مطالعه شیوع وشناسایی مولکولی ویروس های آنفلوانزای پرندگان H_9N_2 و نیوکاسل در گله های گوشتی مبتلا به سندرم کمپلکس تنفسی در ایران در سال ۱۳۹۹ در هشت استان ایران

پیمان یونسی [۱]، آرش قلیانچی لنگرودی [۲]، حسین حسینی [۳]، کاوه پروندار اسداللهی [۱*]

چکیده

پرندگان دستگاه تنفسی گسترده‌ای دارند و به دلیل همین گستردگی عوامل عفونی متعددی می‌توانند آن‌ها را مورد تأثیر قرار دهند. طیور صنعتی نیز از این مسئله مستثنی نبوده و بیماری‌های بسیار مهمی باعث درگیری این دستگاه در پرندگان می‌شوند.عوامل ویروسی به طور عمده تخریب گسترده‌تری نسبت به عوامل دیگر دارند و همچنین شیوع و واگیری بالای آن‌ها باعث شده که از مهم‌ترین عوامل تهدیدکننده‌ی این صنعت به حساب بیایند. از میان تمام عوامل ویروسی، ویروس‌های آنفلوانزا و نیوکاسل به دلیل کشندگی و شیوع بالا از عوامل بحرانی مرغداری‌های صنعتی در ایران و جهان به شمار می‌آیند. برای پیشگیری از این موارد از واکسیناسیون گسترده در تمامی انواع طیور استفاده می‌شود ولی به دلیل جهش در محتوای ژنومی و شکست در واکسیناسیون، همچنان بروز بیماری مشاهده می شود. در این راستا دراین مطالعه شیوع مولکولی ویروس‌های آنفلوانزا و نیوکاسل را در گله‌های گوشتی هشت استان کشور بررسی شد. ما از ۹۰ مزرعه طیور گوشتی در بازه‌ی زمانی شهریور ۱۳۹۹ تا پایان دی ماه ۱۳۹۹ نمونه‌برداری کردیم و آن‌ها با آزمون RT-PCR مورد مطاله قرار دادیم. نتایج ما نشان داد که استان خراسان رضوی (۵۰٪) و کرمان (۳۰٪) به ترتیب بیشترین شیوع نیوکاسل و آنفلوانزا را در کل هشت استان داشتند. پایش دائمی موارد رخ داده و بررسی برنامه‌های واکسیناسیون گله‌های مبتلا در هر سال از اقدامات لازم برای کنترل استراتژیک سندرم تنفسی در جوجه‌های گوشتی است. قابل ذکر است که انجام مطلعات اپیدمیولوژیک بر روی عوامل موثر در شیوع این سندرم و شکست استراتژی واکسیناسیون ضروری به نظر میرسد.

واژگان کلیدی: آنفلوانزا، نیوکاسل، گله‌ی گوشتی، RT-PCR، ایران، شیوع

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۲/۲۵

۱*. گروه علوم درمانگاهی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
kaveh_parvandar@yahoo.com
۲. گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران. تهران. ایران
۳. گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد کرج، کرج، ایران.

مقدمه

ویروس آنفلوانزای پرندگان از جمله کشنده‌ترین و واگیرترین ویروس‌های پرندگان می‌باشد. ویروس آنفلوانزای پرندگان از خانواده‌ی اورتومیکسوویریده دارای RNA قطعه قطعه می‌باشد و به لحاظ پاتوژنیستیه به دو دسته‌ی با پاتوژنیسیته‌ی کم (LPAI) و با پاتوژنیسیته‌ی بالا (HPAI) تقسیم می‌شود (۱). دو آنتی ژن اصلی در پاتوژنیسیته‌ی آنفلوانزای پرندگان نقش دارد که هماگلوتینین (H) و نورآمینیداز (N) می‌باشند. هماگلوتینین ویروس را به گیرنده‌های سلولی سیالیل الیگوساکارید متصل می‌کند و نورآمینیداز باعث تخریب گیرنده‌ی سلولی می‌شود. تا به امروز، ۱۶ هماگلوتینین (H1-H16) و ۹ نورآمینیداز (N1-N9) کشف شده‌اند (۲).

