



Prøvetaking (mikrobiologi, patologi) samt avliving og obduksjon av fjørfe

*Magne Kaldhusdal, Bjarne Bergsjø og Jorun Tharaldsen
Veterinærinstituttet i Oslo*



Innhold

Mikrobiologisk prøvetaking	2
Generelt	2
Virologi.....	2
Bakteriologi.....	2
Mykologi	2
Avlivning	2
Bedøving.....	2
Avliving	3
Obduksjon	3
Utstyr	3
Smittefare ved obduksjon?.....	3
Mål med obduksjonen.....	3
Obduksjonsprosedyre	4
Opning av småkyllingar, yngre enn 1 veke	4
Opning av fjørfe, eldre enn 1 veke	4
Prøver for histologi, mikrobiologi, kjemi	4
Spesielle indikasjoner (inspiser, snitt med kniv/saks, ta prøver)	4
Innsending av fiksert materiale for histologisk undersøkelse	5
Innsending av dyr og ufiksert organmateriale for patoanatomisk undersøkelse ..	5
Litteratur.....	5



Mikrobiologisk prøvetaking

Generelt

Ta ut prøver av materiale som er representative for det problemet du mistenkjer. Ta ut prøvene på ein slik måte at du i minst mogleg grad kontaminerer prøva med mikrobar frå uvedkommande materiale. Bruk sterilt utstyr og arbeid aseptisk ved uttak av prøver som skal undersøkast for mikrobar.

Fjorfekadaver er i særleg grad utsette for gjennomvekst av bakteriar frå tarmkanalen og miljøet. Dei endra vekstforholda i kadaveret i forhold til det levande dyret fører raskt til ei heilt ny samansetting av bakteriefloraen. Den nye floraen bryt raskt ned vevet og gjer det vanskeleg å påvise dei smittestoffa som i utgangspunktet var årsak til sjukdom. I tillegg har fleire av dei sjukdomsframkallande bakteriane i seg sjølv liten evne til å overleve forholda i eit kadaver. Prøver for påvising av levande smittestoff må derfor sikrast så raskt som råd. Viss prøveuttaket av praktiske grunnar må vente noen timar, legg ein dyret kjøleg. Frysing bør ein unngå. Skal ein ta prøver frå fleire organ, startar ein med dei som er meir eller mindre mikrobefri i eit friskt dyr: milt, lever, eggstokk og luftvegar. Magetarmkanalen tar ein som siste post på programmet.

Virologi

Ved ønske om virus-undersøking må ein ta kontakt med laboratoriet for nærmare informasjon om korleis prøvetakinga skal skje.

Bakteriologi

Prøvemateriale på bomullspinnar med transportmedium i plasthylse vil i dei fleste tilfelle vera ei god og lettvinnt løysing. Ein kan få transportmedium i mange variantar. Dei enklaste og rimelegaste vil oftast vera gode nok, men bakteriar som for eksempel klostridiar og *Campylobacter* krev medium med koltilsetting. Dette er litt dyrare, men det kan veljast som einaste transportmedium fordi det dekkjer opp for det aller meste. I noen tilfelle er det behov for større prøvemengder enn dei som får plass på ein bomullspinne, for eksempel ved salmonella-mistanke. Da legg ein prøva i eit støytsikkert plastbeger med skrulokk. For uttak av miljøprøver frå fjorfehus viser ein til overvakingsprogramma, eller ein kan kontakte laboratoriet.

Alle prøver som skal undersøkast ved dyrking bør avkjølast straks og deretter haldast i kjølt tilstand, for å hindre endringar i bakteriefloraen. Viss kjøleskåp ikkje er tilgjengeleg, kan ein avkjøle bomullspinnane ved å halde plastylsene ei stund under den kalde springen. Raskast mulig transport til laboratoriet er ønskeleg, vanleg pakkepost kan ta for lang tid.

Mykologi

For påvising av muggsopp tar ein vevsprøver og sendar inn på støytsikkert plastbeger.

