دوفصلنامه‌ی هیستولوژی دامپزشکی

دوره نهم، شماره دوم، پاییز و زمستان ۱۴۰۰

شناسایی سرمی موارد تحت بالینی کم‌خونی عفونی در بلدرچین‌های استان اصفهان

مجید غلامی آهنگران[۱*]، آسیه احمدی دستگردی[۲]، مهرداد استادپور[۳]، نیلوفر پیمانی فروشانی[۳]

۱- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- استادیار گروه صنایع غذایی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد اردستان، اردستان، ایران

۳- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

*آدرس پستی نویسنده مسئول: mgholami6@gmail.com

چکیده

ویروس کم‌خونی جوجه‌ها یکی از عوامل تضعیف‌گر سیستم ایمنی در ماکیان است. اگرچه ماکیان به عنوان تنها میزبان طبیعی این ویروس مطرح هستند اما شواهدی وجود دارد که بیان می‌کند سایر پرندگان نیز به این ویروس حساس‌اند و یا این ویروس می‌تواند در بدن آن‌ها تکثیر کند. لذا با توجه به مشاهده عوارض پاسخ نامناسب علیه واکسن نیوکاسل، آلودگی‌های مکرر باکتریایی و نیز رشد نامناسب در فارم های بلدرچین، در این مطالعه به وضعیت اپیدمیولوژیک این آلودگی در فارم‌های بلدرچین به روش سرولوژی پرداخته شد. به این منظور ۱۵۰ نمونه سرمی از ۱۵ فارم پرورش بلدرچین در اصفهان جمع آوری شد و پس از آماده سازی با کیت تجاری کم‌خونی عفونی به شناسایی آنتی‌بادی های اختصاصی علیه ویروس کم‌خونی عفونی و با روش ممانعت از هماگلوتیناسیون به بررسی تیتر نیوکاسل پرداخته شد. نتایج نشان داد ۶۰٪ فارم‌ها واجد حداقل یک نمونه مثبت سرمی علیه ویروس کم‌خونی عفونی بودند که از مجموع نمونه های سرمی، ۴۰٪ مثبت ارزیابی شدند. در این بررسی اگرچه در تمامی فارم ها از واکسن نیوکاسل استفاده شده بود اما تیتر قابل توجه در زمان کشتار ردیابی نشد. لذا به‌نظر می‌رسد ویروس کم‌خونی عفونی می تواند در بلدرچین نیز به شکل تحت بالینی منجر به عوارض تضعیف سیستم ایمنی گردد.

واژگان کلیدی: الیزا، بلدرچین، کم‌خونی عفونی

مقدمه

ویروس کم‌خونی اولین بار توسط یواسا در سال ۱۹۷۹ جداسازی و توصیف شد(1). اما شواهدی وجود دارد که این ویروس قبل از گزارش یوآسا در فارم ها حضور داشته است(2). این ویروس بدون غشاء و نسبتاً مقاوم است و در برابر عوامل شیمیایی و فیزیکی مقاومت قابل توجهی دارد. دارای ژنوم DNA تک رشته ای و حلقوی می‌باشد. این ویروس از جنس ژیروویروس و از خانواده سیرکوویریده است که به شکل عمودی از فارم مادر و بشکل افقی از طریق تماس با جوجه های آلوده و مدفوع منتشر می‌شود(3).