آنفلوانزا یکی از عوامل مهم زیان اقتصادی در صنعت طیور می‌باشد، به طوریکه تخمین زده می‌شود فقط سویه‌ی H5NX از اواخر سال ۲۰۰۳ تا ۲۰۱۷ باعث تلف یا حذف شدن بیش از ۳۰۰ میلیون قطعه طیور صنعتی در آسیا شده که این ضرر اقتصادی بیش از ۱۰ میلیارد دلاری به همراه داشته است همچنین تخمین زده می‌شود که آنفلوانزای H5N1 می‌تواند پاندمی بسیار بحرانی ایجاد کند که رقم بهت‌انگیز ۳ تریلیون دلار ضرر اقتصادی وارد کند. همچنین

طبیعت زئونوز بودن این بیماری نگرانی‌های موجود در مورد این ویروس را دوچندان کرده است (۳).

ویروس نیوکاسل یکی دیگر از فاجعه بارترین ویروس‌های صنعت طیور می‌باشد که توانایی بیمار کردن طیف بسیار وسیعی از پرندگان را دارد. ویروس نیوکاسل عضوی از خانواده‌ی پارامیکسوویریده و تحت خانواده‌ی آوولاویرینه می‌باشد که البته هنوز به شکل رایج به این تحت خانواده پارامیکسوویروس‌های ۲۰-۱ پرندگان می‌گویند. اولین گزارش ویروس نیوکاسل به سال ۱۹۲٦ در جاوه اندونزی برمی‌گردد که دقیقاً در سال بعد در نیوکاسل انگلستان نیز شناسایی شد. هر چند که دویل(Doyle) در ابتدا نام «بیماری نیوکاسل» را به عنوان یک اسم موقت برای بیماری‌های این ویروس قرار داده بود، در طول زمان به عنوان نام اصلی این بیماری قرار گرفت (٤). این ویروس هم مثل ویروس آنفلوانزا یک مشکل جهانی است که می‌تواند باعث تلف شدن طیور صنعتی، اختلال در وزن‌گیری و مشکلات بسیار دیگر شود(۵).

ویروس نیوکاسل دارای ٦ ژن روی RNA خود است که ٦ پروتئین ساختاری نوکلئوکپسید، فسفوپروتئین، ماتریکس، اتصال، هماگلوتینین-نورآمینیداز و پروتئین پلی‌مراز بزرگ را کد می‌کند. اگرچه تمام ویروس‌های نیوکاسل از یک سروتیپ هستند، ولی بر اساس ژن اتصال به دو کلاس I و II تقسیم می‌شوند. ویروس‌های کلاس I اکثراً حدت پایین‌تری دارند ولی کلاس II مخلوط حدت‌های پایین و بالا هستند (٦).

صنعت طیور گوشتی در کشور ایران با حدود ۱/۲ میلیارد قطعه جوجه ریزی سالیانه قسمت عمده‌ای از صنعت طیور کل کشور را در بر می‌گیرد. از طرفی دستگاه تنفسی در کنار دستگاه گوارشی دو دستگاه اصلی بدن طیور می‌باشند و بیماری‌های درگیر کننده‌ی این دو دستگاه تأثیر بسیار مهم و مستقیم بر سلامت پرنده دارند. هدف از انجام مطالعه‌ی حاضر بررسی شیوع مولکولی ویروس‌های آنفلوانزا و نیوکاسل در گله‌های گوشتی مبتلا به سندرم کمپلکس تنفسی بود.

مواد و روش‌کار

نمونه‌گیری

مزرعه آلوده به بیماری تنفسی به عنوان گله ای با علائم بالینی اصلی مانند افسردگی، ، عطسه، سرفه، تنگی نفس، و ترشحات بینی با یا بدون اسهال یا با علائم سیستم عصبی مرکزی مانند فلج بال، فلج پاها، یا پیچ خوردگی گردن تعریف شد. تعداد ۹۰ مزرعه گوشتی از ۸ استان در بازه‌ی زمانی شهریور ۱۳۹۹ تا پایان دی ماه ۱۳۹۹ نمونه‌برداری شدند. از ۹۰ مزرعه گوشتی نمونه برداری شده ، بیشترین تعداد نمونه‌گیری از استان‌های مازندران (۱۵ مزرعه) و آذربایجان شرقی (۱۳ مزرعه) بود. استان‌های اصفهان (۱۲ مزرعه)، فارس (۱۱ مزرعه)، خراسان رضوی (۱۰ مزرعه)، قزوین (۱۰ مزرعه)، کرمان (۱۰ مزرعه) و یزد (۹) در رده‌های بعدی در تعداد نمونه‌گیری قرار داشتند. سن گله های مورد مطالعه بین ۲۵ تا ۳۵ روزگی بود. حجم مرغداری‌ها از ۱۰ هزار قطعه تا ۱۰۰ هزار قطعه متفاوت بود. سیستم پرورشی آن‌ها نیز نسبت به موقعیت جغرافیایی آن‌ها متفاوت بود. ازتلفات هر مزرعه ۱۵ نمونه نای و ریه، طحال، لوزه‌های سکومی و نمونه‌های مغز،اخذ شد و نمونه‌های اندام‌های یکسان با یکدیگر مخلوط شدند. تمامی پرندگان این مزارع حداقل یک دوز واکسن نیوکاسل تخفیف حدت یافته و نیوکاسل و آنفلوانزای H9N2 روغنی دریافت کرده بودند. نمونه‌ها در PBS روی کیسه‌های یخ جمع‌آوری و به آزمایشگاه مولکولی ارسال شد.

