

## بررسی ضایعات هیستوپاتولوژیک ناشی از آلودگیهای کرمی در روده طیور بومی اطراف شهرستان ارومیه

مهران نصیری<sup>۱\*</sup>، سهراب رسولی<sup>۲</sup>، حنظله محمد مفخمی<sup>۳</sup>

### چکیده

هدف از این مطالعه بررسی ضایعات هیستوپاتولوژیک بوجود آمده در نتیجه آلودگیهای کرمی موجود در طیور بومی اطراف شهرستان ارومیه بوده که در طی آن ۲۰ قطعه مرغ بومی به صورت تصادفی مورد مطالعه قرار گرفتند که پس از یوتانایز کردن این نمونه ها تمام قسمت های روده خارج گردید. سپس موارد آلوده به انگل به آزمایشگاه انگل شناسی انتقال یافته و انگل های حاصله پس از ثبوت مورد شناسایی قرار گرفتند. در این بررسی مشخص شد که ۱۰ مورد از این تعداد طیور به انگل های مختلفی آلوده بودند که در ۶ مورد آلودگی به نامتود شامل آسکاریدیا گالی، سوبولورا برومپتی و هتراکیس گالیناروم و در ۴ مورد آلودگی به سستود دیده شد. هیچ گونه آلودگی به ترماتود رویت نگردید، مجموعاً تعداد ۸ عدد رایه تینا بدست آمد و هیچ گونه آلودگی به آکانتوسفال مشاهده نشد. نمونه هایی از قسمتهای مختلف روده پرندگان آلوده پس از قرار گرفتن در محلول فرمالین بافر ۱۰٪ و ثبوت بافتی به آزمایشگاه پاتولوژی انتقال یافت و مورد رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین و بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. در بررسی هیستوپاتولوژیک ۱ مورد پرخونی در بافت همبند سروزی (لایه خارجی) دیده شد. در تمام ۱۰ مورد ارتشاح سلولهای آماسی در مخاط یافت شد که در ۹ مورد این سلولها از نوع تک هسته‌ای (لنفویلاسموسیتیک) و در ۲ مورد هتروفیلیک بودند. در ۳ مورد ریزش شدید سلولهای ویلوسهای روده و در ۱ مورد پرخونی در رأس پرزها یافت شد. دیگر یافته ها شامل، نکروز در مخاط در ۱ مورد، هایپرپلازی مخاط و فیبروز در قسمتهائی از مخاط در ۱ مورد دیگر بود.

**واژگان کلیدی:** آسکاریدیا گالی، سوبولورا برومپتی، هتراکیس گالیناروم، آکانتوسفال، لنفویلاسموسیتیک، هتروفیلیک، رایه تینا.

### مقدمه

مرغ بومی در بین جوامع روستایی و برخی از شهرنشینان از اهمیت خاصی برخوردار است. به طوریکه برخی گوشت و تخم مرغ این پرنده را در صورت بومی بودن به دلیل رشد یافتن در یک محیط طبیعی، لذیذتر و

۱- دکترای تخصصی پاتولوژی دامپزشکی، استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد ارومیه

۲- دکترای تخصصی انگل شناسی دامپزشکی، استادیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد ارومیه

۳- دانش آموخته رشته دکترای عمومی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه.

\*-نویسنده مسئول mehrranassirt@yahoo.com

## مواد و روش کار

طیور جمع آوری شده را یوتانایز کرده و سپس اقدام به باز کردن محوطه بطنی و خروج روده گردید. بدین صورت که ابتدای دوازده و انتهای کلوآک را بوسیله لیگاتور مسدود کرده و توسط قیچی روده بر اقدام به برش ابتدا و انتهای روده نموده و روده خارج گردید. هر نمونه در یک ظرف نمونه برداری بزرگ قرار داده شد و سریعاً به آزمایشگاه جانور شناسی انتقال یافت.

