# مطالعه همزمانی آلودگی به ویروس کم خونی عفونی جوجه ها (CIAV ) و کمپلکس های تنفسی در گله های طیور گوشتی شهرستان شوشتر و باوی

محمد جواد مهدوی اصل[1]، مسعود سلطانی الوار[2]، بهنام پدرام[3]

**چکیده:**

بیماری کم خونی عفونی جوجه ها موجب کم خونی آپلاستیک، تحلیل وسیع بافت لنفوئیدی همراه با تضعیف سیستم ایمنی می شود. درگیری با این ویروس زمینه را برای عفونت های ثانویه ی ویروسی، باکتریایی و قارچی فراهم می سازد. این بیماری بطور عمودی از گله های مادر به جوجه ها منتقل و موجب خسارات زیاد اقتصادی می شود. در پژوهش حاضر همزمانی آلودگی به ویروس کم خونی عفونی جوجه ها (CIAV) و کمپلکس های تنفسی در گله های طیور گوشتی شهرستان شوشتر و باوی به روش هماتوکریت و پاتولوژی مطالعه شد. طی مدت شش ماه از 20 گله مرغ گوشتی دارای علایم کمپلکس تنفسی نمونه خون کامل و نمونه های بافتی (بافت تیموس، بورس فابرسیوس و مغز استخوان) اخذ گردید. نتایج آزمایشات هماتوکریت در 95 درصد گله ها در رنج نرمال قرارداشت، در حالی که از بین گله های مورد آزمایش تعداد 50 درصد نمونه های بافتی ضایعات هیستوپاتولوژیکی مرتبط با آلودگی به ویروس کم خونی عفونی جوجه ها را نشان می دادند. نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که میزان آلودگی به ویروس کم خونی عفونی جوجه ها در جمعیت طیور گوشتی منطقه در سطوح بالا قرار دارد و منجر به افزایش تلفات و خسارات اقتصادی زیادی می شود.

**واژگان کلیدی:**ویروس کم خونی عفونی جوجه، ، کمپلکس های تنفسی، گله های طیور، شوشتر و باوی

---

**1- دانش آموخته رشته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر ، ایران**

**2- استادیار بخش بهداشت و بیماریهای طیور، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی ، شوشتر، ایران، نویسنده مسئول**

**3- استادیار گروه پاتولوژی، واحد سوسنگرد، دانشگاه آزاد اسلامی، سوسنگرد، ایران**

**مقدمه:**

ویروس کم خونی عفونی جوجه ها (CAV)یک عامل فراگیر بوده و باعث تضعیف سیستم ایمنی در جوجه ها می شود. این بیماری در سال 1979 برای اولین بار در ژاپن تشخیص داده شد. یک ویروس کوچکDNA دار ، تک رشته ای حلقوی در خانواده سیرکوویریده از جنس ژیروویروس می باشد. این ویروس اخیرا در خانواده Anelloviridae قرار داده شده است. ویروس اساسا جوجه های زیر 3 هفته را درگیر می نماید و تاثیر واقعی آن در صنعت طیور هنوز به طور کامل ارزیابی نشده است. CAV در اولین 3 هفته زندگی باعث کم خونی شدید، هیپوپلاژی مغز استخوان،تضعیف شدید سیستم ایمنی و تلفات بالا بر اثر عفونت های ثانویه باکتریایی و ویروسی می شود.این بیماری ممکن است یک تهدید اقتصادی قابل توجه برای صنعت طیور گوشتی باشد. شیوع بالینی CIA در جوجه های گوشتی در گله های مبتلا شده با 3.3٪ کمتر از وزن متوسط نسبت به گله های غیر آلوده گزارش شده است. ضایعات بافت شناسی در جوجه های آلوده شامل آتروفی و تخلیه بافت های لنفوئیدی، تخریب بافت هماتوپویتیک مغز استخوان می باشد. عفونت سبب درگیری سلول های هموسیتوبلاست شده که خود این مسئله باعث پانسیتوپنی می شود. کم خونی، لکوسیتوپنی و ترومبوسیتوپنی مشهود می باشد. هماتوکریت پایین بوده و اسمیر خونی اغلب کم خونی و لکوپنی را آشکار می سازد. تشخیص این بیماری بر اساس تاریخچه،علائم بالینی، یافته های پاتولوژیک میکروسکوپیک و ماکروسکوپیک، کشت سلولی، PCR، الایزا، ایمنوفلورسانس غیر مستقیم و آزمایش خنثی سازی ویروس می باشد. در روش هیستوپاتولوژی از بافت های مغز استخوان، تیموس، بورس فابریسیوس، طحال و کبد می توان نمونه برداری را انجام داد. وقوع همزمان ویروس کم خونی عفونی جوجه ها با سایر عفونتهای باکتریایی و ویروسی دیگر بعلت تضعیف ایمنی می تواند میزان تلفات را افزایش دهد.عفونت های دستگاه تنفسی اهمیت بالایی در صنعت طیور بخاطر مرگ و میر بالا در صورت ضعف مدیریتی دارند. اتیولوژی آنها پیچیده بود و در اغلب موارد بیش از یک عامل شرکت دارد .پاتوژن های زیادی در ارتباط با عفونتهای تنفسی در طیور نقش دارند که شامل پنوموویروس پرندگان، آنفلوانزای پرندگان، برونشیت عفونی، نیوکاسل و مایکوپلاسما گالیسپتیکوم می باشند. این عوامل به تنهایی یا با سایر عوامل باکتریایی و ویروسی دیگر همراه می شوند. .هدف از مطالعه حاضر تشخیص هیستوپاتولوژیک ویروس کم خونی عفونی جوجه ها بطور همزمان در گله های طیور گوشتی آلوده به کمپلکس های تنفسی به منظور بررسی میزان تلفات می باشد.