کم‌خونی عفونی به دو شکل بالینی و تحت بالینی بروز می‌کند (2, 4). شکل بالینی بیماری که با آلودگی جوجه‌ها در طول دو هفته اول زندگی یا اکتساب ویروس از طریق مادر غیر ایمن حاصل می‌شود به شکل کم‌خونی، آتروفی عمومی بافت‌های خون‌ساز و لنفاوی، خونریزی‌های گسترده زیرپوستی و در نهایت تضعیف سیستم ایمنی مشخص می‌شود. اگر جوجه‌ها پس از دو هفته اول زندگی با ویروس مواجه شوند بیماری به شکل بالینی آشکار نمی‌شود و فرم تحت بالینی شکل می‌گیرد. شکل بالینی بیماری با انتقال مقادیر کافی آنتی بادی از مرغ مادر به جوجه ها قابل پیشگیری است(3, 5). به‌هرحال، عفونت با این ویروس تحت تأثیر فاکتورهای مختلف محیطی، مدیریتی و بیولوژیک است. بیماری‌زایی این ویروس بستگی به حدت ویروس، دوز ویروس و فاکتورهای مربوط به میزبان مانند ایمنی ذاتی و اکتسابی دارد(6). اگرچه در بدو شناسایی این ویروس در ایران علایم بالینی بسیار تیپیک مانند آتروفی عمومی لنفوئیدی و خونریزی‌های گسترده زیر پوستی جلب توجه می‌کرد اما امروزه به‌نظر می‌رسد ایمن‌سازی فارم های مادر منجر به رخ داد فرم تحت بالینی این بیماری شده است(4).

این ویروس از این لحاظ که می‌تواند به‌شکل تنهایی و یا در ترکیب با سایر عوامل عفونی مانند ویروس گامبورو تضعیف ایمنی شدید ایجاد کند واجد اهمیت است(7). نتایج سرولوژی کم‌خونی عفونی نشان می‌دهد این ویروس در تمام کشورهای تولیدکننده طیور وجود دارد و شیوع آن در فارم های ماکیان به اشکال سرمی، مولکولی و حتی جداسازی ویروس ثابت شده است(2). اگرچه شواهدی وجود دارد که این عامل می‌تواند علاوه بر ماکیان، سایر پرندگان را نیز آلوده کند اما عمدتاً بررسی وضعیت اپیدمیولوژیک این بیماری محدود به ماکیان بوده است (8, 9, 10, 11). با توجه به رشد صنعت پرورش بلدرچین در ایران لازم است مطالعات اختصاصی در این گونه پرندگان انجام شود و اقدامات کنترلی برای بیماری‌های واگیری در این پرندگان نیز به انجام برسد. مشاهدات فارمی نشان می‌دهد علی‌رغم عدم وجود علایم بالینی واضح، بلدرچین نیز مانند ماکیان در طول دوره پرورش با عوارض ناشی از تضعیف سیستم ایمنی روبرو است که گاهی با شکست ایمنی‌زایی واکسن‌ها در برابر سایر پاتوژن‌ها و رخداد آلودگی‌های ثانویه باکتریایی و ویروسی و نیز رشد نامناسب جلوه می‌کند. لذا در این بررسی به توصیف فرم تحت بالینی بیماری کم‌خونی عفونی در فارم‌های بلدرچین در استان اصفهان پرداخته شده است.

مواد و روش‌ها

از بهار ۱۳۹۵ تا بهار ۱۳۹۶ با مراجعه به ۱۵ فارم بلدرچین واقع در شهر اصفهان و توضیح درباره طرح مورد نظر، پرورش دهندگان را کاملاً توجیه نموده تا اطلاعات فارم خود را اعم از شاخص های رشد، بیماری و تلفاتی که در طول دوره رشد رخ می‌دهد و نیز برنامه واکسیناسیون بلدرچین‌ها در پایان دوره در اختیار قرار دهند. در پایان دوره پرورش از هر فارم به طور تصادفی ۱۰ نمونه خون اخذ و کد بندی شد که بلافاصله با انتقال به آزمایشگاه، سانتریفوژ شده و پس از تهیه نمونه سرمی، با حفظ کدهای قبلی در یخچال نگه‌داری شد.