نمونه‌های منتقل شده به آزمایشگاه بصورت جداگانه هر یک داخل یک طشت قرار گرفتند. در این مرحله اقدام به باز نمودن روده گردید، بدین صورت که توسط قیچی روده بر طول روده را از ابتدای دوازده تا انتهای کلوآک برش داده و محتویات روده داخل طشت خالی شد. بعد روده باز شده را زیر آب جاری شسته تا کرمهای چسبیده به آن وارد طشت شوند.

سپس محتویات درون طشت را به تدریج روی الک ۱۰۰ ( ۱۰۰ چشم در ۲/۵ سانتی متر) ریخته و الک را زیر آب جاری گرفته و آنقدر این کار ادامه یافت تا کاملاً شسته شد. در این مرحله محتویات باقیمانده در الک را در ظرف شیشه‌ای (پتری دیش) ریخته مقداری آب خالص به آن افزوده شد. پس از مدتی اقدام به برداشتن و حذف پرها و چربی‌های جدا شده از مزانتر روده گردید. پس از این مرحله پتری دیش را زیر لوپ (بزرگنما) قرار داده و مرحله جدا کردن کرم‌ها آغاز گردید. کرم‌های جمع آوری شده از محتویات، داخل الک ۷۰ درجه قرار گرفتند. در بررسی آلودگی کرمی ثابت کردن و نگه داری صحیح کرم‌ها برای بررسی‌های بعدی اهمیت زیادی دارد(۱).

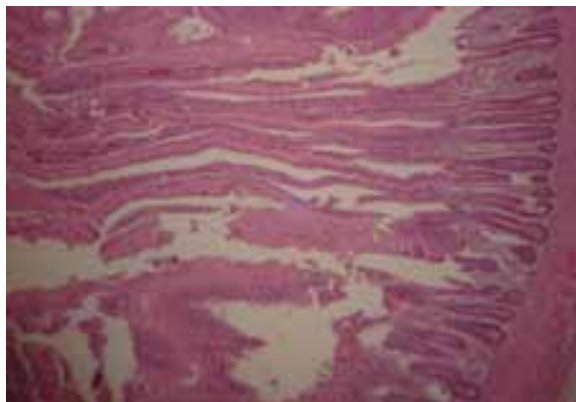
پس از خارج کردن کرم‌ها از محتویات روده و آماده سازی آنها طبق روشهای توصیه شده به منظور شناسائی کرمهای موجود(۱)، روده‌های آلوده یا مثبت جهت تهیه مقاطع پاتولوژیک به آزمایشگاه هیستوپاتولوژی ارسال شدند. روده‌های مورد نظر در

از همه مهمتر سالم تر از طیور پرورشی می‌دانند. البته این امر نیز با شیوع آنفولانزای پرندگان در چند سال اخیر رو به افول است.

به دلیل زندگی نزدیک این پرنده با انسان، بهداشت و سلامت آن تاثیر بسزایی در حفظ سلامت افراد مرتبط با آن دارد. مرغ نیز همانند دیگر موجودات در گیر عوامل انگلی می‌گردد. این انگل‌ها می‌توانند خارجی مانند کنه، جرب، شپش، کک، ساس و ... باشند و یا اینکه داخلی مانند انواع کرمهای انگلی و یا انگلهای تک یاخته باشند. در این میان، انگلهای دستگاه گوارش و بخصوص انگلهای کرمی روده به دلیل موضوع تحقیق بیشتر مدنظر، قرار دارند.