استخراج RNA و تشخیص ویروس با RT-PCR

در این مطالعه، نمونه‌های نای و ریه، طحال، لوزه‌های سکومی و نمونه‌های مغز از هر مزرعه جداسازی شده و

سپس از آن سوسپانسیون ۱۰ درصد در PBS تهیه شد. پس از سانتریفیوژ با سرعت کم، ۱ میلی لیتر مایع رویی جمع آوری و برای آزمایشهای بعدی استفاده شد سپس با استفاده از کیت استخراج Sinaclon ,Iran RNA مرحله‌ی استخراج RNA انجام شد.

RNA استخراج شده به دو قسمت مساوی تقسیم شد و هر قسمت برای آزمایشهای PCR بعدی استفاده شد. ساخت cDNA توسط کیت سنتز RevertAid First Strand cDNA (Thermo Fisher Scientific, USA) انجام شد. برای تشخیص آنفلوانزای پرندگان وبیماری نیوکاسل، آزمایش مولکولی طبق روش های توصیف شده زیر انجام شد. جهت تشخیص آنفلوانزای پرندگان مطابق روش وو و همکاران از پرایمر اختصاصی ژن M که قادر به شناسایی آنفلوانزای تیپ A پرندگان می باشد که در این روش از پرایمر آغازگر (AF) و پرایمر معکوس (AR) استفاده گردید. (۷). درادامه برای تشخیص آنفلوانزای تحت تیپ H9 از پرایمر خاص طراحی شده توسط لی و همکاران که می تواند بخشی از ژنوم HA را شناسایی کند با پرایمر آغازگر (H9F) و پرایمر معکوس (H9R) که توانایی تکثیر ٤٨٨ جفت باز از ژن HA را دارد ، در این مطالعه مورد استفاده گردید (۸). برای تشخیص نیوکاسل از زوج پرایمر اختصاصی,آغازگر(N1) و معکوس(N2) پیشتر توسط لیانگ و همکاران توصیف شده است که می تواند بخشی از ژنوم F را تکثیر نماید، استفاده شد(۹). در جداول ۱و۲ پرایمرهای اختصاصی تشخیص آنفلوانزا و نیوکاسل وهمچنین محتویات مستر میکس درج گردیده است

آزمون RT-PCR با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر با پرایمرهای جدول ۱ و مستر میکس جدول ۲ برای تشخیص نیوکاسل و آنفلوانزا در دستگاه ترموسایکلر اپندورف Nexus eco GX2,Germany با شرایط مندرج در جدول ۳ به طور جداگانه انجام شد. محصول PCR به ژل آگاروز ۱/۵٪ واجد اتیدیوم بروماید منتقل شد و پس از الکتروفورز مورد بررسی قرار گرفت.

جدول ۱- پرایمرهای تشخیص آنفلوانزاH9N2 و نیوکاسل در این مطالعه

تشخیص	پرایمر	توالی	قطعه تکثیر شده
نیوکاسل	N1	5'-ATGGGC(C/T)CCAGA(C/T)CTTCTAC-3'	۵۳۵ جفت باز
	N2	5'-CTGCCACTGCTAGTTGTGATAATCC-3'	
آنفلوانزای تیپ A	AF2	5'-AGGTCGAAACGTAYGTTCTCTATI-3'	۱۳۳ جفت باز
	AR3	5'-GGTCTTGTCTTTAGCCAYTCCAT-3'	
آنفلوانزا H9N2	H9F	5'-CTYCACACAGARCACAATGG-3'	٤٨٨ جفت باز
	H9R	5'-GTCACACTTGTTGTTGTRTC-3'	

