

## BİR BILDIRCIN SÜRÜSÜNDE ASPERGILLUS FUMIGATUS İNFEKSİYONU

Mehmet AKAN<sup>1</sup>

Ayhan ATASEVER<sup>2</sup>

Hakan YARDIMCI<sup>3</sup>

### Aspergillus fumigatus Infection In Japanese Quails

**Summary:** *In this study, different ages of aspergillosis suspected Japanese quails were examined. In microbiological examination, direct microscopy and culture on Sabouraud Dextrose Agar were performed from homogenized organ materials. Cultured plates were incubated at 25 C and 37 C for 5-7 days. In necropsy, small white-yellow nodular lesions were detected in lungs and thoracic air sacs of young quails, and swelling in pulvinus metatarsalis was observed in breeders. Histopathologically, typical aspergillosis granulomas were noticed in materials obtained from affected regions. On cultured plates, pure Aspergillus fumigatus growth was observed. This is the first report of Aspergillus fumigatus lesion in pulvinus metatarsalis in Japanese quails.*

**Key word:** *Aspergillosis, Aspergillus fumigatus, Japanese quail*

**Özet:** *Bu çalışmada, değişik yaşlardaki aspergillosis şüpheli bildircinler incelendi. Mikrobiyolojik muayenede, lezyonlu organlardan hazırlanan süspanسیونlardan direkt mikroskopik muayene ve Sabouraud dextrose agara ekim yapıldı. Besiyerleri 25 C ve 37 C'de 5-7 gün inkubasyona bırakıldı. Nekropside, genç hayvanlarda akciğer ve torasik hava keselerinde, küçük beyaz-sarı nodüller, anaç hayvanlarda ise pulvinus metatarsaliste şişkinlik saptandı. Lezyonlu bölgelerden alınan materyallerin yapılan histopatolojik muayenelerinde aspergillosise bağlı tipik granulomlar gözlemlendi. Mikrobiyolojik yoklama için ekim yapılan besiyerlerinde saf olarak Aspergillus fumigatus üretilti. Bu çalışmada, bildircinlerin pulvinus metatarsalis'inde Aspergillus fumigatus'a ait lezyonlar ilk defa bildirildi.*

**Anahtar kelimeler:** *Aspergillosis, Aspergillus fumigatus, bildircin.*

### Giriş

Kanatlı hayvanlarda aspergillosis, genellikle solunum sisteminde yangısal granülomatöz lezyonlarla karakterize bir hastalıktır. Hastalığın, göz, beyin, deri ve kemik formları da bildirilmiştir (3). Hastalığın etkeni çoğunlukla Aspergillus fumigatus'tur. Bu etkenin dışında A. glaucus, A. flavus ve diğer Aspergillus türleri de hastalık vakalarından izole edilmiştir (14).

Hastalık tavuk, hindi, ördek, kaz, deve kuşu, papağan gibi birçok kanatlıda bildirilmiştir (6, 8, 9, 10). Bu infeksiyonda hedef organlar akciğerler, beyin ve gözlerdir. İnfekte hayvanlarda klinik olarak solunum güçlüğü, keratitis, merkezi sinir sistemi bozuklukları ve verim dü-

şüklüğü gözlenir (2, 3, 6). Genç kanatlılar yetişkinlere oranla aspergillozise daha duyarlıdır. Hastalık, genç hayvanlarda yüksek morbidite ve mortalite ile seyrederken yetişkinlerde bireysel vakalar şeklinde görülür. Genç sürülerde aspergillozise bağlı olarak ölüm oranının %10-50 arasında değiştiği bildirilmektedir (3, 14).

Hastalığın çıkışında, immunsupresyon, kontamine ve ıslak altlık, kümesteki yüksek amonyak seviyesi ve diğer idare faktörlerin etkili olduğu bildirilmiştir (5, 14). Ayrıca, primer bakteriyel, viral hastalıklar ve yetersiz beslenme de hastalığın çıkışında etkili olan predizpoze faktörlerdendir (14). Hastalığın bulaşması ile ilgili yapılan çalışmalarda, infeksiyonun yumurta orijinli oluşabileceği gösterilmiştir (3, 14).