در بررسی که در بنگلادش انجام شد ضایعات ایجاد شده توسط آلودگی انگلی در روده به صورت التهاب روده نکروتیک، اولسراتیو، و یا هموراژیک مشاهده گردید(۶). در مطالعه دیگری که در نیجریه انجام شد، ارتشاح سلولهای آماسی از نوع ماست سل و پلازما سل در قسمت‌هایی از لوله گوارش که آلودگی انگلی داشت در قسمت زیر مخاط مشاهده گردید(۵). علاوه بر این در طی این تحقیق مشخص شد که در اثر آلودگی به گونه‌های رایج تینا که به مخاط ایلئوم متصل بودند بیشترین ضایعاتی که دیده شد شامل خونریزی، ضخیم شدن مخاط و ادم در منطقه سروزا بود (۴). در بررسی‌های دیگری ضایعات به صورت آنتریت هموراژیک، کم خونی، و اسهال شدید در طیوری که به تعداد زیادی از انگل آلوده بودند، دیده شد(۴). در بررسی که توسط متخصصین انجام شد در آلودگی مزمن انگلی کاهش تونوس عضلانی دیده شد و دیواره روده به حالت شل مشاهده گردید. باز در تحقیق دیگری مشخص شد که آسیب به اپیتلیوم تنها توسط لارو انگل ایجاد نشده و توسط انگل‌های بالغ نیز ایجاد می‌شود. این امر بدلیل آتروفی ناشی از فشار روی ویلوس‌ها می‌باشد که این امر هم باعث ایجاد نکروز‌هایی در لایه مخاطی می‌شود(۳و۴).

بررسی شده از نوع لنفویلاسموسیتیک (لنفوسیت و پلاسماسل) و در ۲ مورد از نوع هتروفیلیک بود (در یک مورد هر دو نوع سلول آماسی توأمآ دیده می‌شد). در یک کوپ همراه سلولهای تک هسته‌ای ارتشاح هتروفیلیک هم مشاهده شد. ضایعات هیستوپاتولوژیک دیگری که در یک کوپ دیده شد شامل هایپرپلازی مخاط در بخش‌هایی از آن، به اضافه افزایش بافت همبند بود که این افزایش در ناحیه بافت همبند مخاطی دیده میشد. در یک مورد از کوپ‌های بررسی شده، در مخاط قسمت‌های نکروزه مشاهده گردید. بافت سلولهای پوششی پرزها نیز در چند مورد دارای ضایعات بود. در سه کوپ از ۱۰ کوپ مورد بررسی ریزش دیده شد که در یک مورد این حالت بسیار شدید بود. ویلوس‌ها نیز در این ۳ نمونه فاقد پوشش بودند به طوری که بافت مخاط ناحیه، برهنه شده بود. در یک مورد نیز ویلوس‌ها بسیار بلندتر از حالت طبیعی دیده شد. در بررسی گابلت سل‌ها در تمام کوپ‌ها هیچگونه تغییراتی مشاهده نگردید.



شکل شماره ۱- بزرگنمایی  $\times 200$  رنگ آمیزی H&E  
افزایش طول پرزهای روده به همراه تغییرات آماسی در ناحیه  
سلولهای آماسی بیشتر از نوع تک هسته ای

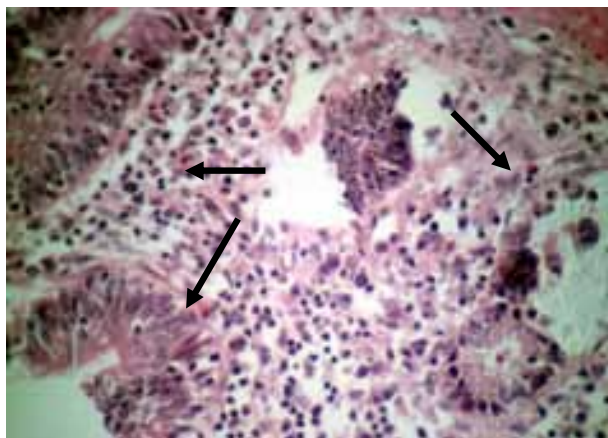
داخل ظروف نمونه برداری بزرگ حاوی فرمالین بافر ۱۰٪ که حجم بیست برابر هر نمونه را داشت، قرار میگرفت. این محلول معمولاً جهت تثبیت نمونه‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرد. پس از گذشت ۱۰ روز از ماندن نمونه‌ها در محلول فیکساتور این نمونه‌ها از ظروف خارج شده و جهت تهیه مقاطع پاتولوژیک مورد استفاده قرار گرفتند. در این مرحله از قسمتهای مختلف روده‌های آلوده جهت تهیه کوپ پاتولوژیک نمونه برداری گردید. نمونه‌ها و قطعات جدا شده حجم تقریبی ۱ سانتی متر مکعب داشتند. حتی در مواردی که در کل روده هیچ گونه اثرات پاتولوژیک ظاهری قابل مشاهده‌ای نیز وجود نداشت، از ابتدا، اواسط و انتهای روده قطعاتی جدا شد و این قطعات پس از شناسائی و شماره گذاری جهت تهیه کوپ پاتولوژیک مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه‌های جدا شده هر یک داخل ظرف نمونه برداری قرار گرفته و پس از ثبت مشخصات وارد مراحل پاساژ بافتی گردیدند. پس از آماده شدن کوپها و برشگیری با میکروتوم این نمونه‌ها بروش روتین مورد رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین ائوزین قرار گرفتند که انتظار میرفت جهت مطالعه ضایعات محتمل مناسب‌ترین روش رنگ‌آمیزی باشد.