جدول ۲- محتویات مستر میکس PCR

ماده	مقدار
PCR Buffer (10X)	۲/۵ میکرولیتر
$MgCl_2$	۲ میلی مول
dNTP	۰/۲ میلی مول
Taq DNA polymerase	۱ واحد

پرایمر	۱ میکرولیتر	cDNA	۵ میکرولیتر

جدول ۳- برنامه چرخش دمایی واکنش زنجیره ای پلیمراز رونویسی معکوس. مرحله واسرشت برای ویروس نیوکاسل ٤٠ چرخه و برای ویروس آنفلوانزای H9N2 ۳۵ چرخه

مراحل تکثیر	دما(°C)		زمان مراحل تکثیر(دقیقه و ثانیه)	
	نیوکاسل	آنفلوانزا	نیوکاسل	آنفلوانزا
واسرشت ابتدایی	۹۵	۹٤	۳ دقیقه	۵ دقیقه
واسرشت	۹۵	۹٤	۳۰ ثانیه	۳۰ ثانیه
اتصال	۵۵	۵۰	۱ دقیقه	۳۰ ثانیه
طویل شدن	۷۲	۷۲	۱ دقیقه	۳۵ ثانیه
طویل شدن نهایی	۷۲	۷۲	۱۰ دقیقه	٤ دقیقه

نتایج

در این مطالعه از ۹۰ مزرعه گوشتی نمونه برداری شده ۱۹ مزرعه گوشتی از نظر آنفلوانزا در آزمون RT- PCR مثبت گزارش شدند.از این ۱۹ مزرعه گوشتی ۱۵ مزرعه از نظر آنفلوانزا به تنهایی و تعداد ٤ مزرعه به طور همزمان در آزمون RT-PCR هم از نظر آنفلوانزا و نیوکاسل مثبت گردیدند. ۲۱/۱ درصد شیوع مولکولی آنفلوانزا در کل مزارع نمونه برادری ثبت گردید. بیشترین شیوع آنفلوانزا در استان کرمان به میزان ۳۰ درصد و پس از آن در استان مازندران به میزان۲٦/٦ بود. و کمترین میزان شیوع این بیماری در استان آذربایجان شرقی با ۷/٦ درصد مشاهده گردید.در مطالعه حاضر شیوع مولکولی بیماری نیوکاسل ۲٦/٦ درصد بود . بیشترین شیوع نیوکاسل در استان خراسان با میزان ۵۰ درصد و پس از آن در استان مازندران با ٤٦/٦ درصد مشاهده شد . کمترین شیوع نیوکاسل در استان فارس با میزان ۹ درصد مشاهده گردید .در جدول ٤ اطلاعات کامل نتایج به همراه پراکندگی مزارع در هر استان و شیوع بیماریهای آنفلوانزا و نیوکاسل آمده است.

بحث

پرورش طیور از سیستم‌های تولید یکپارچه وسیع تا پرورش به صورت آزاد، شرایطی را برای بروز عفونت‌های چندعاملی پیچیده مانند عفونت‌های باکتریایی، مایکوپلاسما و ویروسی فراهم کرده است. در بسیاری از موارد، مشکلات تنفسی به دلیل عفونت با چندین عامل عفونی است (۳).

در ایران، بیماری های تنفسی در طیور ناشی از ویروس آنفلوانزا و نیوکاسل و برونشیت عفونی باعث مرگ و میر قابل توجه در جوجه های گوشتی می شود. این عفونت ها یا به صورت انفرادی یا در ترکیب با هم به صورت عفونت های چند عاملی رخ می دهند. شواهد نشان می دهد که بیشتر این عوامل اثر هم افزایی دارند که باعث ضرر های اقتصادی کلان تری می گردند . در سال‌های اخیر، علی‌رغم

اقدامات پیشگیری و کنترل ملی و داخلی علیه این سه بیماری ویروسی ، همراه با استفاده گسترده از واکسن‌های

جدول٤- تعداد گله ها با نشانه های تنفسی در استانهای نمونه گیری شده و شیوع نیوکاسل و آنفلوانزا در مطالعه‌ی حاضر

