Archive of SID

نشریه دامپزشکی
در
پژوهش و سازندگی شماره ۱۱۲ پاییز ۱۳۹۵
DOI: 10.22034/vj.2016.106303

بررسی شیوع سرمی عفونت مایکوپلاسما گالی سپتیکوم و چند عامل موثر بر آن، در مزارع جوجه گوشتی استان اردبیل

• آیدین عزیزپور
دانشکده کشاورزی مشگین شهر، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران
تاریخ دریافت: دی ۹۴ تاریخ پذیرش: اسفند ۹۴
Email: Aidin_azizpour@uma.ac.ir

چکیده

مایکوپلاسموز یکی از بیماریهای مهم ماکیان و بوقلمون است که خسارات اقتصادی زیادی به صنعت طیور وارد می‌نماید. هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان شیوع سرمی آلودگی به مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم(MG) و تعیین چند عامل موثر بر آن، در گله‌های جوجه گوشتی استان اردبیل در طی سال‌های ۱۳۹۱الی ۱۳۹۲ بود. بدین منظور،۲۰ نمونه خون به صورت تصادفی از هر ۳۶ مرغداری جوجه گوشتی در پایان دوره پرورشی و در محل کشتارگاه اخذ گردید. نمونه‌ها سریعا به آزمایشگاه ارسال و پس از جداسازی سرم نمونه‌ها، از آزمایش‌های آگلوتیناسیون سریع سرم(RSA) والیزابرای بررسی میزان آلودگی استفاده شد. از مجموع ۷۲۰ نمونه سرم اخذ شده، در آزمایش RSA، ۳۰/۳ درصد نمونه‌ها و در آزمایش الیزا۱۹/۷ درصد نمونه‌ها MG مثبت بودند. حساسیت، ویژگی و همبستگی آزمونRSA در مقایسه با روش الیزادر این مطالعه به ترتیب ۱۰۰ درصد، ۸۸/۴ درصد و ۰/۵۴۶- بود. از نظر آلودگی سرمی به مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم در فصول مختلف سال، بیشترین میزان شیوع با اختلاف معنی‌داری ($p < ۰/۰۰۱$) نسبت به سایر فصول مربوط به زمستان بود. بیشترین میزان شیوع MG در مرغان وگله‌های با ظرفیت بالای ۲۰۰۰۰ قطعه و کمترین آنها در خروس‌ها و گله‌های کمتر از ۵۰۰۰ قطعه مشاهده گردید. در مقایسه شیوع سرمی مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم در مناطق مختلف جعرافیایی، مناطق متراکم نمین بطور معنی‌دار ($p < ۰/۰۰۱$). بیشترین میزان آلودگی را داشت. نتایج این مطالعه نشان داد که میزان آلودگی سرمی به مایکوپلاسما گالی سپتیکوم در جوجه‌های گوشتی استان اردبیل نسبتا بالا می‌باشد. لذا رعایت اصول بهداشتی، امنیت زیستی، ظرفیت و تراکم استاندارد مزارع جهت کنترل این بیماری بسیار حایز اهمیت است.

کلمات کلیدی: *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم*، جوجه گوشتی، الیزا، RSA، استان اردبیل

www.SID.ir

Archive of SID

● Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 112 pp: 94-101

Investigation of seroprevalance of *Mycoplasma gallisepticum* infection and some effective factors on it, in broiler-chicken flocks in Ardabil province

By: Azizpour, A., Meshginshahr Faculty of Agriculture, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran.
Email: Aidin_azizpour@uma.ac.ir

Received: December 2015 Accepted: February 2015

Mycoplasmosis is an important pathogen of poultry and turkeys which causes economic losses in poultry industry. The aim of this study was to investigate the seroprevalance of *Mycoplasma gallisepticum* (MG) infection and to identify some effective factors related with it in broiler chicken flocks in Ardabil province of northwestern Iran during 2012 to 2013. To achieve this, 20 blood samples were randomly taken from each 36 broiler flocks which were in the end of farming period in slaughterhouses.Samples were immediately sent to laboratory and after serum isolation from samples, Rapid Serum Agglutination test (RSA) and ELISA for investigation of infection rate was performed. From total 720 samples, in RSA 30.3% and in ELISA 19.7% of samples were MG positive. Sensitivity, specificity and correlation rate of RSA in compassion to ELISA, were 100%, 88.4% and -0.546, respectively. In view of MG seroprevalance in different seasons, the highest rate of seroprevalance with statistically difference ($p<0.001$) was in Winter. The highest rate of MG seroprevalance was in hens and large flocks (≥20001birds) and the lowest was in male and small flocks (≤5000 birds). In comparison of MG seroprevalance in various geographical regions, the dense area of Namin was statistically different ($p<0.001$) and had highest infection rate. The results of this study showed that contamination rate of *Mycoplasma gallisepticum* is relatively high in industrial flocks. Thus observation of sanitation facts, biosecurity, capacity and standard density in control of disease is very important.