**مواد و روش ها:**

**نمونه برداری جوجه از مرغداریها**

با مراجعه به مراکز بخش خصوصی و دولتی دامپزشکی و مراکزخدمات رسان درمانی و آزمایشگاهی، لیست مرغداریهای درگیر با بیماری های تنفسی مشخص و تعدادی از آنها به طور تصادفی انتخاب گردیدند. تاریخچه، وضعیت بیماری هایی گله، علایم بالینی، میزان تلفات (جدول شماره 1) و برنامه واکسیناسیون ثبت می گردید. از هر گله مرغداری، تعداد 10 جوجه زنده برای تهیه 10 نمونه خون و سه نمونه بافتی از تیموس، مغز استخوان و بورس فابریسیوس تهیه گردید.از هر جوجه با استفاده از سرنگ 5 میلی لیتری به مقدار 3ـ2میلی لیتر خونگیری از قلب گرفته و در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA قرار داده شد. سپس علایم بالینی و کالبدگشایی لاشه بررسی و ثبت می گردید.

**آزمایشات پاتولوژی**

از هر مرغداری نمونه های بافتی از تیموس و بورس فابریسیوس و مغز استخوان ران اخذ گردید. نمونه های بافتی بلافاصله در ظروف حاوی 10 برابر حجم نمونه، فرمالین بافر 10درصد قرار داده شد و بعد از 24 ساعت فرمالین اولیه تعویض و پس از 48 ساعت به آزمایشگاه پاتولوژی انتقال داده شدند.جهت تهیه برش های بافتی ابتدا مرحله ثبوت نمونه ها به مدت 48 ساعت در فرمالین بافر 10 درصد انجام گردید. به ترتیب مراحل آبگیری بوسیله الکل اتیلیک با درجات صعودی (از70 تا 100درجه)، شفاف سازی، آغشته سازی، قالب گیری و برش با دستگاه میکروتوم انجام گرفت. برشها به ضخامت 5 میکرون تهیه و در مرحله بعد، رنگ آمیزی با رنگ هماتوکسیلین- ائوزین انجام شد. بررسی هیستوپاتولوژیکی لام ها با میکروسکوپ المپیوس مدل CX23 انجام گرفت.

**تشخیص کمپلکس های تنفسی**

جهت تشخیص از روش بالینی و کالبد گشایی استفاده گردید و جوجه های مبتلا به علائم تنفسی شامل رال تنفسی، ترشحات چشمی و بینی همراه با جراحات در بافت های تنفسی را مثبت در نظر گرفته شد.