Avliving

Bedøving

Avliving må skje slik at dyret ikkje lir i utrensmål. Fjorfe bør bedøvast før avliving. Eit kontrollert slag mot hovudet gir rask og sikker bedøving, dersom han blir rett utført. Dessutan krev metoden lite spesialisert utstyr, og kan derfor brukast nær sagt over alt. Eit slikt slag kan utførast ved at ein legg hovudet til fuglen på eit stabilt underlag og slår med ei klubbe, eller ved at ein slår hovudet raskt mot ein bordkant eller liknande. Styrken på slaget må alltid vera tilstrekkeleg til bedøving, men kan regulerast etter alder og størrelse på fjorfeet. Eit hardt slag vil føre til direkte avliving, og utløyse sterke refleksar. Ein må likevel supplere eit slikt slag med ein (annan) avlivingsmetode.

Avliving

Den vanlegaste avlivingsmetoden er manuell dislokasjon av halsvirvlar (nakketrekk, *cervikal dislokasjon*). Cervikal dislokasjon blir utført straks etter bedøving. Denne kan utførast ved at ein fikserer hovudet til fuglen mot sitt eige hofteparti med hovudet inni handa og halsen mellom peikefinger og langfinger. Ein støttar handleddet (til den handa som omsluttar hovudet) mot sin eigen hoftekam, og dislokerer virvlane rett bak hovudet med ei rask og bestemt bøying av handleddet, slik at halsen blir knekt samtidig som han blir strekt i lengderetninga. Kjenn straks etter at det er eit søkk i virvelsøyla, og at blautdelsvevet blir fylt med blod frå dei avrivne blodkara på halsen. Viss dette ikkje er tilfelle, må ein straks gjenta dislokasjonen.

Store fjørfe (kalkunar, store høns) kan vera vanskelege å avlive på denne måten. Slikt fjørfe kan avlivast ved hjelp av ei Burdizzo-tong for kastrasjon av storfe, noe som krev ein medhjelpar til å halde dyret etter bedøving og avliving.

Små kyllingar (noe få dagar gamle) kan avlivast ved å presse halsen mot ein skarp bordkant.

Dei avlivingsmetodane som er omtalte her, løyser ut til dels sterke muskelkontraksjonar som det kan vera praktisk å kontrollere ved å putte dyret i ein sekk, ein passe tjukk sylindar eller ei passe stor bøtte med lokk. Dette kan også redusere blodsøl dersom ein drar for kraftig ved den cervikale dislokasjonen.

Det finst også andre akseptable metodar for bedøving og avliving som ikkje blir omtalte her (for eksempel intravenøs injeksjon av anestesimiddel).

Obduksjon

Utstyr

Ei kraftig saks som kan klippe gjennom knoklar er basis-utstyr for obduksjon av fjørfe. I tillegg vil følgjande utstyr lette gjennomføringa av ein detaljert obduksjon: ei lita saks, ein kirurgisk pinsett, ein slaktekniv, skalpellhandtak og skalpellblad. Ein kan også ha nytte av ei skjerve og ei hovudlykt. Med tanke på hygiene trengst utstyr for lagring av brukte reiskap, og/eller utstyr for vask og desinfeksjon av reiskap. Med tanke på prøvetaking trengst glas med formalin, svabrar med transporthylse for mikrobar, boksar og posar for andre prøver, samt transportemballasje og merkingsutstyr. Ein fullstendig utstyrt fjørfeveterinær bør også disponere eit mikroskop med tilhøyrande rekvisita (objektglas og dekkglas som eit minimum) blant anna for påvising av koksidiar, samt utstyr for påvising av tynne helmintar.

Smittefare ved obduksjon?

Risikoen for å bli eksponert for humanpatogene mikrobar (for eksempel *Campylobacter jejunii*) ved obduksjon av fjørfe er relativt liten dersom ein alltid brukar gummihandskar og praktiserer god handhygiene. Dersom det er grunn til mistanke om humanpatogenar som kan inhalerast via støv under handtering av kadaveret (for eksempel klamydiose) bør ein i tillegg væte heile dyret med eit desinfeksjonsmiddel og bruke ansiktsmaske som fangar opp finpartikulært støv.

Mål med obduksjonen

For kommersielt fjørfe vil som oftast målet vera å finne ei hovuddiagnose som kan knytast til eit flokk-problem. Ein vil da legge vekt på å finne fellestrekk i obduksjonsbilda hos dei enkelte dyra i flokken.

Obduksjonsprosedyre

Ytre inspeksjon og palpasjon

Inspiser hud, fjørdrakt, parasittar, augo, nebb, kloakk, fot med klør. Palper haseledd og tilhøyrande seneskjeder, skjer/klipp ev. opp.