## نتایج

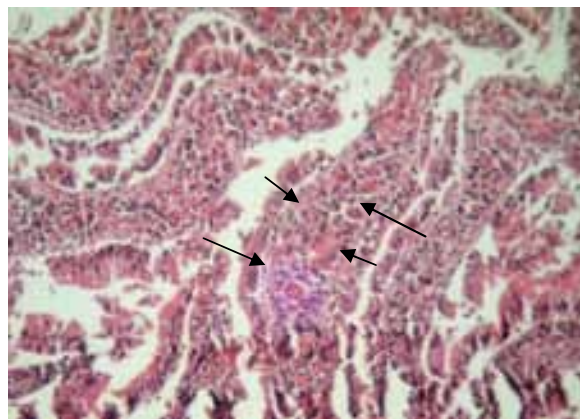
در طی مطالعه هیستوپاتولوژیک نمونه‌ها با میکروسکوپ نوری موارد زیر مشاهده گردید :

پوشش خارجی سروزی روده در تمام کوپ‌ها، به جز یک مورد (که در آن پرخونی وجود داشت)، سالم بود. در تمام کوپ‌ها عضلات نیز بصورت کاملاً سالم مشاهده می‌شدند. مخاط تنها بافتی بود که در تمام کوپ‌های تهیه شده دارای درجات مختلفی از ضایعات هیستوپاتولوژیک بود که به تفصیل در ذیل بیان می‌گردد:

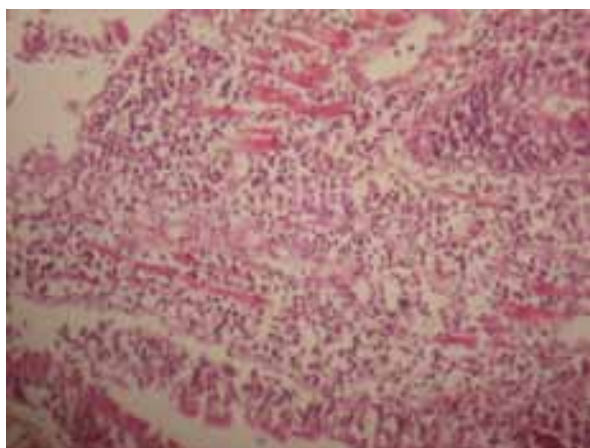
در تمام کوپ‌های تهیه شده ارتشاح سلولهای آماسی در درجات مختلف از محدود یا کم تا به میزان چشمگیر، دیده شد. نوع سلولهای آماسی هر ۹ مورد از ۱۰ مورد