**آزمایشات هماتوکریت**

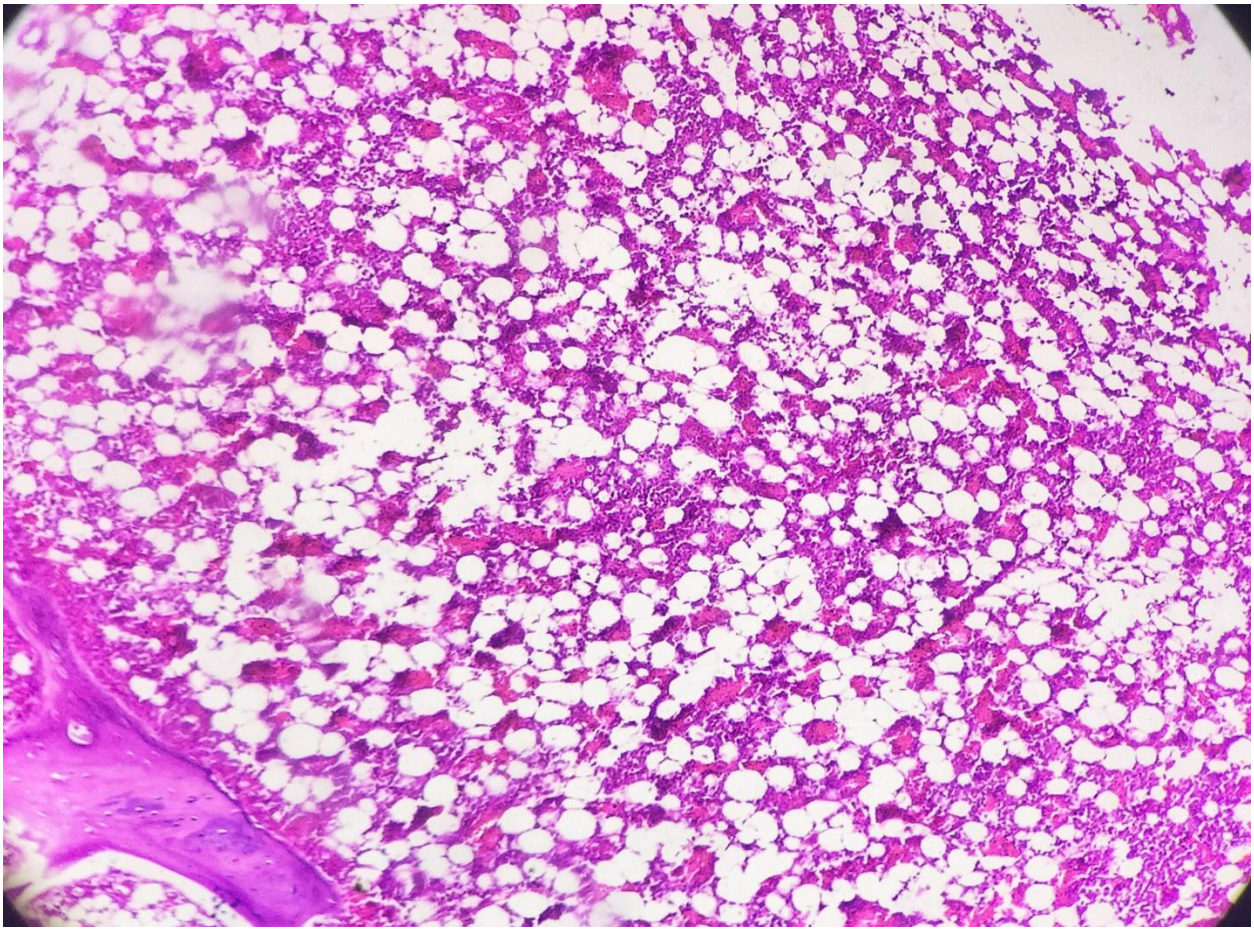
میزان 2 الی 3 میلی لیتر خون توسط سرنگ از قلب جوجه ها گرفته شد و در لوله حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA) در کنار یخ به آزمایشگاه دانشکده دامپژشکی شوشتر انتقال و به روش میکروهماتوکریت، میزان هماتوکریت (PCV) آنها تعیین گردید.