Opning av småkyllingar opptil 1 veke gamle (for høgrehendte)

Legg kyllingen på ryggen i venstre hand, ta tak i virvelsøyla i kraniale bryst med venstre hands peikefinger og tommel, grip om proksimale delar av begge vengene med fingrane på høgre hand, og dra vengene forsiktig bakover mot kloakken, slik at brystet losnar kranialt og heile kroppshula blir opna.

Opning av kadaver (fjørfe eldre enn 1 veke)

Snitt hud og øvrig vev mellom lår og bryst, og dra i kvart bein slik at hofta går ut av ledd. Snitt inn til begge hoftaledda.

Klipp frå venstre nebbvinkel nedover halsen til brystopningen. Klipp opp luftrør og spiserør.

Snitt huda rett bak brystbeinspissen, og flå brystet framover. Vurder hydrerings- og ernæringstilstand ut frå brystmuskulatur (mørk og tørr: dehydrering).

Opne kroppshula ved å klippe gjennom ribbeina på begge sider, i retning av skulderledda. Inspiser luftsekkane *in situ* før organuttak.

Bøy heile brystet framover, slik at lungene blir tilgjengelege for inspeksjon. Ved behov for nærmare inspeksjon av organ i brystopningen (som bakre delar av spiserør og luftrør, kro, *Plexus brachialis*, samt thyreoidea- og parathyroidkjertlar) klipper ein inn i skulderleddet på eine sida, klipper av Os coracoideum på same side og legg brystet over på motsett side. Vurder behov for mikrobiologi av indre organ før oppklipping av spiserør/tarm, slik at ev. prøver kan tas ut aseptisk.

Stikk saksa inn i kloakken og klipp forsiktig inn i kroppshula slik at bakre tarm og bursa Fabricii blir tilgjengeleg for inspeksjon. Løys opp feitt- og bindevevsbrua mellom kloakk og krås med fingrane. Klipp av spiserøret mellom kjertelmagen og hjertet. Ta tak i kråsen, og dra heile tarpakka (med ev. eggleder) bakover og ut av kroppshula, men la tarm og eggleder forbli festa til kloakken. Løys levera og milten frå mage-tarmkanalen. Klipp eller dra opp krøset til tarm og eggleder. Legg opp tarm og eggleder ved sida av dyret. Klipp opp krås og kjertelmage. Inspiser alle indre organ, og ta ut, klipp eller snitt opp avhengig av anamnese, utsjånad på overflata av organet, og andre funn.

Undersøk knokkelstyrke ved å knekke Tarsometatarsus (eventuelt Tibiotarsus på ung kylling), ribbein, ev. nebb.

Prøver for histologi, mikrobiologi, kjemi

Dersom målet er å identifisere eit flokk-problem, bør ein avgrense prøvetakinga til organ frå individ med makrofunn som ser ut til å representere hovudproblemet. Ved uttak av prøver for mikrobiologi: hugs aseptikk! Legg spesielt vekt på å unngå kontaminering frå hud- og magetarmkanal-flora. Dersom obduksjon og anamnese ikkje peikar mot spesielle organ, kan histologi frå lunge, lever, hjerte og nyrer vera nyttig.

Spesielle indikasjonar (inspiser, snitt med kniv/saks, ta prøver)

- Sentralnervøse symptom: hjerne, ev. ryggmarg. Uttak av hjerne: hos *unge kyllingar* kan kraniet delast i sagittalplanet ved hjelp av ein skalpell, slik at hjernen blir delt i to. Hjernen kan ev. fikserast *in situ* før uttak for vidare prosessering ved laboratoriet. Dersom ein ønskjer å vurdere lokalisering av histologiske funn i forhold til sagittalplanet, må hjernen tas ut heil (ev. ved å fjerne kranielokket og fikserer før vidare uttak ved laboratoriet). Hos *eldre kyllingar og vaksne dyr* må ein først fjerne skalletaket med ei solid saks. Deretter kan ein dele hjernen i sagittalplanet med ein skalpell, og klippe/lirke hjernehalvdelane ut med hjelp av tyngdekrafta.
- 'Beinproblem': N. ischiadicus (lårnervene), ledd, sener og seneskjeder, femur (beinmarg, lårhovud), tibiotarsus (vekstlinja), muskulatur (histologi), virvelsøyle og ryggmarg
- Respirasjonssymptom: ta ut og palper lunger (ev. histologi), klipp opp bifurkaturen (der luftrøret deler seg i to), infraorbital-sinus (under augo) i tillegg til luftsekkar og trakea. Luftsekkane ligg rundt alle organa i kroppshula.