Key words: *Mycoplasma gallisepticum*, Broiler chicken, ELISA, RSA ,Ardabil

مقدمه

مایکوپلاسموز یک بیماری عفونی با گسترش وسیع می‌باشد که صنعت طیور را در سرتاسر جهان تحت تاثیر قرار داده است (۵). این بیماری یکی از بیماری‌های مهم در بروز خسارت اقتصادی در مزارع طیور می‌باشد که توسط گونه‌های متعدد آن ایجاد می‌شود (۱، ۵). از میان گونه‌های بیماری‌زا مایکوپلاسما، *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* (MG) بیماری‌زاترین و از نظر اقتصادی مهم‌ترین پاتوژن مایکوپلاسمایی طیور به شمار می‌رود که معمولا به عنوان بیماری مزمن تنفسی جوجه‌ها و سینوزیت بوقلمون‌ها شناخته می‌شود (۲، ۵). خسارات اقتصادی مستقیم و غیرمستقیم ناشی از *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* شامل ۳۰-۲۰ درصد کاهش وزن‌گیری، ۲۰-۱۰درصد کاهش بازده غذایی(ضریب تبدیل غذایی)، ۱۰- ۵درصد افزایش تلفات و ۲۰-۱۰درصد ضبط لاشه در گله‌های گوشتی، ۲۰-۱۰درصد افت تولید تخم‌مرغ و ۱۰-۵ درصد تلفات جنینی در گله‌های تخم‌گذار و مادر می‌باشد(۱، ۲، ۵، ۲۲). انجام آزمایش‌های سرولوژیک اساس برنامه‌های کنترلی را تشکیل می‌دهند(۲، ۱۷، ۲۲) که سازمان جهانی بهداشت حیوانات (OIE) سه آزمایش سرولوژی RSA، الیزا و HI را برای بررسی آنتی‌بادی علیه MG پیشنهاد کرده است (۵).

پژوهشگران در تحقیقات مختلف نشان دادند RSA آزمونی سریع، کم‌هزینه و بسیار حساس است که می‌تواند به عنوان یک آزمایش اولیه جهت ردیابی مایکوپلاسما استفاده شود ولی بزرگترین عیب آن ویژگی پایین و یا بالا بودن موارد مثبت کاذب می‌باشد. لذا برای تایید نمونه‌های مثبت، انجام آزمایش‌های HI و الیزا یا سایر روش‌های سرولوژی قابل قبول و یا کشت عامل بیماری ضروری است (۲، ۶، ۱۱، ۱۸، ۲۰، ۲۲).

مایکوپلاسموز برای اولین بار در ایران توسط Sohrab and Baharsefat (۱۹۵۵) در طیور گزارش شد (۲۱). آلودگی گسترده به MG در گله‌های طیور صنعتی کشورتوسط Jungherr and Sohrab (۱۹۵۹) با استفاده از روش‌های سرولوژیکی تایید شد (۱۲) و از آن زمان تاکنون این عفونت یکی از مهمترین بیماریهای باکتریایی صنعت طیورگردیده است که مطالعاتی فراوان در خصوص میزان شیوع عفونت *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* در گله‌های مادر گوشتی، جوجه گوشتی و تخم‌گذار در نقاط مختلف ایران انجام گرفته است (۱، ۲، ۸، ۱۳، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۲).

ازآنجایی که اطلاعات دقیقی از این بیماری در جوجه‌های گوشتی کشتار شده در کشتارگاه‌های طیور استان اردبیل وجود نداشت، لذا هدف از این مطالعه تعیین میزان شیوع سرمی آلودگی به مایکوپلاسما

www.SID.ir

Archive of SID

گالی‌سپتیکوم به وسیله آزمایش‌های سرولوژیک و تعیین نقش عوامل موثر مرتبط با آن بود.

مواد و روش کار

از مجموع ۲۴۰ مرغداری جوجه گوشتی فعال استان اردبیل، تعداد ۲۳۶ فارم دارای شرایط ورود به مطالعه از قبیل ۱.رعایت تراکم استاندارد گله ۲. استفاده از جوجه‌های MG منفی ۳. استفاده از سالن‌های پرورشی استاندارد و ...داشتند. از این گله‌ها به صورت تصادفی تعداد ۳۶ واحد (۱۵ درصد) انتخاب شدند و در پایان دوره پرورشی در کشتارگاه‌های صنعتی پرکن و سامیان از آن‌ها خونگیری به عمل آمد. به طوری‌که نمونه‌گیری در کشتارگاه‌ها، پس از تهیه مواد و وسایل لازم عملا از ابتدای مهرماه سال ۱۳۹۱ تا پایان شهریور ماه سال ۱۳۹۲ صورت گرفت. برای اخذ نمونه‌گیری هر هفته به کشتارگاه مراجعه شد و در هر بار مراجعه، قبل از کشتار از هر محموله جوجه گوشتی که متعلق به یک مزرعه بود، به ازای هر سالن که ظرفیت آن ۱۰۰۰۰ قطعه یا کمتر بود، ۱۵ قطعه و در صورتی‌که ظرفیت سالن بیش از ۱۰۰۰۰ و کمتر از ۲۰۰۰۰ قطعه بود، به ازای هر ۱۰۰۰ قطعه، یک قطعه طیور اضافی بطور کاملا تصادفی انتخاب و از ورید زیر بالی آن‌ها نمونه خون اخذ گردید. ضمنا در مورد سالن‌های بیش از ۲۰۰۰۰ قطعه، ۲۵ قطعه و به ازای هر ۵۰۰ قطعه بیشتر از آن، یک عدد پرنده اضافی بطور کاملا تصادفی انتخاب شدند (۲۲). به طوری که تعداد گله‌های با ظرفیت کمتر از ۵۰۰۱، ۵۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰، ۱۰۰۰۱ تا ۲۰۰۰۰ و بالای ۲۰۰۰۱ به ترتیب ۷، ۶، ۱۳ و ۱۰ فارم بود که از کل مزارع انتخابی تعداد ۶۶۳ قطعه مرغ و ۵۷ قطعه خروس جمعا ۷۲۰ پرنده انتخاب گردید. لازم به ذکر است که قبل از کشتار از روی وضعیت تاج و ریش، مرغ‌ها و خروس‌ها تفکیک جنسیت شدند و بعد از کشتار نیز جنسیت نمونه‌های تعیین شده با توجه به اندام‌های تناسلی تطبیق داده شدند. در هنگام کشتار گله‌های مورد نظر، نمونه‌های خون در لوله‌های دربسته استریل‌دار به طور جداگانه جمع‌آوری و بعد از علامت‌گذاری در یک کلمن پر از یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. سپس لوله‌های محتوای خون با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۶ دقیقه مورد سانتریفیوژ قرار گرفتند (۲). نهایتا سرم‌های جدا شده بعد از انجام آزمایش RSA در میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده به یخچال ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل تا زمان انجام تست الیزا نگهداری شدند (۱۸).