**نتایج**:

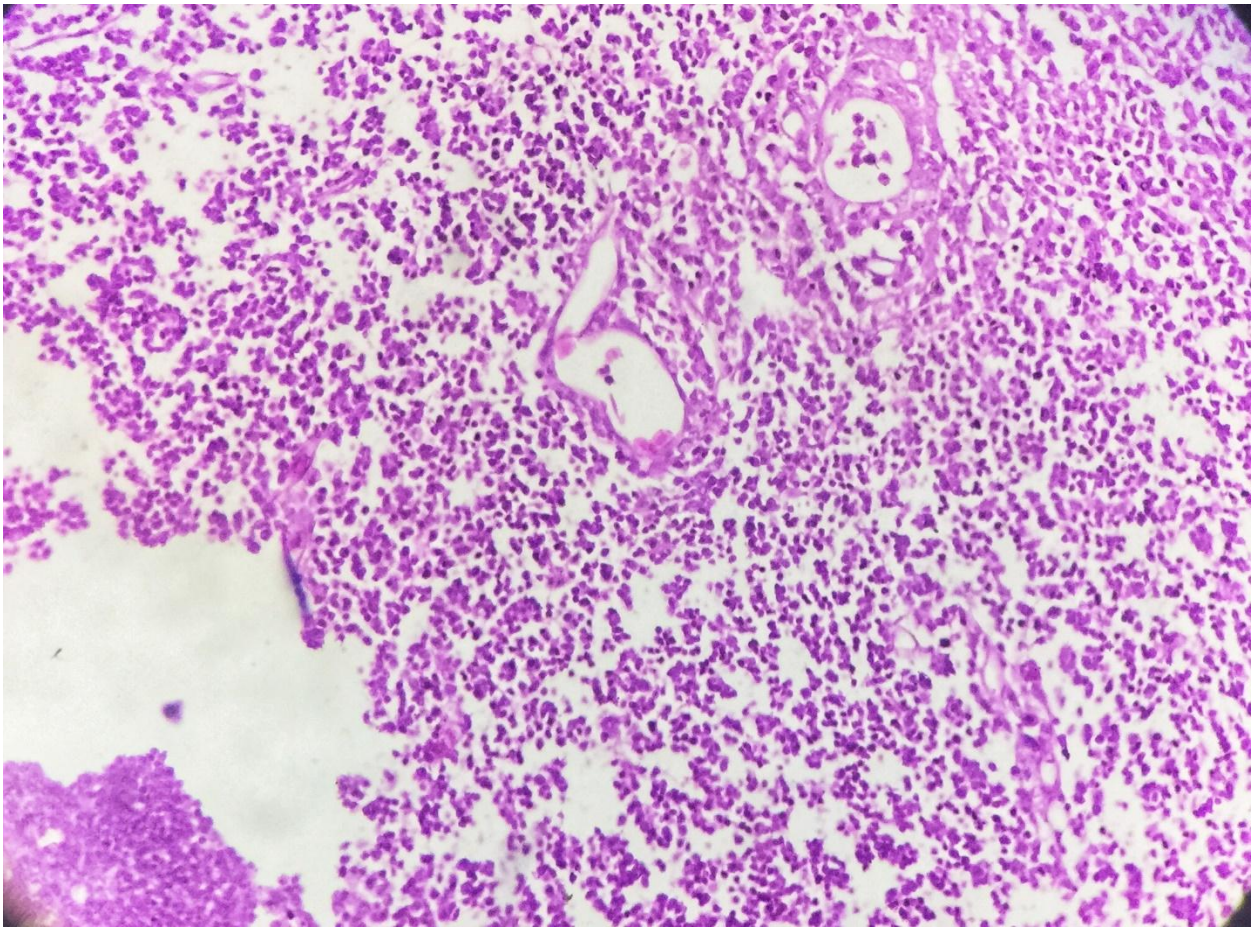
بررسی هیستوپاتولوژیک نمونه ها نشان داد که 50 درصد مرغداری های منطقه مطالعه درگیر ویروس کم خونی عفونی جوجه ها می باشند. نتایج بررسی پاتولوژی مغز استخوان جوجه ها، آتروفی، نکروز، دژرسانس سلول های هماتوپویتیک و یا جایگزین شدن لیپوسیت ها بجای آنها را نشان می داد (شکل 1).در بررسی هیستو پاتولوژیک تیموس ضایعاتی شامل تخلیه لنفوسیتی، نامشخص شدن مرز بین مدولا و کورتکس، خونریزی وسیع در مدولا، دژرسانس تیموسیت ها و تخلیه لنفوسیتی اصطلاحاً به شکل آسمان پرستاره مشاهده گردید(شکل 2) .در بررسی هیستوپاتولوژیک بورس فابریسیوس، تخلیه لنفوسیتی فولیکولها با درجات مختلف کم تا شدید، نا مشخص شدن مرز بین مدولا و کورتکس در فولیکولها، آتروفی فولیکولی و افزایش بافت همبند بین فولیکولی، دژرسانس فولیکولی، تخلیه لنفوسیتی و تشکیل حفرات کیستیک دیده شد(شکل 3) .