Wyatt ve Steward (14), *A. fumigatus* sporlarının yumurta kabuğundan geçerek yumurta içinde gelişebileceğini ve yüksek embriyonik ölümlere neden olabileceğini bildirmişlerdir. İnfeksiyonun kümes içi bulaşmasında en önemli faktör kontamine altlıktır. Richard ve Thurston (11), kontamine altlıklı bir kümeste, solunum havası ile alınan *Aspergillus* sporlarının hızla diğer sistemlere yayıldığını ve patolojik değişikliklere neden olduğunu bildirmişlerdir.

Bu çalışmada, A.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı'na, aspergillozis şüphesiyle getirilen bıldırcınlar, klinik, nekropsi, mikrobiyolojik ve histopatolojik olarak incelenmiş ve hastalığın teşhisi amaçlanmıştır.

### Materyal ve Metot

**Örnekler:** Özel bir işletmeye ait değişik yaşlarda 17 adet (4'ü 12 hafta, 13'ü 1 haftalık) bıldırcın, aspergillozis yönünden klinik, nekropsi, mikrobiyolojik ve histopatolojik muayenelerle incelendi.

**Besiyerleri:** Bakteriyolojik muayeneler için, kanlı agar (KA), eozin metilen blue (EMB) agar, pleuropneumonia-like organism (PPLO) agar, PPLO buyyon, mikolojik incelemeler için Sabouraud dextrose agar (SDA, kloramfenikol 0.05 mg/ml) ve Czapek agar kullanıldı (1, 3).

**İzolasyon ve identifikasyon:** Patolojik materyallerden ayrılan nodüller ezilerek %10'luk KOH ve laktofenol pamuk mavisi (LFPM) ile lam-lamel arasında mikroskopta incelendi. Lezyonlu organlardan hazırlanan süspansiyonlar, KA, EMB agar, PPLO agar ve PPLO buyyona, ayrıca iki seri olarak SDA'a ekildi. İki seri olarak ekim yapılan SDA'lardan biri 25 C'de olmak üzere diğer besiyerleri 37 C'de aerobik koşullarda inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda hem 25 C ve hem de 37 C'de inkube edilen SDA'larda gelişen kolonilerden, Czapek agara pasaj yapıldı. Bu besiyerinde üreyen koloniler, makroskopik ve mikroskopik özelliklerine göre identifiye edildi (1, 3).

**Histopatolojik muayene:** Nekropside, lezyonlu bölgelerden (12 haftalık hayvanların pulvinus metatarsalisleri, 1 haftalık hayvanların akciğer ve hava keseleri) alınan materyaller, %10'luk formalin içinde tespit edildi. Dokulardan hazırlanan parafin bloklar, 5-6 mikron kalınlığında kesilerek, bir serisi hematoksilin eosin (HE) diğeri ise periodic asid-Schiff (PAS) ile boyandı ve ışık mikroskobunda incelendi (13).

### Bulgular

**Klinik ve nekropsi bulguları:** Klinik muayenede, genç havyanlarda solunum gücünün saptanırken incelenen 4 damızlık hayvanın (12 haftalık) ikisinde ayakların pulvinus metatarsalislerinde şişkinlik gözlemlendi. Genç hayvanlarda mortalitenin %5-7 olduğu belirlendi. Yapılan nekropside, genç hayvanların tümünde akciğer ve hava keselerinde diffuz dağılım gösteren, 1-2 mm çapında beyaz-sarı renkli nodüllere rastlandı (Resim 1). Damızlık hayvanların iç organlarında herhangi bir lezyon saptanamadı.



Resim 1. Akciğer ve hava keselerinde aspergillozis nodülleri  
Figure 1. Aspergillozis nodules in lung and air sacs.