آزمایش RSA

قبل از شروع آزمایش، سرم‌ها به مدت نیم‌ساعت در حرارت ۵۶ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفتند تا عوامل ممانعت کننده از بین برود (۲). سپس یک حجم از سرم (۳۰ میکرولیتر) با یک حجم از آنتی‌ژن MG (۳۰ میکرولیتر) ساخت شرکت Soleil فرانسه روی کاشی سفید مخلوط و آزمایش RSA انجام شد. جهت تائید پاسخ‌های مثبت، آزمایش مجدد با رقت‌های یک هشتم تکرار گردید (۲، ۱۷). سپس تمامی نمونه‌های سرمی فوق جهت آزمایش الیزا و بررسی میزان دقت آزمایش RSA آماده شدند. کیت آزمایش الیزا متعلق به شرکت IDEXX آمریکا بود.

آزمایش الیزا

برای انجام آزمایش در مرحله اول از سرم‌های اخذ شده رقت ۱/۵۰ تهیه و سپس ۵۰ میکرولیتر از هر یک از سرم‌های رقیق شده با ۵۰ میکرولیتر بافر رقیق کننده در پلیت اصلی مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه آنکوبه گردید. در مرحله دوم، سه بار شستشو با محلول ۲۰ بار رقیق شده‌ء بافر شستشوی کیت(۲۰X) در آب مقطر، هر بار به مدت ۳ دقیقه انجام و سپس پلیت خالی شده و به خوبی تکان داده شد. در مرحله سوم رقت ۱/۱۰۰محلول آنتی IgG ماکیان کونژوگه شده با آنزیم به تمام گودهها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای آزمایشگاه آنکوبه گردید. در محله چهارم، سه بار شستشو با همان بافر شستشو، هر بار به مدت ۳ دقیقه انجام و سپس پلیت تکان داده و خالی گردید. در محله پنجم سوبسترا بدون آنکه رقیق شود به تمام گودهها اضافه و پلیت برای مدت ۱۵ دقیقه در جای تاریک قرار گرفت. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر از متوقف کننده ۵ بار رقیق شده به تمام گودهها اضافه شد تا واکنش قطع شود. در نهایت نتایج با دستگاه الیزا ریدر مارک Awernes آمریکا مدل state fax در طول موج ۴۰۵ میکرولیتر قرائت شد (۱۸، ۲۲).

میزان حساسیت و ویژگی آزمون‌های سرولوژی RSA و الیزا طبق فرمول ذیل محاسبه شد.

$$\text{sensitivity} = \frac{\text{number of true positives}}{\text{number of true positives} + \text{number of false negatives}}$$

$$\text{specificity} = \frac{\text{number of true negatives}}{\text{number of true negatives} + \text{number of false positives}}$$

آنالیز آماری

داده‌های بدست آمده از یافته‌های سرولوژیکی با استفاده از نرم افزار SPSS ۱۳ و آزمون Chi-square مقایسه شدند. به منظور تعیین همبستگی و ارتباط بین آزمایش‌های RSA و الیزا از آزمون Spearman و بسته نرم افزار SPSS ۱۳ استفاده گردید. سطح معنی‌داری در این آزمون‌ها ۰/۰۵در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج آزمایش‌های سرولوژی بر حسب واحد مرغداری و نمونه سرم در جدول ۱ آورده شده است. در آزمایش RSA تعداد ۹ گله (۲۵ درصد) و ۲۱۸ نمونه (۳۰/۳ درصد) از نظر *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* مثبت مشاهده شدند. در حالی‌که در آزمایش الیزا تعداد ۶ گله (۱۶/۷درصد) و ۱۴۲ نمونه (۱۹/۷ درصد) نسبت به *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* مثبت واکنش دادند (جدول ۱). بر اساس آزمون همبستگی غیرپارامتری اسپرمن، بین آزمون‌های سرولوژی ارتباط معنی‌دار ولی غیرمستقیم وجود دارد (۰/۰۰۱ > p, ۶۱۸/- =r:گله) و (۰/۰۰۱ > p, ۵۴۶/- =r:نمونه سرم). حساسیت و ویژگی نسبی آزمون RSA در مقایسه با الیزا از نظر گله به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۹۰/۹ درصد بود و از نظر نمونه سرم به ترتیب ۱۰۰ درصد و ۸۸/۴ درصد محاسبه گردید.

مقایسه نتایج حاصل از آزمایش‌های سرولوژی بر حسب فصول مختلف سال در جدول ۲ نشان داده شده است. بر اساس نتایج حاصل از آزمون

www.SID.ir

Archive of SID

آماری مربع کای بین فصول مختلف از نظر نمونه‌های مثبت در آزمایش‌های RSA و الیزا اختلاف معنی‌دار می باشد ($p < ۰/۰۰۱$). به طوری‌که بیشترین میزان درصد موارد مثبت سرمی MG در فصل زمستان و کمترین آن در تابستان مشاهده گردید.

