infected chickens. *Veterinary Microbiology*. 52:37-48.
26. Majo, N., Giberr, X., Vilafraca, M., O'loan, C.J., Allan, G.m., Costa, L. I., Page, A., Ramis, A. (1997): Turkey rhinotracheitis

- virus and Escherichia coli experimental infection in chickens: histopathological, immunocytochemical and microbiological study. *Vet. Microbiology*. 57:29-40.
27. Morley, A.J., Thomson, D.K. (1984): Swollen-head syndrome in broiler chickens. *Avian Dis.*, 28:238-243.
28. Nakamura, K., Mase, M., Tanimura, T., Yamaguchi, S., Yusa, N. (1998): Attempts to reproduce swollen head syndrome in specific pathogen-free chickens by inoculating with Escherichia coli and/or turkey rhinotracheitis virus. *Avian Pathology*. 27:21-27.
29. Naylor, C., Shaw, K., Britton, P. & Cavanagh, D. (1997): Appearance of type B avian pneumovirus in Great Britain. *Avian Pathology*. 26 : 327-338.
30. Naylor, C.J., Britton P., Cavanagh, D. (1998): The ectodomain but not the transmembrane domain of the fusion (F) Proteins of subtypes A and B avian pneumovirus are conserved to a similar extent as those of human respiratory syncytial virus. *Journal of General Virology*. 79: 1393-1398.
31. Naylor, C.J., Jones, R.C. (1993): Turkey rhinotracheitis virus: a review. *Veterinary Bulletin*. 63 : 439-449.
31. Njenga, M.K., Lwamba, H.M., Seal, B.S. (2003): Metapneumoviruses In birds and humans. *Virus Research*. 91(2) 163-169.
32. Nunoya, T., Tajima, M., Izuchi, T., Takahashi, K., Otaki, Y., Nagasawa, Y. and Hakogi, E. (1991): Pathology of broiler breeder disease characterized by the swollen head. *J. Vet. Med. Sci.*, 53:347-349.
33. O'Brein, J.D.P. (1985): Swollen head syndrome in broiler breeders. *Veterinary Record*. 117: 619-620.
34. Panigrahy, B., Senne, D.A., Pedersen, J.C., Gidlewski, T. & Edson, R.K. (2000): Experimental and serologic observations on avian pneumovirus (APV/turkey/Colorado (97) infection in turkeys. *Avian Disases*. 44:17-22.
35. Perelman, B., Meroz, M. & Samberg, Y. (1988): Swollen head syndrome' in broiler breeders in Israel. *Veterinary Record*. 123 , 444.
36. Picault, J.P., Giraud, P., Drouin, P., Guittet, M., Bennejean, G., Lamande, J., Toquin, D. and Gueguen, C. (1987): Isolation of a TRT-like virus from chickens with swollen head syndrom. *Veterinary Record*. 121:135.
37. Pringle, C.R. *Virus taxonomy*. (1999): The universal system of virus taxonomy, updated to include the new proposals ratified by the international Committee on taxonomy of viruses during 1998. *Arch. Virol*. 144:421-429.
38. Shirai, J., Maeda, M., Fujii, M., Kunigoshi, S. (1993): Swollen head syndrome is not associated with turkey rhinotracheitis virus. *Veterinary Record*. 132:41-42.
39. Tanaka, M., Takuma, H., Kokumai, N., Oishi, E., Obi, T., Hiramatsu, K. and Shimazu, Y. (1995): Turkey rhinotracheitis virus isolated from broiler chickens with swollen head syndrome. *Journal of Veterinary Medical Science*. 57:939-941.
40. Turpin, E.A., Perkins, L.E.L. and Swayne, D.E. (2002): Experimental Infection of turkeys with avian pneumoviruses and either Newcastle disease virus or Escherichia Coli. *Avian Diseases*. 46:412-422.
41. Van de Zande, S., Nauwynck, H. and Pensaert, M. (2001a): The clinical, pathological and microbiological outcome of an Escherichia coli 02:K1 infection in avian pneumovirus infected turkeys. *Vet. Microbiology*. 81:353-365
42. Wyeth, P.J., Chettle, N., Gough, R. & Collins, M.S. (1987): Antibodies to: TRT in chickens with swollen head syndrome. *Vet. Rec*. 120: 286-287.