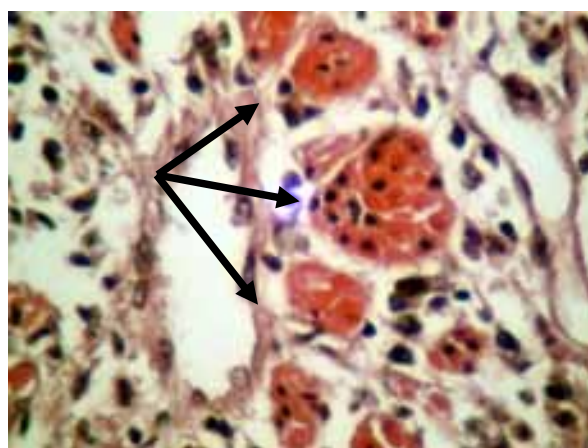
شکل شماره ۵- بزرگنمایی ۴۰۰× رنگ آمیزی H&E  
ارتشاح سلولهای آماسی تک هسته ای در بافت همبند مخاطی و زیر  
مخاط تعداد کمی سلولهای هتروفیلیک هم با فلش مشخص شده است.



شکل شماره ۲- بزرگنمایی ۲۰۰× رنگ آمیزی H&E  
بررسی بافت مخاط روده. به سلولهای ائوزینوفیلیک بزرگ با هسته  
متعدد در بافت همبند مخاط دقت گردد.

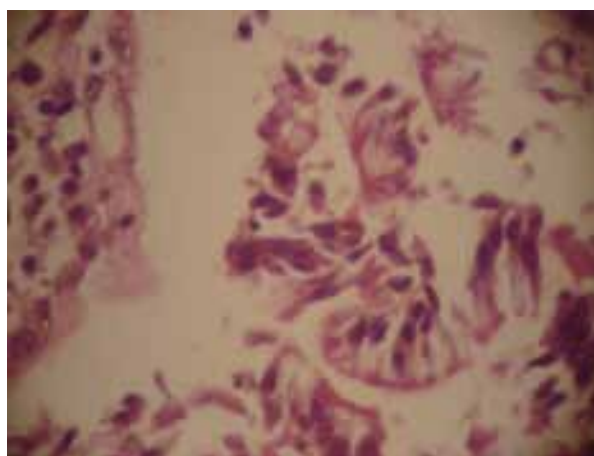


شکل شماره ۶- بزرگنمایی ۲۰۰× رنگ آمیزی H&E  
ارتشاح شدید سلولهای آماسی تک هسته ای در بافت همبند  
مخاطی و زیر مخاط - آسیب و ریزش بافت مخاط روده.  
(تصاویر تهیه شده توسط نگارنده در آزمایشگاه هیستوپاتولوژی -  
دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه)



شکل شماره ۳- بزرگنمایی ۴۰۰× رنگ آمیزی H&E  
سلولهای ائوزینوفیلیک با هسته متعدد با درشتنمایی بیشتر

در کوب‌های پاتولوژیک مورد بررسی بیشترین  
موردی که به چشم می خورد افزایش مشهود سلولهای  
آماسی بود که در این میان بیشترین نوع سلولهای آماسی  
شناسایی شده از نوع لنفوپلاسموسیتیک بودند. البته در ۲  
مورد سلولهای التهابی هتروفیلیک نیز مشاهده می گردید  
که بنظر می رسد چندان مرتبط با آلودگی انگلی نباشد.  
در بافت همبند سروزی تنها در یک مورد پرخونی دیده  
شد. آلودگی انگلی در این نمونه، از نوع نماتود بود.  
یکی از ضایعاتی که در ۳ مورد از نمونه‌ها به چشم



شکل شماره ۴- بزرگنمایی ۴۰۰× رنگ آمیزی H&E  
ریزش سلولهای استوانه ای مخاط به همراه بافت همبند مخاطی  
(فیبروسیت) به سلولهای آماسی هتروفیلیک توجه شود