مقایسه نتایج حاصل از آزمایش الیزا بر حسب جنس پرندگان در جدول ۳ آورده شده است. بر اساس نتایج حاصل از آزمون مربع کای بین جنس‌های نر و ماده از نظر نمونه‌های مثبت نظر *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* اختلاف آماری معنی‌دار وجود ندارد ($p > ۰/۰۵$). هرچند بیشترین میزان درصد موارد مثبت سرمی MG در مرغ‌ها و کمترین آن درخروس‌ها مشاهده گردید.

براساس نتایج حاصل از آزمون آماری مربع کای بین ظرفیت‌های مختلف گله‌ها از نظر شیوع سرمی MG اختلاف معنی‌دار وجود ندارد ($p > ۰/۰۵$). هرچند که کمترین و بیشترین میزان شیوع سرمی *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* به ترتیب در گله‌های با ظرفیت کمتر از ۵۰۰۰ و بیشتر از ۲۰۰۰۰ مشاهده شد (جدول ۴).

بر اساس نتایج حاصل از آزمون آماری مربع کای بین مناطق مختلف استان اردبیل از نظر شیوع سرمی *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($p < ۰/۰۰۱$). به طوری‌که کمترین و بیشترین میزان شیوع سرمی MG به ترتیب در نیر و نمین مشاهده گردید (جدول ۵).

بحث

مایکوپلاسموز یک بیماری عفونی با گسترده وسیع می‌باشد که صنعت

جدول۱- مقایسه نتایج آزمایش‌های سرولوژی و میزان حساسیت و ویژگی روش RSA در مقایسه با الیزا

واحد آزمایش	تعداد آزمایش شده	نتایج آزمایش RSA				نتایج آزمایش الیزا				ویژگی	حساسیت
		مثبت		منفی		مثبت		منفی			
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد		
گله	۳۶	۹	۲۵	۲۷	۷۵	۶	۱۶/۷	۳۰	۸۳/۳	٪۹۰/۹	٪۱۰۰
نمونه سرم	۷۲۰	۲۱۸	۳۰/۳	۵۰۲	۶۹/۷	۱۴۲	۱۹/۷	۵۷۸	۸۰/۳	٪۸۸/۴	٪۱۰۰

جدول۲- مقایسه نتایج آزمایش‌هایRSA و الیزا و میزان شیوع سرمی MG بر اساس فصل

نتایج نمونه‌های سرمی برحسب فصول	بهار	تابستان	پاییز	زمستان
تعداد نمونه‌های مورد آزمایش	۱۶۶	۱۴۵	۲۰۸	۲۰۱
تعداد نمونه‌های مثبت در آزمون RSA	۳۱	۲۲	۵۱	۱۱۴
تعداد نمونه‌های مثبت در آزمون الیزا	۲۲	۱۷	۳۱	۷۲
درصد نمونه‌های مثبت RSA تایید شده در الیزا	۷۰/۹	۷۷/۲	۶۰/۷	۶۳/۱
درصد از کل موارد مثبت تایید شده در الیزا	٪۱۵/۵	٪۱۲/۰	٪۲۱/۸	٪۵۰/۷
درصد موارد مثبت الیزا از نمونه‌های اخذ شده	٪۱۳/۳	٪۱۱/۷	٪۱۴/۹	٪۳۵/۸

جدول۳- مقایسه میزان شیوع سرمی MG بر اساس جنس پرندگان

جنس پرنده	تعداد سرم آزمایش شده	MG				اختلاف معنی¬داری
		مثبت		منفی		
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	
مرغ	۶۶۳	۱۳۲	۱۹/۹	۵۳۱	۸۰/۱	۰/۴۱۰
خروس	۵۷	۱۰	۱۷/۵	۴۷	۸۲/۵	

www.SID.ir

Archive of SID

طیور را در سرتاسر جهان تحت تاثیر قرار داده است (۵، ۹، ۱۸، ۲۲). این بیماری عامل مهم خسارات اقتصادی فراوانی به واسطه ایجاد بیماری‌های دستگاه تنفس، ناهنجارهای حرکتی، افت رشد و تولید تخم مرغ و همچنین کاهش هچ می‌باشد که توسط گونه‌های متعدد پاتوژن ایجاد می‌گردد (۲، ۵). در مطالعات جداگانه‌ای که روی گله‌های مادرگوشتی، جوجه گوشتی و تخم‌گذار در مناطق مختلف بنگلادش با استفاده از روش RSA توسط Sarkar و همکاران (۲۰۰۵)، Sikder و همکاران (۲۰۰۵)، Barua و همکاران (۲۰۰۶) و Hossain و همکاران (۲۰۰۷) انجام گرفت، فراوانی شیوع سرمی MG به ترتیب ۵۸/۹۰ درصد، ۴۶/۸۸ درصد، ۵۳/۰۸ درصد و ۵۵/۱۳ درصد گزارش شد (۳، ۱۰، ۱۷، ۲۰). Botus و همکاران (۲۰۰۸) شیوع سرمی MS و MG را در گله‌های طیور کشور رومانی با روش الیزا ۸۰ درصد اعلام کردند و نشان دادند که در گله‌های بالای ۳۶ هفته MS نسبت به MG شیوع بیشتری دارد (۴). Gharaibeh and Al roussan (۲۰۰۸)، ۷۶ گله از نژادهای مختلف گوشتی، تخم‌گذار و مادر که دارای علائم تنفسی بودند را تحت بررسی قراردادند و آلودگی ناشی از MG در گله‌های تحت آزمایش با استفاده از الیزا و جداسازی به طریق کشت به ترتیب ۷۳/۵ درصد و ۳۱/۶ درصد گزارش کردند (۷). در مطالعه‌ی مقایسه‌ای که توسط Osman و همکاران (۲۰۰۹)، روی ۲۷۹ نمونه در مصر انجام داد، مشخص گردید که از نظر آلودگی به MG در روش کشت ۱۹/۷درصد مثبت، در PCR ۴۷/۵ درصد مثبت، در الیزا۴۱/۹ درصد مثبت و در RSA ۵۴/۸ درصد مثبت بود (۱۵). Serpil و همکاران (۲۰۱۰) بر روی ۶۴۶ نمونه‌ی خونی اخذ شده از ۳۱ گله مادر گوشتی در ترکیه بررسی انجام دادند و میزان شیوع سرمی MG را با آزمایش‌های RSA و HI به ترتیب۴۸/۴ درصد و ۳۲/۳ درصد گزارش نمودند (۱۹).