- Mistanke om immunsvikt: inspiser beinmarg (femur), bursa Fabricii, thymus, milt. Ev. histologi. Uttak av beinmarg: hos ung kylling kan ein skjera inn på beinmargen med ein kniv. Hos eldre kylling og vaksne fjørfe kan ein opne beinmargen ved å slå med baksida v kniven på knokkelen, eller splitte knokkelen med knivspissen. For histologi, fikser knokkel med opna beinmarg i formalin, og send inn til laboratorium for vidare undersøking.
- Forøvrig organ(system) utfrå symptombilde eller mistanke

Innsending av fiksert materiale for histologisk undersøking

Histologisk evaluering av obduksjonsfunn kan vera eit nyttig bidrag til diagnostikken. Skjer ut 4-5 millimeter tjukke skiver av forandra organ, og legg prøva på formalin. Ta prøva frå overgangen mellom friskt og forandra vev. Vel ut individ og organ med forandringar som synest representative for det som blir oppfatta som problemet i flokken. Mengdeforholdet mellom vev og formalin i prøveglaset bør vera ca. 1:10 til 1:20. Tynne bitar og nok formalin er viktig med tanke på å sikre god fiksering av vevet. Som fikseringsvæske brukar ein 10 % bufra formalin (4 % formaldehyd med fosfatbuffer). Send prøva i eit beger som sikrar at vevsbitane flyt fritt, og ikkje blir pressa mot innsida av begeret. Det er viktig at begeret, inkludert lokket, er heilt tett.

Innsending av dyr og ufiksert organmateriale for patoanatomisk undersøking

Innsending av heile kadaver gir laboratoriet høve til ei meir allsidig evaluering enn det som er mulig på meir avgrensa prøvemateriale. Slike innsendingar kan vera eit nyttig supplement til eigne obduksjonsfunn, særleg dersom ein er usikker på betydning av funna. Det vil i dei fleste tilfelle vera meir aktuelt å sende inn heile kadaver enn ferske organ av fjørfe. For å sikre representativt materiale må ein velja ut kadaver eller avlive sjuke dyr som synest typiske for problemet. Ein bør dessutan sende inn fleire enn eitt dyr, gjerne 5 individ.

Dersom det ikkje vil forsinke innsendinga vesentleg, er det ein fordel å kjøle ned materialet før innsending. Men materiale for patoanatomisk undersøking skal ikkje frøysast, da blir materialet vesentleg vanskelegare å evaluere. Unngå å pakke kadaver og organ direkte i tett plast, da dette vil akselerere bakteriell nedbryting av vevet. Sørg derfor for rikeleg med væskesugande materiale (papir) rundt kadaver/organ, før du pakkar i emballasje som hindrar utsiving av væsker (blod med meir), og til slutt legg det heile i ytre emballasje. Ved behov for innsending rett før ei helg, bør ein vurdere å lagre prøvene på kjøll over helga før innsending, eller om ein kan vente med prøvetaking til etter helga. Merk pakka med 'FORSIKTIG! BIOLOGISKE PREPARAT!'. Sjå elles Postverket sine reglar for innsending av biologisk materiale. Dess kortare transport-tid, dess bedre. Spesielt viktig er kort transport-tid i den varme delen av året.

Det kan vera nyttig å supplere innsendinga med formalinfiksert vev frå lesjonar som innsendar oppfattar som representative.

Litteratur

M.J. Alcorn (2008). How to carry out a field investigation. *In* M. Pattison, P. McMullin, J.M. Bradbury and D.J. Alexander (editors) 'Poultry Diseases', 6th edition, Saunders Elsevier, ISBN 978-0-7020-2862-5, pp. 14-47.

A.J. Bermudez and B. Stewart-Brown (2008). Disease Prevention and Diagnosis. *In* Y.M Saif (Editor-in-Chief) 'Diseases of Poultry', 12th edition, Blackwell Publishing, ISBN-13: 978-0-8138-0718-8, pp.5-42

Björn Engström, Magne Kaldhusdal, Gerhard Schaller, Atle Løvland (2002). Undersøkelser i fjørfebesetninger. *I: Fjørfeesykdommer. Forelesningskompendium for Norges Veterinærhøgskole*, s. 8-13.