استان	تعداد مزرعه	عفونت				شیوع (٪)	
		ND	AI	ND-AI همزمان	نبود عفونت *	ND	AI
مازندران	۱۵	٦	۳	۱	٥	٤٦/٦	۲٦/٦
آذربایجان شرقی	۱۳	۲	۰	۱	۱۰	۲۳/۰	۷/٦
اصفهان	۱۲	۲	۳	۰	۷	۱٦/٦	۲٥
فارس	۱۱	۱	۲	۰	۸	۹/۰	۱۸/۱
خراسان رضوی	۱۰	٤	۱	۱	٤	٥۰	۲۰
قزوین	۱۰	۲	۲	۰	٦	۲۰	۲۰
کرمان	۱۰	۱	۳	۰	٦	۱۰	۳۰
یزد	۹	۲	۱	۱	٥	۳۳/۳	۲۲/۲
مجموع و شیوع کلی	۹۰	۲۰	۱٥	٤	٥۱	۲٦.٦	۲۱.۱

* نبود عفونت در اینجا تنها به معنای عدم وجود عفونت AI یا ND می‌باشد.

متنوع، شیوع این بیماری‌های ویروسی همچنان باعث بروز سندرم‌های تنفسی در گله‌های گوشتی می‌شود(۱۰). در سایر کشورها نیز این سه عامل از عوامل مهم خسارت بار صنعت به ویژه طیور گوشتی معرفی شده اند و عفونت های همزمان آن ها شناسایی شده اند (۱۱-۱۳).

بیماری نیوکاسل در ایران بومی شده است و از جمله بیماری هایی ست که در سال های گذشته تاکنون نقش مهمی در سندرم تنفسی در مزارع طیور کشور داشته است. علی رغم واکسیناسیون گسترده سالانه تعداد زیادی از همه گیری این بیماری در کشور دیده می شود(١٤). ویروس آنفلوانزای H9N2 بیش از ۲۰ سال است که درطیور صنعتی ایران در حال پخش است با وجود اینکه این تیپ به عنوان آنفلوانزا با بیماریزایی کم (LPAI) طبقه بندی می شود، اما در همراهی با سایر عوامل پاتوژن طیور این قابلیت را دارد که تلفات قابل توجهی ایجاد کنند(١٥, ١٦).

در مطالعه‌ی بوعذاری و همکاران (۲۰۰٦) که شیوع سرمی نیوکاسل را بین تابستان ۱۹۹۸ و تابستان ۱۹۹۹ در طیور بومی دشت اصفهان در شهرستانهای خمینی شهر ،

فلاورجان ،زرین شهرو مبارکه ،که سابقه واکسیناسیونی علیه نیوکاسل برای آنها ثبت نشده بود بررسی کردند، شیوع سرمی این ویروس را ٦٩/٥٪ و ٦٨/٥٪ بین دو فصل تابستان ١٩٩٨و ١٩٩٩ متوالی گزارش کردند (١٧). علت این اختلاف تقریباً سه برابری شیوع این مطالعه با مطالعه‌ی حاضر می‌تواند به امنیت زیستی پایین طیور بومی نسبت به مزارع صنعتی و همچنین تفاوت در نوع بررسی آزمایشگاهی این دومطالعه نسبت داد.

در مطالعه ای که توسط مهربان پور و همکاران (٢٠١١) جهت بررسی عوامل ویروسی نیوکاسل و آنفلوانزا دخیل در سندرم تنفسی طیور با آزمون RT-PCR در استان فارس انجام شد. از ٤٤ مزرعه نمونه برداری شده ١٨ مزرعه(٤٠/٩ درصد)ویروس نیوکاسل و در ٦ مزرعه (١٣/٦ درصد)ویروس آنفلوانزا H9N2 و در ١٨ مزرعه(٤٠/٩ درصد) توامان ویروس آنفلوانزا و نیوکاسل شناسایی شد و در ٢ مزرعه (٤/٥٤ درصد) باقی مانده، عوامل ویروسی نیوکاسل و آنفلوانزا شناسایی نشد (١٨). در مطالعه ما از ١١ مزرعه گوشتی نمونه گیری شده درهمین استان در٢ مزرعه (١٨/١ درصد) آنفلوانزا و دریک مزرعه (٩ درصد) نیوکاسل شناسایی شد..درمابقی مزارع (٧٢/٧ درصد) هیچ کدام از عوامل ویروسی نیوکاسل و آنفلوانزا شناسایی نشد. با توجه به اینکه سندرم تنفسی طیور چند عاملی می باشد ،احتمالا وجود سایر عوامل ویروسی و باکتریایی دیگر در این سندرم باعث ایجاد نشانه های تنفسی در این مزارع گردیده است.