در ایران نیز در خصوص شیوع MG مطالعاتی صورت گرفته است که نشان دهنده‌ی شیوع قابل توجه آن در مناطق مختلف کشور می‌باشد (۱، ۲، ۸، ۱۳، ۱۸، ۲۲). Mayahi و همکاران (۲۰۰۷) به منظور بررسی میزان پادتن های ویژه MG در سرم خون جوجه‌های گوشتی شهرستان اهواز به روش RSA تحقیقی انجام دادند که از ۱۰ گله طیور گوشتی به طور تصادفی ۱۸۱ قطعه جوجه در هفته‌های اول و ششم خون‌گیری به عمل آمد، و آزمایش RSA در سه مرحله قبل از حرارت، بعد از حرارت و در رقت ۱/۴ انجام گرفت. نتایج مطالعات آنها نشان داد ۴۰/۸۸ درصد نمونه‌ها قبل از حرارت، ۳۵/۹۱ درصد بعد از حرارت و ۲۱/۵۴ درصد در مرحله‌ی رقت ۱/۴ از نظر MG مثبت بودند، نتایج آنها نشان دهنده‌ی بالا

جدول۴- مقایسه میزان شیوع سرمی MG بر اساس ظرفیت گله‌های مورد مطالعه

ظرفیت گله‌ها (قطعه)	تعداد سرم آزمایش شده	MG				اختلاف معنی‌داری
		مثبت		منفی		
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	
تا ۵۰۰۰	۱۰۵	۱۴	۱۳/۳	۹۱	۸۶/۷	۰/۶۹۵
۵۰۰۱ تا ۱۰۰۰۰	۹۰	۱۵	۱۶/۶	۷۵	۸۳/۴	
۱۰۰۰۱ تا ۲۰۰۰۰	۲۵۶	۴۸	۱۸/۷	۲۰۸	۸۱/۳	
بالای ۲۰۰۰۱	۲۶۹	۶۵	۲۴/۲	۲۰۴	۷۵/۸	

جدول۵- مقایسه میزان شیوع سرمی MG بر اساس مناطق جعرافیایی

مناطق	تعداد سرم آزمایش شده	MG				اختلاف معنی‌داری
		مثبت		منفی		
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	
نمین	۳۴۳	۷۹	۲۳/۱	۲۶۴	۷۶/۹	۰/۰۰۱
اردبیل	۲۶۷	۵۰	۱۸/۷	۲۱۷	۸۱/۳	
نیر	۱۱۰	۱۳	۱۱/۸	۹۷	۸۸/۲	

www.SID.ir

Archive of SID

بودن میزان آلودگی مزارع مرغ مادر گوشتی به *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* و کاهش نمونه‌های مثبت کاذب در فرآیند رقیق کردن سرم (افزایش صحت آزمایش) بود (۱۳). Nikpiran و همکاران (۲۰۰۹)، با بررسی سرولوژیکی MG در ۱۶ گله تخم‌گذار استان آذربایجان شرقی با آزمون RSA نشان دادند که ۵۶/۲ درصد از گله‌های مورد بررسی از لحاظ سرمی مثبت بودند (۱۴). در یک نمونه‌گیری تصادفی از جوجه‌های یک روزه متعلق به ۴۰ گله طیور گوشتی در شهرستان شهرکرد، ۲۲/۵ درصد آلودگی سرمی به MG گزارش شد (۱). در مطالعه‌ای که Pourbakhsh و همکاران (۲۰۰۹) در ۱۸ فارم تخم‌گذار تجاری و ۸ فارم مادر گوشتی انجام دادند، ۱۷ فارم در تست RSA مثبت شدند (۱۶). Valadan و همکاران (۲۰۱۰) از مجموع ۴۵۳۰ نمونه‌ی سرم خون اخذ شده از ۲۲۶ گله طیور گوشتی کشتار شده استان تهران نشان دادند که در آزمایش RSA، ۱۱/۲۷ درصد نمونه‌ها MG مثبت بودند، همچنین در آزمایش الیزا که بر روی نمونه‌های مثبت RSA صورت گرفت، ۶۶/۸۶ درصد نمونه‌ها MG مثبت بودند (۲۲). در بررسی‌های انجام شده توسط Seifi and Shirzad (۲۰۱۲) روی ۲۷۰ گله مادر گوشتی از ۷ استان مختلف در کشتارگاه نشان داد که بیشترین و کمترین میزان شیوع سرمی MG به ترتیب سال‌های ۲۰۰۲ (۲۱/۴ درصد) و ۲۰۰۸ (۰/۰ درصد) بود (۱۸). Haghighi Khoshkhoo و همکاران (۲۰۱۱) شیوع سرمی MG را در گله‌های تجاری تخم‌گذار استان‌های شمال مرکزی ایران ۱۰درصد گزارش نمودند (۸). تحقیقات انجام شده توسط Bozorgmehri Fard و Azizpour (۲۰۱۱) نشان داد که ۴ گله تخم‌گذار تجاری (نژادهای لاین واریته w-۳۶) مبتلا به MG در مقایسه با ۴ گله تخم‌گذاری عاری از بیماری MG (از همان نژاد) در منطقه تبریز از لحاظ عملکرد و تولید بطور قابل توجه‌ای پایین بودند (افت پیک تولید ۴/۷۳ درصد و کاهش تخم مرغ ۸/۵۰ در یک دوره تولید) (۲).