نمونه‌های سرمی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۵۶ درجه سانتی- گراد بن‌گذاری شد و سپس وضعیت سرمی نمونه‌های جمع‌آوری شده، از لحاظ کم‌خونی عفونی با کیت تجاری الایزای کم‌خونی عفونی ماکیان (IDEXX Laboratories. Inc., Maine, USA) مشخص شد. به این منظور از نمونه‌های سرمی رقت یک دهم تهیه و طبق پروتکل توصیه شده توسط شرکت سازنده به سنجش تیتر سرمی پرداخته شد. در نهایت تراکم نوری در طول موج ۶۵۰ با دستگاه اسپکتروفتومتری الیزا ریدر قرائت شد. مثبت یا منفی بودن نمونه‌های سرمی از لحاظ تیتر سرمی علیه کم‌خونی عفونی بر اساس نسبت بین نمونه‌های سرمی با کنترل منفی گزارش شد. نمونه‌هایی که S/N کمتر از ۰/۶ داشتند به عنوان نمونه مثبت و نمونه‌هایی که S/N آن‌ها مساوی یا بیشتر از ۰/۶ بود منفی گزارش شد. درصد نمونه‌های مثبت از مجموع نمونه‌های سرمی تست شده، درصد نمونه‌های مثبت در هر فارم و درصد فارم‌های مثبت به مجموع فارم‌ها گزارش شد. علاوه بر این نمونه‌های سرمی بار دیگر با آنتی‌ژن اختصاصی نیوکاسل (سویه لاسوتا) تست HI(Hemagglutination Inhibition) شد و وضعیت سرمی جوجه‌ها علیه نیوکاسل نیز مشخص گردید. برای بررسی ارتباط بین تیترهای نیوکاسل و کم‌خونی عفونی از روش آماری Pearson Correlation استفاده می‌شود و برای مقایسه میانگین‌ها از روش واریانس یک‌طرفه داده‌ها (One way ANOVA) استفاده می‌گردد و در صورت وجود اختلاف میانگین با آزمون Tukey میزان اختلاف تعیین می‌شود.

نتایج

۱- سرولوژی کم‌خونی عفونی

۶۰ درصد فارم های مورد آزمایش (۹ فارم از ۱۵ فارم) از لحاظ سرمی مثبت ارزیابی شدند. دامنه درصد موارد مثبت در هر فارم از ٪۱۰ تا حداکثر ۱۰۰٪ متغیر بوده است. بطور متوسط۴۰٪ نمونه های سرمی از لحاظ کم‌خونی عفونی مثبت بودند. از مجموع ۱۵۰ نمونه سرمی اخذ شده کمترین S/N، ۰/۰۳۰ و بیشترین آن ۰/۹۰ بوده است. از مجموع ۱۵ فارم نمونه گیری شده کم‌ترین میانگین S/N، ۰/۰۷۵ و بیش‌ترین میانگین S/N ، ۰/۶۶ بوده است. میانگین S/N ۱۵۰ نمونه سرمی اخذ شده از ۱۵ فارم نمونه‌گیری شده برابر ۰/۵۰می باشد. از مجموع ۱۵ فارم کمترین درصد پراکندگی (CV) ۸/۵ درصد و بیشترین درصد پراکندگی ۹۵٪ می باشد. درصد پراگندگی ۱۵۰ نمونه سرمی اخذ شده از ۱۵ فارم ۳۳٪ می باشد.

۲- سرولوژی نیوکاسل

از ۱۵ فارم مورد بررسی همگی علیه نیوکاسل واکسینه شده بودند. میانگین تیتر سرمی متعلق به فارم های مورد بررسی برابر۳/۶۰ بود. کم‌ترین تیتر فارم های واکسینه ۱/۲۰ و بیش-ترین آن ۶/۷۰ بود. میانگین CV فارم های واکسینه برابر ۴۰ بود. کم‌ترین CV برابر ۱۵ و بیش‌ترین آن ۷۰ بود.

بحث

نتایج این بررسی نشان داد شیوع کم‌خونی عفونی در ۱۵ فارم بلدرچین گوشتی ۶۰٪ و در ۱۵۰ نمونه سرمی متعلق به بلدرچین‌های گوشتی فاقد علایم بالینی ۴۰ درصد با دامنه ۱۰ تا ۱۰۰درصد است که نشان‌دهنده شیوع بالای کم‌خونی شکل تحت بالینی در جوجه بلدرچین‌های گوشتی استان اصفهان می-باشد. به‌نظر می‌رسد شیوع این بیماری که کمتر به آن توجه می‌شود در اکثر کشورهای تولیدکننده طیور بالا است. عمده گزارشات مربوط به وضعیت آلودگی ماکیان و آن هم در فارم های مرغ مادر، تخم‌گذار تجاری و جوجه گوشتی است(4) که گزارشات زیادی از کشورهای مختلف وجود دارد. اما تا به‌حال کم‌تر به این پاتوژن به عنوان یک عامل مشترک بیماری‌زا در سایر رسته‌های پرندگان پرداخته شده است.