فلاح مهرآبادی و همکاران (٢٠٢٠) برای مطالعه شیوع سرمی آنفلوانزا H9N2 در مزارع گوشتی در موقع کشتار از ٧٤٧ قطعه طیور که از ٧٤ مزرعه گوشتی در ١٣ استان ایران بین سال های ٢٠١٣ تا ٢٠١٦ نمونه خون گرفتند . با آزمون HI روی نمونه های خون قبل از کشتار از کل ٧٤٧ پرنده و ٧٤ مزرعه نمونه گیری شده به ترتیب ٤٤٥ پرنده (٥٩/٥٧ درصد) و ٥٧ مزرعه(٧٧درصد) تیتر سرمی مثبت داشته اند.(١٩).احتملا دلیل تفاوت میزان شیوع مطالعه فلاح مهر آبادی و همکاران با این مطالعه ،تفاوت در روش مطالعه آزمایشگاهی آنها می باشد.

برومند و همکاران (٢٠١٨) شیوع ویروس نیوکاسل ، آنفلوانزای H9N2 و برونشیت عفونی را در ١٠٠ نمونه از طیور بومی اهواز بین سال‌های ٢٠١٤ تا ٢٠١٥ را بررسی کردند. روش تشخیصی این مطالعه سواب از پرنده زنده و آزمون ممانعت از هماگلوتینین بود که با روش تشخیص سرمی (HI) ٧٧ درصد و ٤٥ درصد نمونه‌ها به ترتیب برای ویروس نیوکاسل و آنفلوانزا مثبت بودند، البته زمانی که روی نمونه‌های سواب RT-PCR انجام دادند نتایج آن‌ها نشان داد که ٩٥٪ از نمونه‌ها، آلوده به یک یا چند ویروس مورد بررسی آن‌هاست.درآزمون جداگانه RT-PCR برای هر کدام از عوامل ویروسی نیوکاسل ، آنفلوانزا و برونشیت در ٦٠٪ ، ٣٤٪و ٥٥٪ نمونه ها به ترتیب برای هر کدام از عوامل ذکر شده ، مثبت اعلام شد(٢٠). دلیل اختلاف معنادار این مطالعه با مطالعه‌ی حاضر سطح امنیت زیستی بسیار پایین‌تر طیور بومی نسبت به طیور صنعتی و چرخش مداوم عامل ویروسی در طیور بومی می‌تواند باشد.

حاج عبدالوهاب و همکاران (٢٠١٩) شیوع مولکولی بیماری های برونشیت عفونی، آنفلوانزا و نیوکاسل را در تمامی استان های ایران بین سال های ٢٠١٥ تا ٢٠١٦

بررسی کردند. این محققین شایع ترین بیماری عفونی ویروسی پرندگان، دخیل در ایجاد سندرم تنفسی در مرغداری های گوشتی ایران برونشیت عفونی با میزان ٤٧/٢ درصد گزارش کردند، بیماری های نیوکاسل و آنفلوانزا با میزان ۲۷ و ۲۱/۹درصد در رده های بعدی قرار داشتند.این محققین دلایل شیوع بالای برونشیت عفونی نسبت به آنفلوانزا و نیوکاسل را وجود سروتیپ های مختلف از برونشیت عفونی طیور که در مناطق مختلف ایران منتشر هستند و عدم وجود ایمنی متقاطع در بین این سروتیپ ها در بحث واکسیناسیون ارزیابی کردند(۲۱). همچنین شیوع کلی بیماری نیوکاسل و آنفلوانزا مطالعه ما به ترتیب ٢٦/٦و ۲۱/۱ درصد بود که با مطالعه حاج عبدالوهاب و همکاران همخوانی دارد.

در دیگر کشورها هم نیوکاسل و آنفلوانزا یکی از چالشهای صنعت طیور است . در مطالعه المهنا و همکاران (۲۰۱۳) در عراق از ۵۳ مزرعه گوشتی با علایم تنفسی نمونه های سواب نای و بافت نای پس ازکالبد گشایی گرفتند در آزمون RT-PCR عوامل بیماری نیوکاسل و آنفلوانزای H9N2 به طور همزمان در ٤٠ مزرعه (۷۵ درصد) از مجموع ۵۳ مزرعه نمونه گیری شده مثبت گزارش شد و ۱۳ مزرعه (۲۵ درصد) به تنهایی درگیری آنفلوانزای H9N2 را نشان دادند(۲۲). دلیل شیوع بالاتر این بیماریها در مطالعه المهنا و همکاران با مطالعه حاضر می تواند به دلیل تفاوت در سطح امنیت زیستی و روش های کنترلی، نظیر برنامه واکسیناسیون در کشور ایران و عراق باشد.