نتیجه آزمایش هماتوکریت از تعداد 20 گله جوجه، فقط یک گله( معادل 5 درصد گله ها) از نظر کم خونی مثبت بوده و هماتوکریت 25 درصد را نشان داده است و بقیه نمونه ها مربوط به 19 گله جوجه (معادل 95 درصد گله ها)، هماتوکریت بالای 26 درصد را نشان دادند (جدول 1) . نتیجه بررسی های بالینی کمپلکس های تنفسی، سابقه در گیری در 20 گله را نشان می داد. از این تعداد تنها در 10 گله عفونت همزمان کمپلکس های تنفسی با ویروس کم خونی عفونی جوجه مشاهده گردید و میانگین تلفات در این گله ها 13/15 درصد و تعداد جوجه ها 161000 قطعه محاسبه گردید. در حالیکه میانگین تلفات در گله هایی که ویروس کم خونی عفونی را نداشتند 6/86 درصد و تعداد جوجه ها 159700 قطعه محاسبه شد. لذا می توان نتیجه گرفت که میزان تلفات در گله های آلوده به ویروس کم خونی عفونی جوجه ها در عفونت همزمان افزایش یافته است. نتایج هماتوکریت، تنها در گله شماره 2 غیر طبیعی بوده که با توجه به سالم بودم مغز استخوان و سن کم جوجه های مذکور(8 روزگی) نمی تواند اهمیت قابل توجهی را داشته باشد. (در جدول 1 نتایج نشان داده شده اند).