در ایران اولین گزارش مربوط به کم‌خونی عفونی از طرقی و همکاران مربوط به ۴ فارم گوشتی در استان اصفهان با علایم کالبدگشایی خونریزی‌های پراکنده در سطح عضلات است که با انجام PCR، هر ۴ فارم از نظر کم‌خونی عفونی مثبت گزارش می‌شود. علاوه بر آن محزونیه و همکاران در سال۲۰۰۳ به بررسی این بیماری در جوجه های گوشتی استان چهارمحال و بختیاری پرداختند. آنها شیوع کم‌خونی عفونی در فارم‌های نمونه گیری شده ۱۰۰٪ و در جوجه‌های گوشتی با سنین مختلف ۸۷٪/۷ بیان کردند. فرهودی و همکاران نیز در فاصله زمانی زمستان ۲۰۰۵ تا تابستان ۲۰۰۶ به بررسی کم‌خونی عفونی جوجه ها در فارم‌های جوجه گوشتی با علایم مشکوک به این بیماری در استان‌های تهران، اصفهان و خراسان پرداختند. در این بررسی ۷۱/۷٪ نمونه‌های سرمی با دامنه ۲۵ تا ۱۰۰٪ مثبت گزارش کردند و بیان کردند این ویروس در ایجاد خونریزی‌های بافتی در مرغ‌های گوشتی نقش عمده ای ایفا می‌کند(4). اگرچه این بیماری در اوایل دوره ظهور و شناسایی در ایران بیشتر به شکل بالینی جلب نظر می‌کرد اما با صدور مجوز استفاده از واکسن کم‌خونی عفونی در فارم‌های مرغ مادر و انتقال آنتی-بادی‌های مادری به نتاج آن‌ها، فرم بالینی این بیماری کم‌تر مشاهده گردید و بیشتر عوارض این بیماری به شکل تحت بالینی جلوه می نمود که با تست‌های سرولوژیک و مولکولی و بعضاً جداسازی ویروس این مهم به اثبات می‌رسید. در مطالعه اخیر نیز اگرچه علایم اختصاصی بالینی در فارم‌های نمونه‌گیری شده مشاهده نشد اما ردیابی آنتی‌بادی در بلدرچین‌های بالغ نشان از وجود حساسیت و آلودگی این پرندگان با ویروس کم-خونی عفونی می‌باشد.