حسن و همکاران (۲۰۱٦) نیز با بررسی مولکولی به روش RT-PCR برای بررسی شیوع و مرگ و میر ناشی از عوامل تنفسی طیور در ٤ استان پرتراکم از نظر پرورش طیور گوشتی در مصر از ٨٦ مزرعه نمونه برداری کردند ،عامل برونشیت عفونی در ۸۳/۷ درصد از مواد نمونه گیری شده ،نیوکاسل،آنفلوانزای H9 وآنفلوانزای H5 هر کدام به ترتیب به میزان۸/۱، ٦١/٦ و ٢٦/٧ درصد در آزمون RT-PCR مثبت گزارش گردید. در ٦٦/٣ درصد از کل مزارع ،آلودگی به موارد ذکر شده فوق طور همزمان ثبت گردید. محققین علت شیوع بالای برونشیت و آنفلوانزای H9 را عدم واکسیناسیون و یا واکسیناسیون نامناسب علیه دو بیماری برونشیت عفونی و آنفلوانزا H9 وهمچنین وجود عوامل بالقوه سرکوب کننده ایمنی، که مستعد کننده سایر عفونت های ویروسی است را مفروض دانستند.(۱۲).

توسعه صنعت مرغداری در کشور و واردات انواع طیور و فراورده های آن و نیز نهاده های دام وطیور باعث گسترش بیماری های طیور و افزایش تنوع آن در کشور شده است. در دو دهه اخیر سندرم تنفسی در مرغداری ها موجب افت تولید و تلفات شده و خسارات زیادی به مرغداران وارد کرده است. تراکم بالای طیور بومی در بسیاری از استان ها با توجه به اینکه در این گونه طیور واکسیناسیون به طور منظم و اصولی علیه نیوکاسل و آنفلوانزا انجام نمی شود، از دلایل شیوع بالای این دو بیماری در این گونه از پرندگان است که همچنین می تواند در شیوع و گسترش این بیماری ها از طیور بومی به طیور صنعتی موثر باشند. از طرف دیگر امنیت زیستی پایین تر مزارع صنعتی گوشتی نسب به مزارع مادر و تخم گذار ، واکسیناسیون نادرست و غیر اصولی علیه بیماری های ویروسی ، قرار گرفتن ایران در مسیر پروازی پرندگان مهاجرو تماس با پرندگان مهاجر و آزاد پرواز از جمله عواملی هستند که در شیوع بیماری های نیوکاسل و آنفلوانزا نقش مهمی دارند. در شرایط ایران با

توجه به غلبه توسعه کمی بر توسعه کیفی صنعت طیورو در کناراین رشد کمی ،افـزایش سـویه هـای بیمـاریزا اجتنـاب ناپذیر است. شرایط بهداشتی نه چندان مطلوب کشور هـای همسایه ووجود بازار زنده فروشی در برخی از اسـتانها مـی تواند از دلایل شیوع بالای سندرم تنفسی در مزارع گوشـتی کشور باشد .بنـابراین پـایش دائمـی سـندرم هـای تنفسـی، بررسی برنامه های واکسیناسـیون و بررسـی عوامـل خطـر شیوع این بیماری هاوهمچنین مطالعه برروی سـایر عوامـل عفونی دیگر دخیل در سـندرم تنفسـی طیـور پیشـنهاد مـی گردد.