**İzolasyon ve identifikasyon sonuçları:** Lezyonlu organlardan hazırlanan süspansiyonların direkt mikroskopisinde, septumlu hifalara ve mantar sporlarına rastlandı.

İzolasyon amacıyla ekim yapılan SDA'da, önceleri beyaz hafifçe kabarıp, tüylü, daha sonraları koyu mavi yeşil renkte koloniler oluştu. Eskimiş kültürlerde oldukça tipik koyu duman grisi renkte koloniler gözlemlendi. Mikroskopik muayene için SDA'da üremiş kolonilerden Czapek agara ekim yapıldı. Bu besiyerinde üreyen kolonilerden LFPM ile hazırlanan preparatlar mikroskopta incelendi (Resim 2). Kolonilerin makroskopik özelliklerinin ve mikroskopik olarak konidiofor, vezikül, sterigmata ve konidiaların incelenmesi sonucunda etken *A. fumigatus* olarak identifiye edildi (1, 3).

KA, EMB agar, PPLO agar ve PPLO buyyon kültürleri, aerobik bakteri ve mikoplazma yönünden negatif bulundu.

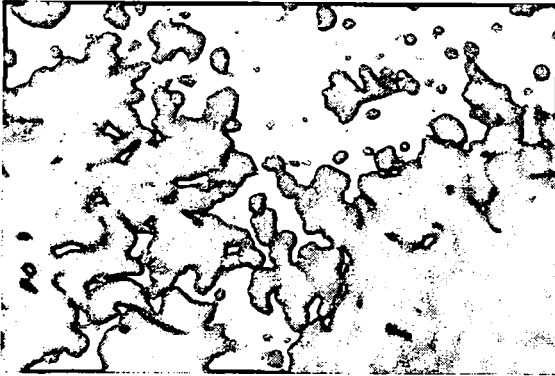
**Histopatolojik bulgular:** Anaç hayvanlarda pulvinus metatarsalisten hazırlanan preparatların ışık mikroskopik incelenmesinde, çok katlı yassı epitelin yüzeyinde pembe homojen renkte geniş keratinize yapıların varlığı gözlemlendi. Epidermis katının stratum spinosum tabakasının



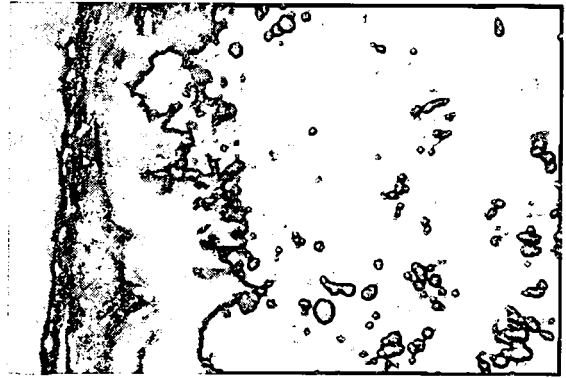
Resim 2. *A. fumigatus*'un mikroskopik görüntüsü- konidiofor'lar (LFPM, x400).  
Figure 2. Microscopic appearance of *A. fumigatus*-conidiofors (LFPM, x 400).



Resim 3. Pulvinus metatarsaliste nekroz odakları (HE, x100)  
Figure 3. Necrosis of pulvinus metatarsalis (HE, x100)



Resim 4. *A. fumigatus* miselyumları (HE, x400).  
Figure 4. Mycelium of *A. fumigatus* (HE, x400)