تیتر پایین نیوکاسل در بلدرچین‌های واکسینه که بعضاً در طول دوره پرورش دو نوبت واکسن نیوکاسل دریافت نموده اند و در بعضی موارد واکسن کشته نیوکاسل را نیز دریافت نمودند، حاکی از اثرگذاری ویروس کم‌خونی عفونی بر پاسخ ایمنی ناشی از واکسن‌ها است که به‌دنبال تضعیف سیستم ایمنی با سیرکوویروس عامل بیماری اتفاق می‌افتد. عوامل متعدد دیگری از جمله نگه‌داری صحیح و تزریق درست واکسن آنفلوانزا و حمل و نگه‌داری صحیح نمونه‌های سرمی و بعضاً سایر عوامل تضعیف کننده سیستم ایمنی نیز بر روی تیتر واکسن موثرند(12) که در اینجا مورد بررسی قرار نگرفته است اما به‌نظر می‌رسد شیوع بالای کم‌خونی عفونی می‌تواند از دلایل قابل قبول و موثر بر تیتر واکسن نیوکاسل در فارم‌های مورد بررسی باشد به‌طوری‌که گزارشات متعددی نشان داده است ویروس کم‌خونی عفونی به‌شکل تنهایی و یا همراه با ویروس گامبورو از عوامل تضعیف کننده سیستم ایمنی می‌باشند(6, 7). لذا پاسخ ایمنی ضعیف در مقابل واکسن نیوکاسل می‌تواند دلیلی بر تایید شیوع تحت بالینی کم‌خونی عفونی در فارم های بلدرچین باشد. از طرفی دیگر، فارم‌های مثبت عموماً رکورد وزنی و راندمان تبدیل کم‌تری نسبت به فارم‌های منفی یا واجد تیتر پایین‌تر علیه کم‌خونی عفونی ، داشتند و در این فارم‌ها با توجه به تاریخچه اخذ شده عفونت‌های مایکوپلاسمایی، کلی‌باسیلوزی و انتریت‌های کلستردیایی بیش‌تر بروز و ظهور داشته است. قبلاً یکی از عوارض مهم ویروس کم‌خونی عفونی در فارم‌های آلوده، افزایش ضریب تبدیل غذایی، کاهش وزن گیری، پاسخ نامناسب نسبت به واکسن‌ها و استعداد بیش‌تر پرندگان به عفونت‌های ثانویه باکتریایی گزارش شده است. به‌طوری‌که در یک بررسی در ایرلند شمالی نشان داده شده است شاخص‌های تولید در جوجه‌های آلوده با ویروس کم‌خونی عفونی به‌ظاهر سالم در مقایسه با جوجه‌های غیرآلوده ۱۳٪ کم‌تر بوده است(7, 13). بنابراین پاسخ ضعیف در مقابل واکسن‌ها و بعضاً مشاهده تیتر صفر در برخی فارم‌های بلدرچین ممکن است به‌دلیل شیوع و گستردگی بالای ویروس کم‌خونی عفونی در این پرندگان باشد.

به‌هرحال آنچه مسلم است شیوع سرمی بالای کم‌خونی عفونی در فارم‌های بلدرچین می‌تواند به‌خاطر عدم اقدامات پیش‌گیری کننده مناسب و از جمله عدم واکسیناسیون در برابر این بیماری باشد، به‌طوری‌که عدم انجام واکسیناسیون در فارم های حساس و بعضاً آلودگی فارم های مادر و انتقال آنتی بادی مادری به جوجه‌های آن‌ها می‌تواند یکی از علل شیوع سرمی بالای کم خونی عفونی باشد. از طرفی عدم رعایت اصول امنیت زیستی موثر در فارم‌های بلدرچین می‌تواند یکی از علل شیوع بالای کم خونی عفونی در بلدرچین‌های گوشتی باشد.

به‌هرحال این بررسی نشان داد بلدرچین‌های پرورشی در اصفهان در برابر ویروس کم‌خونی عفونی تیتر آنتی‌بادی دارند که می‌تواند این پرندگان را به عنوان یک مخزن ویروس کم‌خونی عفونی معرفی نماید.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان اعلام می دارند که هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

1- Yuassa, N., Taniguchi, T. & Yoshida, I. 1979. Isolation and some characteristics of an agent-inducing anaemia in chicks. *Avian Dis.*, 23: 366-385.

2- Schat, K.A. 2003. Chicken infectious anaemia. In: Diseases of poultry, 11th Ed. (Y.M. Saif, H.J. Barnes, J. R. Glisson, A.M. Fadly, L.R. McDougald and D.E. Swayne, eds). Iowa State University Press, Iowa, 182-202.

3- Adair, B.M. 2000. Immunopathogenesis of chicken anaemia virus infection. Dev. Comp. Immunol., 24: 247-255.

4- Gholami-Ahangaran, M., Momtaz, H., Zia-Jahromi, N. & Momeni, M. 2011. Genomic detection of the chicken anaemia virus from apparently healthy commercial broiler chickens in Iran. Revue Méd. Vét., 162: 604-606.

5- De Wit, J.J., van Eck, J.H., Crooijmans, R.P. & Pijpers, A. 2004. A serological survey for pathogens in old fancy chicken breeds in central and eastern part of The Netherlands. Tijdschr. Diergeneesk., 129: 324-327.