در مطالعه حاضر از مجموع ۳۶ واحد که تحت آزمایش RSA با آنتی‌ژن MG قرار گرفتند، ۲۵ درصد گله‌ها مثبت بودند و در آزمایش الیزا، ۱۶/۷ درصد مثبت و الباقی منفی یا مشکوک تشخیص داده شدند. از مجموع ۷۲۰ نمونه سرم با آزمایش RSA، ۳۰/۳ درصد نمونه‌ها مثبت بودند.در آزمایش الیزا، ۱۹/۷ درصد نمونه‌ها مثبت و الباقی منفی یا مشکوک شدند. درصد موارد مثبت کاذب در مورد MG از نظر گله و نمونه سرم ترتیب ۳۳/۴ درصد و ۳۴/۹ درصد می‌باشد.

نتایج بدست آمده در این تحقیق نشان دهنده‌ی بالا بودن موارد مثبت کاذب در آزمایش RSA و یا پایین بودن ویژگی آن می‌باشد که در آزمایش الیزا موارد مثبت کاهش یافت. این یافته با نتایج مطالعات محققین که آزمونRSA نسبت به سایر آزمایش‌های سرولوژیک مانند الیزا و HI حساسیت بالاتر ولی ویژگی پایین‌تری دارد، مطابقت دارد (۵، ۶، ۹، ۱۵، ۱۸، ۱۹، ۲۲).

در این بررسی با آزمایش RSA، ۳۰/۳ درصد نمونه‌های سرمیMG مثبت گردیدند. در مطالعات Asadian، (۲۰۰۰)، Mayahi و همکاران (۲۰۰۷) و Valadan و همکاران (۲۰۱۰) در جوجه‌های گوشتی میزان شیوع سرمی کمتر از این تحقیق و به ترتیب ۲۲/۵ درصد، ۲۱/۵۴ درصد و ۱۱/۲۷ درصد گزارش شده است (۱، ۱۳، ۲۲)، اما در تحقیقات Sikder و همکاران (۲۰۰۵)،Barua و همکاران (۲۰۰۶) و Hossain و همکاران (۲۰۰۷) میزان موارد مثبت سرمی بیش از نتایج مطالعه حاضر و به ترتیب ۴۶/۸۸ درصد، (در دو منطقه ۵۳ درصد و ۴۶ درصد)و ۵۵/۱۳ درصد بوده است (۳، ۱۰، ۲۰).

Sarkar و همکاران (۲۰۰۵) در مطالعه‌ای در بنگلادش اقدام به اخذ ۳۸۲ نمونه خون در دو فصل تابستان و زمستان از فارم‌های مادر گوشتی نمودند و سرم‌های حاصل را تحت آزمایش RSA قرار دادند. آنها ۵۸/۹ درصد سرم‌ها را MG مثبت تشخیص دادند. همچنین بر اساس نتایج تحقیق مذکور درصد آلودگی در فصل زمستان (۶۲/۴۴ درصد) بیش از تابستان (۵۳/۱۰ درصد) و در سن ۴۰-۲۰ هفتگی بیش‌تر از سن ۵۵-۳۰ هفتگی بود (۱۷). Sikder و همکاران (۲۰۰۵) در بررسی میزان آلودگی به MG، ۳۶۴ نمونه سرمی را تحت آزمایش باSPA قرار دادند و شیوع مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم۴۶/۸۸ درصد و حداکثر آن را در فصل زمستان(۶۱/۴۵ درصد) گزارش نمودند (۲۰). Barua و همکاران (۲۰۰۶)، در بررسی سرواپیدمیولوژیک MG در دو منطقه Lohagara وSatkania در بنگلادش اقدام به اخذ ۴۰۰ نمونه‌ی خون از گله‌های مرغ گوشتی و تخم‌گذار نمودند و میزان آلودگی در گله‌های گوشتی و تخم‌گذار در منطقه نخست را به ترتیب ۵۳ درصد و ۷۳ درصد و در منطقه دوم به ترتیب ۴۶ درصد و ۶۰ درصد گزارش کردند (۳). Hossain و همکاران (۲۰۰۷)، ۵۷۵ نمونه سرم که در طول یک سال از ۱۱۵ گله تخم‌گذار اخذ کرده بودند را با روش RSA آزمایش نمودند و میزان آلودگی به MG را ۵۵/۱۳ درصد گزارش کردند. همچنین آنها میزان آلودگی در زمستان را با اختلاف معنی‌دار بیش از تابستان به ترتیب ۶۱/۴۸ درصد و ۴۷/۷۴ درصد اعلام نمودند (۱۰). Seifi and Shirzad (۲۰۱۲)، گله‌های مادر گوشتی ۷ استان را در طی سالهای ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۸ مورد بررسی قرار دادند و بیشترین و کمترین میزان شیوع سرمی MG را به ترتیب زمستان (۱۸/۵ درصد) و تابستان (۹/۷ درصد) گزارش نمودند (۱۸).