جدول 1 تعداد جوجه ریزی ، تعداد تلفات ، درصد تلفات، سابقه بیماری و نتایج آزمایش پاتولوژی و هماتوکریت

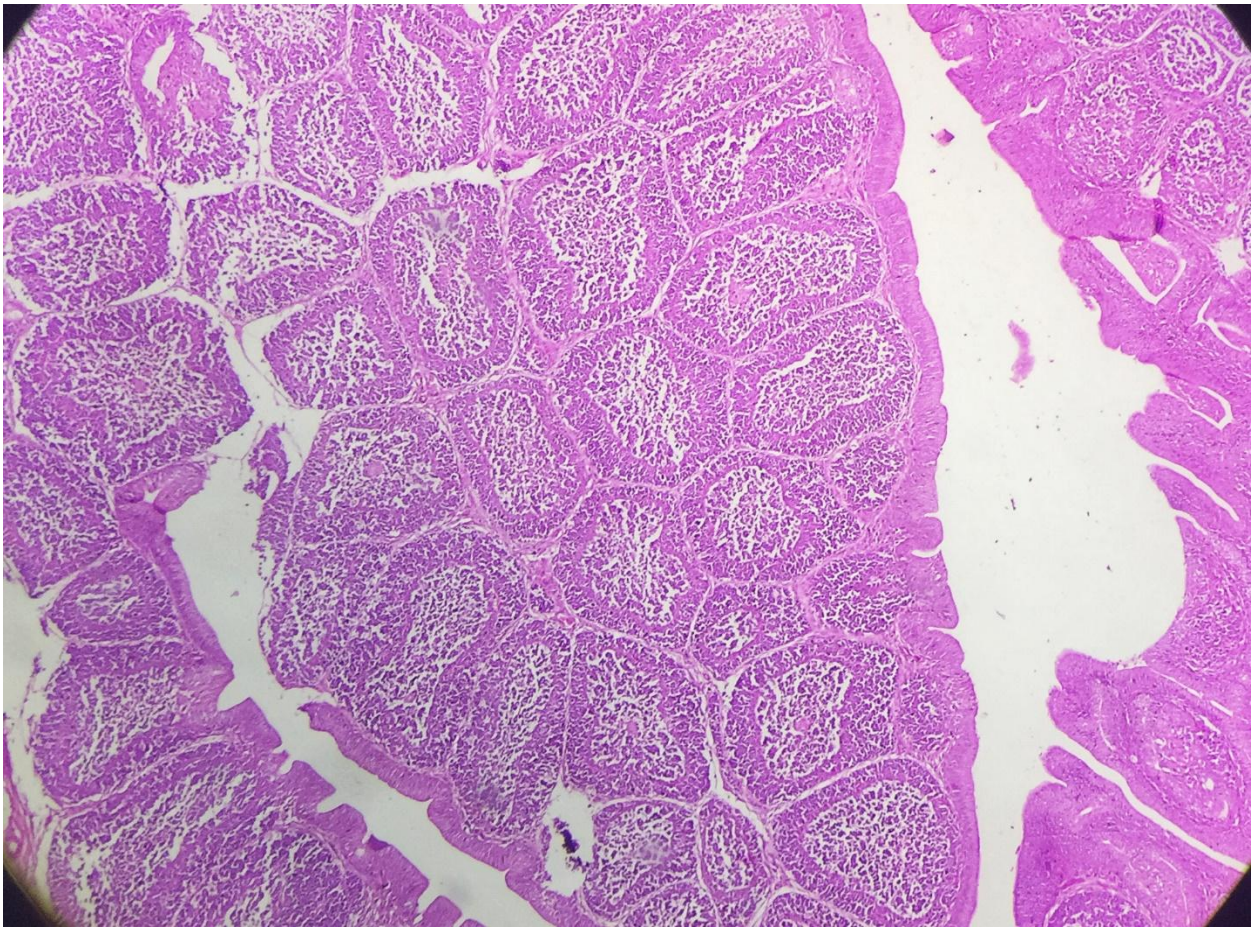
| شماره گله (مرغداری) | تعداد جوجه ریزی | تعداد تلفات | درصد تلفات | نتیجه آزمایش پاتولوژی (CIA) | میزان هماتوکریت % | سابقه بیماری گله |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 18700 | 1028 | 5/5 | _ | 28 | کلی باسیلوز |
| 2 | 19000 | 1615 | 8/5 | - | **25** | کلی باسیلوز |
| 3 | 14000 | 980 | 7 | - | 30 | کلی باسیلوز |
| 4 | 14000 | 840 | 6 | - | 35 | کلی باسیلوز |
| 5 | 15000 | 1200 | 8 | _ | 33 | برونشیت |
| 6 | 20000 | 1800 | 9 | + | 28 | کلی باسیلوز+ CRD |
| 7 | 15000 | 600 | 4 | _ | 27 | کلی باسیلوز |
| 8 | 10000 | 1300 | 13 | + | 32 | کلی باسیلوز+ CRD |
| 9 | 12000 | 900 | 7/5 | - | 30 | کلی باسیلوز |
| 10 | 16000 | 1040 | 6/5 | _ | 35 | برونشیت |
| 11 | 38000 | 5700 | 15 | + | 32 | برونشیت |
| 12 | 15000 | 1800 | 12 | + | 39 | کلی باسیلوز+ برونشیت |
| 13 | 11000 | 1155 | 10/5 | + | 32 | کلی باسیلوز |
| 14 | 6000 | 840 | 14 | + | 30 | برونشیت |
| 15 | 15000 | 1650 | 11 | + | 28 | کلی باسیلوز |
| 16 | 14000 | 2800 | 20 | + | 32 | نیوکاسل |
| 17 | 13000 | 1950 | 15 | + | 44 | نیوکاسل + کلی باسیلوز |
| 18 | 12000 | 1080 | 9 | _ | 31 | کلی باسیلوز |
| 19 | 24000 | 1680 | 7 | - | 34 | کلی باسیلوز |
| 20 | 19000 | 2185 | 11/5 | + | 39 | کلی باسیلوز |



شکل 1: مغز استخوان،کاهش سلول های هماتوپویتیک و جایگزین شدن لیپوسیت ها بجای آنها (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگنمایی 400)



شکل 2: تیموس، تخلیه لنفوسیتی (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگنمایی 400)



شکل 3: بورس فابریسیوس، تخلیه لنفوسیتی در فولیکول ها (رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگنمایی 100)