Resim 5. Granulomlar içindeki miselyumlar (PAS, x 400)  
Figure 5. Mycelium in granulomas (PAS, x 100)

belirli bölgelerindeki üremeler nedeniyle subkutise doğru parmak benzeri uzantılar saptandı. Stratum germinativum'un hemen altından başlayan değişen büyüklükte nekroz alanları görüldü. Bu alanların çevresinde, yabancı cisim dev hücreleri, histiyositler, lenfositler ve heterofil lökositlerden oluşan hücre infiltrasyonu ile en dışta bağ dokunun bulunduğu granülomatöz odaklara rastlandı (Resim 3). Bu granulomlar, konglomere yapılar oluşturdu. PAS boyama yöntemine göre yapılan kesitlerde nekroze alanlar içinde yoğun topluluklar halinde kahverengi-siyah aspergillus hifa ve miselyumları ile sporlanmış formlarının varlığı dikkati çekti (Resim 4, 5). Bazı hifa uçlarının boğumlanma yerlerinde, lumeni şeffaf yuvarlak spor yapıları tespit edildi.

Genç hayvanların akciğer ve hava keselerinden hazırlanan preparatların incelenmesinde, aspergilloze ilişkin granülomatöz yangı odakları saptandı. Ayrıca, bu dokularda, anaç hayvanların Pulvinus metatarsalis'lerinde PAS boyama yöntemi ile belirlenen aspergillus hifa, miselyum ve sporlarına ek olarak konidioforların varlığı da ortaya konuldu.

## Tartışma ve Sonuç

Kanatlı hayvanlarda aspergillozis, farklı klinik formlarda seyreden bir infeksiyondur. Bu çalışma ile bildircinlerde *A.fumigatus*'a bağlı solunum sistemi infeksiyonu ve pulvinus metatarsaliste lezyonlar ortaya konulmuştur. İncelenen yazılı literatürde bildircinlerde pulvinus metatarsaliste böyle bir infeksiyon bildirilmemiştir.

Bu çalışmada genç hayvanlardan, hava keselerinde ve akciğerlerinde değişik büyüklüklerde granulomlar belirlendi. Solunum sistemindeki lezyonların erken dönemde görülmesi, aspergillus sporları ile kontaminasyonun kuluçka aşamasında ya da yoğun infekte altlıktan kaynaklandığını düşündürmektedir. Aynı sürününün anaçlarında da *A. fumigatus*'a bağlı lezyonların olması bu görüşü desteklemektedir. Bu konu ile ilgili olarak, Wyatt ve Stewart (14), aspergillozisin yumurta kaynaklı bir infeksiyon olabileceğini ve kuluçkada yumurtaların kontamine olabileceğini bildirmişlerdir. Chute ve Barden (4), 6 tavuk kuluçkahanesinde 12 ay süreyle yaptıkları çalışmada, kuluçkahane orta-

mında *Aspergillus* spp. oranının yüksek düzeyde olduğunu bulmuşlardır.

Yapılan bu çalışmada, genç hayvanlardaki hastalığın solunum sisteminde lokalize olduğu saptandı. Yapılan klinik muayenede hayvanlarda solunum gücü belirlendi. Genç hayvanlarda %5-7 oranında mortalite saptandı. *A. fumigatus*'a bağlı bozukluklar, genellikle solunum sisteminde görülmektedir. Bu konu ile ilgili olarak, Julian ve Goryo (7), broiler piliçlerde deneysel aspergilloze bağlı olarak, %60 oranında ciddi solunum sistemi bozuklukları saptamışlardır. Aynı çalışmada araştırmacılar, hayvanlarda %10.7 oranında asites şekillendiğini de bildirmişlerdir.