6- Cloud, S.S., Rosenberger, J.K. & Lillehoj, H.S. 1992. Immune dysfunction following infection with chicken anaemia agent and infectious bursal disease virus. II. Alterations of in vitro lymphoproliferation and in vivo immune responses. Vet. Immunol. Immunopathol., 34: 353-366.

7- Campbell, G. 2001. Investigation into evidence of exposure to infectious bursal disease virus (IBDV) and chick infectious anaemia virus (CIAV) in wild birds in Ireland. In Infectious Bursal Disease and Chicken Infectious Anaemia (T. Van Den Berg, eds). Proc. Second International Symposium, Rauischholzhausen, 15 July 2001. Institut für Geflügelkrankheiten Press, Justus Liebig University, Giessen, 230–233.

8- Farkas, T., Maeda, M., Sugiura, H., Kai, K., Hirai, K., Ostuki, K. & Hayashi, T.A. 1998. A serological survey of chickens, Japanese quail, pigeons, ducks and crows for antibodies to chicken anaemia virus (CAV) in Japan. Avian Pathol., 27: 316-320.

9- Gholami-Ahangaran, M. & Zia-Jahromi, N. 2013. Molecular detection of chicken anaemia virus (CAV) in house sparrow (Passer domesticus) in Iran. Revue Méd. Vét., 164: 487-491.

10- Todd, D., Scott, A.N.J., Fringuelli, E., Shivraprasad, H.L., Gavier-Widen, D. & Smyth, J.A. 2007. Molecular characterization of novel circoviruses from finch and gull. Avian Pathol. 36: 75-81.

11- Twentyman, C.M., Alley, M.R., Meers, J., Cooke, M.M. & Duignan, P.J. 1999. Circovirus-like infection in a southern black-backed gull (Larus dominicanus). Avian Pathol., 28: 513-516.

12- Gholami Ahangaran, M., Zia Jahrami, N., Fathi Hafeshjani, A. 2009. Serological identification of subclinical cases of infectious anemia and its effect on the immune response against influenza vaccine (H9N2 subtype) in broiler chickens of Isfahan province. Comparative Biopathology of Iran. Volume 6, Issue 4, pp. 123-128. [In Persian]

13- McNulty, M.S., McIlroy, S.G., Bruce, D.W., Todd, D. 1991. Economic effects of subclinical chicken anaemia agent infection in broiler chickens. *Avian Dis.*, 35: 263-268.

Serological identification of subclinical chicken anemia virus in quails, in Isfahan

Chicken anemia virus in quails

Majid Gholami-Ahangaran[1*], Asiye Ahmadi-Dastgerdi[2], Mehrdad Ostadpour[3], Niloofar Peimani-Forushani[3]

1- Associate Professor, Group of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

2- Assistance Professor, Group of Food Sciences, Islamic Azad University, Ardestan Branch, Ardestan, Iran

3- Graduated of Veterinary Medicine Faculty, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran

*Correspondence author :mgholami6@gmail.com

Abstract

Chicken anemia virus (CAV) is one of the immunesuppressive agents in the fowls. Although, fowls are the only natural host of this virus, there is some evidence that other avian species are susceptible to the virus or the virus can replicate in this bird. Therefore, considering the complications of inappropriate response to Newcastle disease vaccine, frequent bacterial contamination and inappropriate growth in quail farms, in this study, the epidemiological situation of CAV infection was investigated in quail farms by serological method. For this, 150 serum samples from 15 quail farms in Isfahan were collected. After preparation, the CAV specific antibody was detected by one commercial CAV Elisa kit, and the Newcastle titer was tested by hemagglutination inhibition (HI) test. The results showed that 60% of the farms had at least one positive serum sample against the CAV that was evaluated from a total of 40% positive serum samples. In this study, although Newcastle vaccine was used in all farms, no prominent titer was detected at slaughter time. Therefore, it seems that CAV can also lead to immune suppression in the quail in the subclinical form.

Keywords: Elisa, Quail, Chicken anemia virus.