**بحث:**

مطالعه حاضر که به بررسی حضور بیماری کم خونی عفونی جوجه ها در گله های گوشتی شهرستان شوشتر و باوی پرداخته نشان می دهد که با توجه به ضایعات پاتولوژیک، 50 درصد از گله های مورد مطالعه درگیر این بیماری می باشند.ویروس کم خونی عفونی یکی از بیماری های مهم ویروسی پرندگان می باشد که علاوه بر تلفات منجر به تضعیف سیستم ایمنی پرندگان می شود. از مهمترین عوارض این بیماری می توان به آتروفی مغز استخوان و تیموس و در موارد کمتر آتروفی بورس اشاره نمود.در پرندگان مبتلا کم خونی شدید همرا با خونریزی های جلدی، زیر جلدی و داخل عضلانی مشاهده می شود. در این مطالعه با بررسی میزان تلفات جمعی در گله های مثبت مشخص گردید که میزان کلی تلفات در گله های آلوده بطور نسبی بیشتر از گله های پاک می باشد. به نظر می رسد که علت این امر نقش بیماری کم خونی عفونی در تضعیف سیستم ایمنی است.در جوجه های آلوده بین 2-4 هفته که به ویروس کم خونی عفونی جوجه ها مبتلا شده، میزان هماتوکریت بین 27 الی 60 درصد بوده و ضمنا میزان تلفات در آنها بین 10 تا 20 درصد می باشد( MacLachlan & Dubovi, 2016). در تحقیق حاضر تعداد یک گله از بین 20 گله، هماتوکریت 25درصد را نشان داده است و در موارد دیگر میزان هماتوکریت مطابق با الگوی بیماری تشخیص داده شد. علت پایین بودن هماتوکریت در گله اشاره شده( گله شماره 2) سن پایین جوجه های مورد آزمایش ( 8 روزه) می تواند باشد. در تحقیقی که توسط طالبی و همکاران بروی تاثیر سن بر فاکتور های هماتولوژیکی در سال 2005 صورت گرفت نشان داد که بر میزان مقادیر هماتوکریت، هموگلوبین، ESR و RBC با افزایش سن افزوده می شود. درتحقیقی که توسط دیباوند و همکاران در سال 1394 با روش PCR انجام گرفته است ، میزان آلودگی گله های گوشتی استان خوزستان را 54 درصد گزارش کرده اند که با نتایج تحقیقات حاضر مشابهت دارد. بنظر می رسد که این حجم بالا از آلودگی به دلیل عدم استفاده گله های مرغ مادر از واکسن کم خونی عفونی جوجه می باشد، چرا که در تحقیق حاضر نیز موارد مثبت جوجه های آزمایش شده از گله های بدون واکسیناسیون گله های مادر می باشند. مطالعات دیگری در خصوص این بیماری در چهار محال و بختیاری انجام شده که از آن جمله می توان به مطالعه محزونیه و همکاران در سال 2005 اشاره نمودند که میزان آلودگی را به روش الایزا 100 درصد و به روش PCR ، 87/7می باشد که شدت بالای آلودگی را در منطقه مذکور نشان می دهد. بهات و همکاران در سال 2011 شیوع بیماری کم خونی عفونی جوجه را در گله های طیور تجاری شمال هندوستان با روش الایزا ارزیابی نمودند و میزان آلودگی را 86 درصد بیان نمودند. در بررسی حمیدلی و همکاران در سال 2008 در ترکیه نیز میزان آلودگی گله 90درصد گزارش گردید. در تحقیقی که توسط فتحی هفشجانی در سال1392 در گله های گوشتی استان چهارمحال و بختیاری انجام شده است، میزان همزمانی آلودگی ویروس کمخونی عفونی جوجه با بیماری آنفلوانزا و نیوکاسل را 28/5 درصد گزارش شده است . محمد زاده و همکاران در سال 2003 در مطالعه ای اقدام به جستجوی ژنوم کمخونی عفونی جوجه به روش PCR و مقایسه آن با روش الایزا از نمونه های کبد و خون جوجه های گوشتی در سن 2 تا 8 هفتگی در استان کردستان نموده است ، نتایج آن در روش الیزا 77 درصد و نتایج روش PCR ،

19 درصد مثبت بوده است. نتایج مطالعه حاضر و دیگر مطالعات موید حضور بالای این ویروس در اکثر مناطق ایران می باشد. بنظر می رسد این حجم بالا از میزان آلودگی به دلیل مقاومت بالای ویروس نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی و عدم واکسیناسیون گله های مادر باشد.بنابر این می توان یکی از عوامل مستعدکننده گله های طیور به کمپلکس های تنفسی را حضور این ویروس به دلیل نقش آن در تضعیف سیستم ایمنی پرندگان دانست. لذا پیشنهاد می گردد با استفاده از روشهای امنیت زیستی و واکسیناسیون گله های مادر، از حجم ابتلا به این بیماری کاسته شود و تا حدودی مانع از خسارت ناشی از آن در گله های مرغداریهای صنعتی گوشتی شود.