گالیناروم و سوبولورا برومپتی در ۲ مورد از ۵ مورد آلوده ریزش شدید در سلولهای بافت پوششی ویلوسها دیده شد که می تواند قابل توجه باشد. در یکی از این موارد نیز پرخونی در بافت همبند سروزی مشاهده گردید. در یک مورد از ۵ مورد آلوده نیز سلولهای آماسی از نوع هتروفیلیک و لنفوپلاسموسیتیک به صورت توأم مشاهده گردید. در لامهای مربوط به آلودگی به انگل هتراکیس گالیناروم، نیز یکسری سلولهای ائوزینوفیلیک با هسته‌های متعدد مشاهده گردید که این سلولها دارای سیتوپلاسم کاملاً ائوزینوفیلیک بوده و در قسمت بافت همبند مخاطی قابل دیده شده‌اند (شکل شماره ۲ و ۳) که در برخی رفرنسها به وجود این سلولها اشاره شده و از آنها به عنوان سلولهای ائوزینوفیلیک نام برده‌اند ولی به عملکرد آنها هیچ اشاره‌ای نگردیده است. البته با توجه به آلودگی توأم دو انگل هتراکیس گالیناروم و سوبولورا برومپتی، ضایعات فوق را نمی‌توان مستقیماً به یکی از این دو انگل مرتبط ساخت، ولی با توجه به مطالبی که در مورد ضایعات ناشی از این دو انگل گفته شده می‌توان انگل هتراکیس گالیناروم را موثرتر و مخرب‌تر از سایر انگلهای شناسائی شده دانست.

### پیشنهادات

با توجه به بررسی بعمل آمده موارد زیر جهت کنترل بهداشتی و پیشگیری از بروز ضایعات و کاهش تولید در این طیور به شرح زیر پیشنهاد می‌شود:

(۱) کنترل آلودگی انگلی عمدتاً توسط داروهای ضد انگل امکان پذیر است. با توجه به انگل های یافت شده در منطقه می‌توان از داروهای ضد انگلی همچون: Fenbandazole ، DI-tetramisole ، ... برای درمان نماتودی و Butynorate ، ... برای درمان سستودی؛ جهت کنترل آلودگی انگلی استفاده نمود.

(۲) علاوه بر استفاده از داروهای ضد انگل، بدلیل اینکه طیور بومی در محیطی باز و مملو از آلودگی زندگی

می‌خورد ریزش سلولهای پوششی ویلوسها بود که در ۲ مورد از آن آلودگی انگلی باز هم از نوع نماتود و در ۱ مورد از نوع سستود بود. در تمام نمونه های مورد بررسی در بافت همبند زیر مخاط، عضلات و گابلت سلها هیچ گونه تغییری دیده نشد. با توجه به نمونه‌های مشاهده شده و نتایجی که از آنها حاصل شد می‌توان گفت که بیشترین مواردی که در نمونه‌ها دیده شد التهابات مزمن بود که با ارتشاح سلولهای آماسی تک هسته‌ای از نوع لنفوپلاسموسیتیک همراه بود که عمدتاً لنفوسیت و پلازما سل را شامل می‌شد. نکته قابل توجه اینکه در یکی از ۴ نمونه آلوده به سستود رایه تینا، قسمت های نکروزه در مخاط دیده می‌شد که این ضایعه چندان در مورد این انگل شایع نیست (۴). البته ایکیم و همکارانش در تحقیقی که داشتند به این مورد اشاره نموده‌اند (۴). علاوه بر این سلولهای آماسی مشاهده شده در این نمونه از نوع هتروفیلیک بود و نشانی از سلولهای آماسی لنفوپلاسموسیتیک که ارتشاح آنها از مشخصات التهاب مزمن است، دیده نشد. البته این موضوع را نمی‌توان با یک مورد از ۴ مورد آلوده در آلودگی به رایه تینا (از ۸ مورد آلودگی به رایه تینا، ۶ مورد گونه تتراکونا و ۲ مورد اکتینوبوتریدا بود) عمومیت بخشید و جهت مشخص نمودن موضوع نیاز به صرف زمان و نمونه‌های بیشتری می‌باشد. در نمونه آلوده به آسکاریدیا گالی ضایعاتی از قبیل افزایش سلولهای آماسی لنفوپلاسموسیتیک، هایپرپلازی در بخش هایی از مخاط، افزایش بافت همبند مخاط و نیز پرخونی در لایه مخاطی رأس ویلوس دیده شد که با توجه به اینکه آسکاریدیا گالی‌های بدست آمده از این نمونه بالغ بودند و نظر به اینکه ضایعاتی که از این انگل ایجاد می‌شود بیشتر در طیور ۱-۳ ماهه و آن هم توسط نوزاد این انگل دیده می‌شود، قابل توجه می‌باشد. البته محققین به پاتوژن بودن انگل های بالغ بدلیل فشاری که به دیواره روده وارد می‌کنند، اشاره نموده است (۴). در نمونه های آلوده به انگل های هتراکیس