با توجه به نتایج آزمایش‌های سرولوژیک مطالعه حاضر، شیوع *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* در فصل زمستان با اختلاف معنی‌داری بیش از سایر فصول می باشد که این یافته با نتایج Sarkar و همکاران (۲۰۰۵)، Sikder و همکاران (۲۰۰۵)، Hossain و همکاران (۲۰۰۷) و Seifi and Shirzad (۲۰۱۲) مطابقت دارد (۱۱، ۱۷، ۱۸، ۲۰). این موضوع بیانگر آن است که افت دما در فصل زمستان به عنوان استرس در زیاد شدن میزان شیوع سرمیMG تاثیر مستقیم دارد.

Hossain و همکاران (۲۰۱۰)، بیشترین و کمترین میزان آلودگی سرمی به *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* را در گله‌های تخمگذار با ظرفیت بالای ۱۰۰۰۰ و پایین‌تر از ۵۰۰۱ به ترتیب ۶۲/۸۶ درصد و ۵۲/۰۰ درصد گزارش کردند (۱۱). طبق تحقیقات Sarkar و همکاران (۲۰۰۵) از ژانویه تا مه ۲۰۰۴ در گله‌های مادر گوشتی، بیشترین و کمترین میزان شیوع MG به ترتیب در مرغ‌ها (۵۹/۹۴ درصد) و خروس‌ها (۴۸/۵۷ درصد) وجود داشت (۱۷). در مطالعه دیگری که توسط Seifi and Shirzad (۲۰۱۲) در گله‌های مادر گوشتی ایران صورت گرفت. بیشترین میزان شیوع MG با ۲۳ درصد در گله‌های با ظرفیت بالای ۴۰۰۰۰ قطعه و کمترین آن با ۱۱/۷ درصد در گله‌های پایین تر از ۳۰۰۰۰ قطعه مشاهده گردید و همچنین درصد آلودگی در مرغ‌ها (۵۶/۲۱ درصد) بیش از خروس‌ها (۴۳/۷۹ درصد) بود (۱۸).

در مطالعه حاضر میزان شیوع سرمی *مایکوپلاسما گالی‌سپتیکوم* در

www.SID.ir

Archive of SID

مرغ‌ها (۲/۴درصد) نسبت به خروس‌ها و گله‌های با ظرفیت بالاتر از ۲۰۰۰۰ در مقایسه با ظرفیت‌های پایین تر از آن، بیشتر بود هرچند که این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نبودند. این یافته‌ها با مطالعات Hossain و همکاران (۲۰۰۵)،Sarkar و همکاران (۲۰۰۵)، Hossain و همکاران (۲۰۱۰)، Seifi and Shirzad (۲۰۱۲) مشابهت دارد (۱۰، ۱۱، ۱۷، ۱۸).

در مطالعه حاضر آنالیز آماری نشان داد که بین مناطق مختلف جغرافیایی استان از نظر شیوع سرمی *مایکوپلاسما گالی*سپتیکوم اختلاف معنی‌دار وجود دارد. به طوری که بیشترین میزان شیوع سرمی MG با ۲۳/۱ درصد در نمین و کمترین آن با ۱۱/۸ درصد در نیر مشاهده گردید. به نظر می رسد تراکم زیاد گله‌ها و نزدیکی فارم‌ها، ضعف فاکتورهای مدیریتی و امنیت زیستی از علل اصلی شیوع بیشتر *مایکوپلاسما گالی*سپتیکوم در منطقه نمین می‌باشد.

نتیجه گیری و پیشنهادات

در مطالعه حاضرمیزان آلودگی سرمی جوجه‌های گوشتی استان اردبیل به *مایکوپلاسما گالی* سپتیکوم نسبتا بالامی‌باشد. با توجه به هزینه‌های بالای درمان این عفونت، بی تردید رعایت اصول بهداشتی، امنیت زیستی و فاکتورهای مدیریتی و همچنین مقابله با عوامل موثر در بروز آن در سطح مزارع بسیار حایز اهمیت است. متغیرهای کیفی و کمی نظیر تهیه جوجه‌های یک روزه عاری از بیماری، رعایت ظرفیت و تراکم استاندارد گله‌ها و ...حتما جزء برنامه‌های پیشگیری از بیماری در نظر گرفته شود. بر این اساس مطالعات تکمیلی با روش‌های مولکولی برای روشن‌تر شدن وضعیت MG در سطح مزارع گوشتی تجاری پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با مساعدت مالی شورای پژوهشی دانشگاه محقق اردبیلی انجام شده است. لذا به این وسیله مراتب تشکر و قدردانی خود را ابراز می‌دارم.

پاورقی‌ها

1- M. gallisepticum

2- Chronic respiratorydisease (CRD)

منابع مورد استفاده

1.Asadian, B. (2000). Serumtiter of *Mycoplasma gallisepticum* in one day broiler chickens in Shaherkord. DVM Thesis Islamic Azad University, Shaherkord Branch, Faculty of Veterinary Medicine.