**نتیجه گیری:**

این مطالعه برای اولین بار به روش هیستوپاتولوژیک مشخص ساخت که درگیری با ویروس کم خونی عفونی جوجه ها در صورت وقوع همزمان با کمپلکس های تنفسی می تواند باعث افزایش تلفات در گله های طیور گوشتی گردد .

**منابع:**

دیباوند، س،.شوشتری ، ح(1395) ردیابی ویروس کمخونی عفونی ماکیان در گله های گوشتی استان خوزستان. مجله دامپزشکی ایران .دوره دوازدهم ( 1):23ـ29

فتحی هفشجانی، ع. (1392) مطالعه همزمانی آلودگی به ویروس کم خونی عفونی جوجه ها با ابتلا به بیماری های نیوکاسل و آنفلوانزا در گله های گوشتی در استان چهارمحال و بختیاری، مجله آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی، دور 7، شماره 1، پیاپی 25، صفحات 1772-1762

Bhatt, P.; Shukla, S.K.; Mahendran, M.; Dhama, K.; Chawak, M.M. and Kataria, J.M. (2011).Prevalence of chicken infectious anaemia virus (CIAV) in commercial poultry flocks of northern India: a serological survey. Transboundary and Emerging Diseases, 58 (5): 458-460.

Bülow VV, Sebat KA. Chicken infectious anemia. In: Calnek BW, Barnes HJ, Beard CW, McDonald LR, Saif YM(eds.). Disease of Poultry. 10th ed. pp.739-756, Iowa State University Press, Ames, 1997.

Hadimli, H.H.; Erganis, O.; Guler, L. and Ucan,U.S. (2008). Investigation of chicken infectious anemia virus infection by PCR and ELISA in chicken flockes. Turkey Journal Veterinari Animal Science, 32(2): 79-84.

Mahzounieh, M., Karimi, I. and ZahraeiSalehi, T. (2005). Serologic evidence of chicken infectious anemia in commercial chickens flocks in Shahrekord, Iran. International Journal of Poultry Science, 4(7):500-503

McIlroy, S.G.; McNulty, M.S.; Bruce, D.W.; Smyth, J.A.; Goodall, E.A.; Alcorn, M.J. Economic e_ects of clinical chicken anemia agent infection on profitable broiler production. Avian Dis. **1992**, 36, 566–574.

Miller, M. M. and Schat, K. A. 2004. Chicken infectious anemia virus: an example of the ultimate host-parasite relationship. Avian Dis. 48: 734–745.

Mohammad zadeh, P. (2003). Detection of CIAV in broilers in Kordestanrovince. Vala Andishan Daruye Nab Co. WWW.Vadn.ir [In Farsi].

N. James MacLachlan, Edward J. Dubovi, (2016). Fenner’s Veterinary Virology, Fifth Edition-Academic Press: 265-266

Pringle CR: Virus taxonomy at the XIth International Congress of Virology, Sydney, Australia. Arch Virol 1999, 144:2065-2069.

Rosario, K.; Breitbart, M.; Harrach, B.; Segales, J.; Delwart, E.; Biagini, P.; Varsani, A.Revisiting the taxonomy of the family Circoviridae: establishment of the genus Cyclovirus and removal of the genus Gyrovirus. Arch. Virol. **2017**, 162, 1447–1463.

Schat, K. A. and van Santen, V. L. 2013. Chicken Infectious Anemia. pp. 248–264. In: Diseases of Poultry, 13th ed. (Swayne,D. E., Glisson, J. R., McDougald, L. R., Nolan, L. K., Suarez, D.L. and Nair, V. L. eds.), John Wiley & Sons, Inc., Ames.

Talebi et al.(2005). Comparative Studies on Haematological Values of Broiler Strains (Ross, Cobb, Arbor-acres and Arian). International Journal of Poultry Science 4 (8): 573-579.

Yashpal , S. M. , P. P. Devi, and M. G. Sagar. 2004. Detection of three avian respiratory viruses by single-tube multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction assay. J. Vet. Diagn. Invest. 16:244–248.

Yuasa, N., Taniguchi, T. and Yoshida, I. 1979. Isolation and some characteristics of an agent inducing anemia in chicks. Avian Pathol.23: 366–385.