### منابع

- ۱- اسلامی ع. کرم شناسی دامپزشکی. (۱۳۷۶): موسسه چاپ و انتشار دانشگاه تهران. فصل دوازدهم، چاپ اول.
  - 2- Eshetu Y., Mulualem E., Ibrahim H., Berhanu A. & Aberra K., (2002): Study of gastro-intestinal helminthes of scavenging chickens in four rural districts of Amhara region, Ethiopia. Rev. Sci. tech. Off. Int. Epiz. 2001, 20 (3): 791-796
  - 3- Hambidge, G., (2004): disease and parasites of poultry, pp.: 124-176. (Biotech)
  - 4- Ikeme, M. M., (1971): Weight changes in chickens placed on different levels of nutrition and varying degrees of repeated dosage with *Ascaridia galli* eggs. Parasitology 63:251-260.
  - 5- Nfor, M.B, Ajanusi, A.J., Agbede, R.J., Esiero, K.A.N., (2005): Observation of lesions associated with gastro-intestinal parasites of Guinea fowl (*numida meleagris galeata*) in Zaria Nigeria, ISAH 2005-Warsaw, Poland 2:511-513
  - 6- Roy, D.K., (2001): Helminthes of free-range chicken in Bangladesh with emphasis on prevalence and effect on productivity, pp.:297-330., (Bangladesh).
- می‌کنند همیشه درگیر با میزبانان واسط می‌باشند که این میزبانان باعث انتقال انگلها به آنها می‌شوند. پس با استفاده از سموم انتخابی با توجه به نوع انگلی که در آن منطقه شیوع دارد می‌توان میزبانان واسط مربوطه را حذف نمود یا حداقل به میزان کم رساند.
- ۳) استفاده از ویتامین A بدلیل نقش حمایتی از مخاط روده و بدلیل حمایت از تمام سطوحی از بدن که با محیط خارج در تماس می‌باشند، می‌تواند مفید باشد. این ویتامین باعث کاهش ضایعات پاتولوژیک در بیماریهای انگلی می‌شود. (فرخویی، ۱۳۷۵).
- ۴) طيور بومی با توجه به زندگی آزادی (free-living) که دارند، در برخی مناطق روستایی که حیاط خانه فاقد دیوار و پرچین می‌باشد یا حداقل از طریقی به بیرون از محیط خانه راه دارد، می‌توانند از محدوده و قلمرو زندگی خود خارج شده و با طيور دیگر در آن منطقه در ارتباط باشند. این امر با توجه به شیوع بالای آلودگی انگلی در مناطق روستایی و تماس نزدیک این طيور با طيور آلوده می‌تواند مشکل ساز باشد و باعث انتقال آلودگی انگلی به آنها شود.
- برای جلوگیری از این امر اولاً باید دور محیط زندگی این طيور حصار یا پرچین کشید که باعث عدم خروج آنها از محدوده تعیین شده گردد. دوماً غذای مورد نیاز این طيور را به اندازه کافی تهیه نمود تا مانع طمع طيور برای تهیه غذای بیشتر و خروج از محدوده مورد نظر شود. البته تهیه غذای مورد نیاز علاوه بر مزیت فوق باعث می‌شود که طيور کمتر سراغ تهیه غذا از مناطق آلوده بروند و این امر خود باعث کاهش بار انگلی طيور و منطقه می‌گردد.