Çalışmada, iki damızlık hayvanın pulvinus metatarsalisinde şişkinlik saptandı. Bu bulgular, yangısal reaksiyonların hayvanların ayaklarında kümes şartlarında meydana gelen çatlaklardan mantar sporlarının girmesinden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Kanatlı hayvanlarda gerek deneysel ve gerekse doğal aspergillozis infeksiyonlarında, lezyonlar genellikle akciğer ve hava keselerinde sınırlı kalmaktadır (7, 10, 12). Bu çalışmada genç bıldırcınlarda bildirilen akciğer ve hava kesesi yangınları diğer araştırmacıların çalışmaları ile uyumludur. Bazı araştırmacılar deri, göz, kemik ve sinir sistemi lezyonları da bildirmesine karşın bu çalışmada genç hayvanlarda bu organlarda lezyonlara rastlanmamıştır. Pulvinus metatarsaliste granümatöz yangının varlığı bıldırcınlarda ilk olarak saptanmıştır. Buradaki dokunun PAS ile boyanan kesitlerinde konidiofor, hifa, spor ve miselyumlardan yalnızca hifa, spor ve miselyumlar görüldü. Pulvinus metatarsalis kesitlerinde, akciğer kesitlerinin aksine konidioforların olmayışı bu bölgede oksijenli temasın olmamasından kaynaklandığını düşündürdü. Bu konu ile ilgili olarak, Sandersleben (13), konidioforların dokulardaki oksijen varlığına bağlı olarak görülebileceğini bildirmiştir.

Sonuç olarak, bu çalışma ile bıldırcınlarda *A. fumigatus*'a bağlı solunum sistemi ve ilk olarak pulvinus metatarsaliste aspergillozis lezyonları tanımlanarak, infeksiyonun epidemiyolojisi ile ilgili bilgiler de ortaya konuldu.

#### Kaynaklar

1. Arda, M., Minbay, A., Leloğlu, N., Aydın, N., Akay, Ö. (1992): *Özel Mikrobiyoloji*. Atatürk Üniv. Yay. No:741, Atatürk Üniv. Basımevi, Erzurum.
2. Beckman, B.J., Howe, C.W., Trampel, D.W., DeBey, M.C., Richard, J.L., Niyo, Y. (1994). *Aspergillus fumigatus keratitis with intraocular invasion in 15-day-old chicks*. Avian Dis., 38:660-665.
3. Chute, H.L. (1982) *Fungal infections*. In: Hofstad, M.S., Barnes, H.L., Calnek, B.W., Reid, W.M. and Yoder, H.W. *Diseases of Poultry*, 8th ed., pp.309-315, Iowa State University Press, Ames.
4. Chute, H.L., Barden, E. (1963). *The fungous flora of chick hatcheries*. Avian Dis., 8:12-19.
5. Dyar, P.M., Fietcher, O.J., Page, R.K. (1983). *Aspergilliosis in turkeys associated with use contaminated litter*. Avian Dis., 28: 250-255.
6. Fitzgerald, S.D., Moisan, P.G. (1995). *Mycotic rhinitis in an ostrich*. Avian Dis., 39:194-196.
7. Jullian, R.J., Goryo, M. (1990). *Pulmonary aspergilliosis causing right ventricular failure and ascites in meat-type chickens*. Avian. Pathol., 19:643-654.
8. Marks, S.L., Stauber, E.H., Ernstrom, S.B. (1994). *Aspergilliosis in an ostrich*. J. Amer. Vet. Med. Assoc., 204:784-785.
9. Oklesbee, B.L. (1991). *Aspergilliosis in an African grey parrot*. Pct Avian Med., 211:299-306.
10. Okeye, J.O.A., Gughani, H.C., Okeke, C.N. (1989). *Pulmonary infections due to Aspergillus flavus in turkey poults and gaslings*. Mycoses, 32:336-339.
11. Richard, J.L., Thurston, J.R. (1983). *Rapid hematogenous dissemination of Aspergillus fumigatus and A. flavus spores in turkey poults following aerosol exposure*. Avian Dis., 27:1021-1033.
12. Rogers, T.R., Haynes, K.A., Barnes, R.A. (1990). *Value of antigen detection in predicting invasive pulmonary aspergilliosis*. Lancet, 336:1210-1213.
13. Sandersleben, von J. (1985). *Atmungsorgane*. In: Sandersleben, von J., Amrich, K. und Dahme, E.: *Pathologische Histologie der Haustiere*. P:146-147, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart.
14. Wyatt, R., Steward, R.G. (1990). *Fungal Diseases*. In: Jordan, F.T.W. *Poultry Diseases*. Third ed., Baillière Tindal, London, England.