فهرست منابع

1. Nuñez IA, Ross TM. A review of H5Nx avian influenza viruses. Therapeutic advances in vaccines and immunotherapy. 2019;7:2515135518821625.
2. Shriner SA, Root JJ. A review of avian influenza A virus associations in synanthropic birds. Viruses. 2020;12(11):1209.
3. Swayne DE, Suarez DL, Sims LD. Influenza. Diseases of Poultry2020. p. 210-56.
4. Suarez DL, Miller PJ, Koch G, Mundt E, Rautenschlein S. Newcastle disease, other avian paramyxoviruses, and avian metapneumovirus infections. Diseases of poultry. 2020:109-66.
5. Dzogbema KF-X, Talaki E, Batawui KB, Dao BB. Review on Newcastle disease in poultry. International Journal of Biological and Chemical Sciences. 2021;15(2):773-89.
6. Mao Q, Ma S, Schrickel PL, Zhao P, Wang J, Zhang Y, et al. Review detection of Newcastle disease virus. Frontiers in Veterinary Science. 2022;9:936251.
7. Wu C, Cheng X, He J, Lv X, Wang J, Deng R, et al. A multiplex real-time RT-PCR for detection and identification of influenza virus types A and B and subtypes H5 and N1. Journal of virological methods. 2008;148(1-2):81-8.
8. Lee M-S, Chang P-C, Shien J-H, Cheng M-C, Shieh HK. Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. Journal of virological methods. 2001;97(1-2):13-22.
9. Liang R, Cao D, Li J, Chen J, Guo X, Zhuang F, et al. Newcastle disease outbreaks in western China were caused by the genotypes VIIa and VIII. Veterinary microbiology. 2002;87(3):193-203.
10. Ebadzadeh H, Ahmadi K, Mohammadnia Afruzi S, Taghani R, Moradi Eslami A, Yari S. Agricultural statistics. Center for Information and Communication Technology, Tehran. 2015:99-160.
11. Naeem K, Siddique N, Ayaz M, Jalalee M. Avian influenza in Pakistan: outbreaks of low-and high-pathogenicity avian influenza in Pakistan during 2003–2006. Avian diseases. 2007;51(s1):189-93.
12. Hassan KE, Shany SA, Ali A, Dahshan A-HM, Azza A, El-Kady MF. Prevalence of avian respiratory viruses in broiler flocks in Egypt. Poultry science. 2016;95(6):1271-80.
13. Xia J, Cui J-Q, He X, Liu Y-Y, Yao K-C, Cao S-J, et al. Genetic and antigenic evolution of H9N2 subtype avian influenza virus in domestic chickens in southwestern China, 2013–2016. PloS one. 2017;12(2):e0171564.
14. Hosseini H, Langeroudi AG, Torabi R. Molecular characterization and phylogenetic study of Newcastle disease viruses isolated in Iran, 2010–2012. Avian diseases. 2014;58(3):373-6.
15. Nili H, Asasi K. Avian influenza (H9N2) outbreak in Iran. Avian diseases. 2003;47(s3):828-31.
16. Fallah Mehrabadi MH, Ghalyanchilangeroudi A, Ghafouri SA, Malekan M, Ziafati Z, Hosseini H, et al. Full-genome characterization and genetic analysis of a H9N2 virus in commercial broilers in Iran, 2017. Tropical animal health and production. 2019;51:1737-49.
17. BOUZARI S, MOUSAVI MR. Seroepidemiology of Newcastle disease in domestic village chickens of plain areas of Isfahan province, central Iran. 2006.
18. Mehrabanpour M, Rahimian A, Shoshtari A, Fazel P, Kariminejhad E, Jula GRM. Molecular identification of avian respiratory viral pathogens in commercial broiler chicken flocks with respiratory disease in Shiraz-Iran during 2009-2010. International Journal of Animal and Veterinary Advances. 2011;3(5):300-4.

19. MH FM, Motamed N, Ghalyanchilangeroudi A, Tehrani F. Avian influenza (H9N2 subtype) in Iranian broiler farms: A cross-sectional study. Archives of Razi Institute. 2020;75(3):359.
20. Broomand Z, Jafari R, Mayahi M. Detection of Newcastle disease, H9N2 avian influenza, and infectious bronchitis viruses in respiratory diseases in backyard chickens in Ahvaz, Iran, in 2014-2015. Archives of Razi Institute. 2018;73(1):19-25.
21. Haji-Abdolvahab H, Ghalyanchilangeroudi A, Bahonar A, Ghafouri SA, Vasfi Marandi M, Mehrabadi MHF, et al. Prevalence of avian influenza, Newcastle disease, and infectious bronchitis viruses in broiler flocks infected with multifactorial respiratory diseases in Iran, 2015–2016. Tropical animal health and production. 2019;51:689-95.
22. Al-Mohana AM, Kadhimv HM, Al-Charrakh AH, Al-Habubi Z, Nasir FH, Al-Hilali SA, et al. Molecular diagnosis of avian respiratory diseases in commercial broiler chicken flocks in province of Najaf, Iraq. Scientific Research and Essays. 2013;8(26):1191-5.