2.Azizpour, A. and Bozorgmehri Fard, M.H. (2011). A comparative survey on performance of MG-free and MG-infected layer flocks in Tabriz area of Iran. *J. Appl. Anim. Res,*39(4): 295-297.

3.Barua, S.R., Prodhan, A.M., Islam, S. and Chowdhury, S. (2006). Study on *Mycoplasma gallisepticum* in chickens in selected areas of Bangladesh. *Bangl. J. Vet. Med,* 4(2): 141-142.

4.Botus, D., Popa, V., Stratula,t G.H. and Catana, N. (2008). Epidemiological aspects of Avian mycoplasmosis during 2007. *Lucrari. Scie. Vet. Med*, 3: 536-543.

5.Bradbury J.M. and Morrow C. (2008). Avian mycoplasmosis In: pattison, E., Mcmullin, M., Bradbury, P.F. and Alexander, J.M. Poultry Disease. 7th Ed. Iowa. W.B. Saunders company. PP: 220-228.

6.Feberwee, A., Vriesa, T.S. and Landmana, W.J.M. (2008). Seroprevalence of *Mycoplasma synoviae* in Dutch commercial poultry farm. *Avian. Patho*l, 37(6): 629-633.

7.Gharaibeh, S. and Al roussan, D. (2008). The use of molecular techniques in isolation and characterization of Mycoplasma gallisepticumfrom commercial chickens in Jordan. *Int. J. Poul. Set,* 7(1):28-35.

8.HaghighiKhoshkhoo, P., Akbariazad, G., Roohi, M., Inanlo, J., Masoumi, M. and Sami Yousefi, P. (2011). Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* and *Mycoplasma synoviae* infection in the commercial layer flocks of the centernorth of Iran, *African. J. Microb. Res*, 5(18): 2834-2837.

9.Hanif, A. and Najeeb, Ml. (2007). Comparison of conventional bacterial isolation, rapid slide agglutination and polymerase chain reaction for detection of *Mycoplasma gallisepticum* in breeder flocks. Pak. J. Life Soc. Sci, 2:1-5.

10.Hossain, K.M.M., Ali, M.Y. and Haque, Ml. (2007). Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* infection in chicken in the Greater Rajshahi district of Bangladesh.Bangl. J.Vet. Med, 2: 9-14.

11.Hossain, K.M.M., Hossain, M.T. and Yamato, I. (2010). Seroprevalence of Salmonella and Mycoplasma gallisepticum infection in chickens in Rajshahi and surrounding District of Bangladesh. *Inter. J. Biol,* 2: 74- 80.

12.Jungherr, E. and Sohrab, V. (1959). Pilot serological survey of CRD among imported breeds of chicken in Iran. *Ann. Rep. Razi. Inst.* 1956-57. P: 21.

13.Mayahi, M., SeifiAbad Shapouri, M.R., Kazemi, S. and Farahinia, M. 2007. Changes of specific antibodies of Mycoplasma gallisepticumand Mycoplasma synoviaein serum of broiler flocks.15 th Iranian Veterinary Congress, P: 99.

14.Nikpiran, H., Zeinali, A., Taghaei, M., Vahedi, F. and Aramon, M. (2009). Seroprevalence ofMGinlayerflocks ofEast Azerbaijan Province. 6 th Convention of Iranian Veterinarian Clinicians, P: 491.

15.Osman, M. M., Aly Mm Fau-Amin, Z. M. S., Amin Zm Fau-Hasan, B. S. and Hasan, B. S. (2009). *Mycoplasma gallisepticum:* An emerging challenge to the poultry industry in Egypt. *Rev. Sci. Tech,* 28(3): 1015-1023.

16.Pourbakhsh, S.A., Zakeri, A., Charkhkar, S. and Ashteri, A. 2009. Diagnosisof *Mycoplasma gallisepticum* inclinical samples-

www.SID.ir

Archive of SID

by16Sr RNA PCR withspecific primers.*Vet. Clini. Pathol*, 3 (2):493-502.

17.Sarkar, S. K, Rahman, M. B. and Khan, M. F. R. (2005). Seroprevalence of *Mycoplasma gallisepticum* infection of chickens in model breeder poultry farms of Bangladesh. *Inter. J. Poult. Sci,* 4(1): 32-35.

18.Seifi, S. and Shirzad, M.R. (2012). Seroprevalence and risk factors of *Mycoplasma gallisepticum* infection in Iranian broiler breeder farms. Inter. J. Anim. Vet. Adva, 4(1): 45-48.

19.Serpil, K., Seran, T., Aysegul, E. and Kamil, T.C. (2010). Real-time PCR culture and serology for the diagnosis of *Mycoplasma gallisepticum* in chicken breeder flocks. Vet. Microb, 144 (3-4): 319-324.

20.Sikder, A.J., Islam, M.A., Rahman, M.M. and Rahman, M.B. (2005). Seroprevalence of Salmonella and *Mycoplasma gallisepticum* infection in the six model breeder poultry farms at Patuakhali district in Bangladesh. I*nter. J. Poul. Sci,* 4(11): 905-910.

21.Sohrab, V. and Baharsefat, M. (1955). Mycoplasmosis in poultry in Iran. *Ann. Rep. Razi. Inst.* 1955-56. P: 24.

22.Valadan, M., Pourbakhsh, S.A., Ghalehnoie, M.R., Shokri, G.h., Ahmadi, A.R. and Ghadiri Abianeh, M. (2010). Serologic and microbiologic identification of avian mycoplasmas from slaughtered poultry in Tehran. Vet. J. (*Pajouh. Sazand*), 23 (3):19-26.

www.SID.ir