بررسی سرولوژیکی عفونت *مایکوپلاسما سینویه* در طیور صنعتی استان اردبیل با روش‌های آگلوتیناسیون سرم روی پلیت و الیزا

چکیده

مایکوپلاسما سینوویه (MS) از عوامل مهم ایجاد کننده بیماری عفونی در ماکیان و بوقلمون است که موجب بیماری دستگاه تنفسی، اختلالات حرکتی، کاهش در رشد، افت تولید تخم مرغ و کاهش میزان جوجه درآوری می‌گردد. این مطالعه به منظور تعیین میزان آلودگی سرمی عفونت با *مایکوپلاسما سینوویه* و عوامل تاثیر گذار مرتبط با شیوع آن در گله‌های طیور صنعتی استان اردبیل انجام گرفت. در این مطالعه، از ۳۶ گله طیور گوشتی تعداد ۶۵۵ نمونه خون در طی سال‌های ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ جمع‌آوری گردید. نمونه‌های سرم جدا شده با روش‌های آگلوتیناسیون سریع سرم روی پلیت (RSPA) و الیزا مورد آزمایش قرار گرفتند. از ۳۶ گله مورد مطالعه ، ۱۳ گله (۳۶/۱ درصد) در آزمایش آگلوتیناسیون و ۱۱ گله (۳۰/۶ درصد) در آزمایش الیزا مثبت بودند. از ۶۵۵ نمونه سرم بررسی شده، در آزمایش‌های آگلوتیناسیون و الیزا به ترتیب ۲۶۱ نمونه (۳۹/۸ درصد) و ۲۰۷ نمونه (۳۱/۶ درصد) MS مثبت شدند. حساسیت، ویژگی و همبستگی آزمایش الیزا در مقایسه با آزمایش آگلوتیناسیون در گله‌های مورد بررسی به ترتیب ۸۴/۶ درصد و ۹۲/۵ درصد و ۳۵۲/- بود. زمستان در مقایسه با سایر فصول به‌طور معنی‌دار بیشترین میزان شیوع سرمی MS داشت (P<۰/۰۰۱). ۳۱/۸ درصد آلودگی در مرغان و ۲۸/۹ درصد آلودگی در خروس‌ها مشاهده شد. ظرفیت گله‌های مورد بررسی در چهار گروه طبقه بندی گردید که بیشترین میزان شیوع MS مربوط به گله‌های با ظرفیت بیش از بیست هزار قطعه (۳۴/۷) بود. از بین مناطق جعرافیایی مورد مطالعه، بیشترین میزان شیوع سرمی MS به‌طور معنی‌دار در نمین (۳۲/۲) مشاهده شد (P<۰/۰۰۱). نتایج این مطالعه نشان داد که فاکتورهایی نظیر تغییرات فصلی، جنسیت پرندگان، ظرفیت و تراکم گله‌ها بر میزان شیوع *مایکوپلاسما سینوویه* تاثیردارند و شیوع سرمی MS در طیور صنعتی تجاری استان اردبیل نسبتا قابل توجه است که رعایت کامل اصول امنیت زیستی و شرایط بهداشتی و تهیه جوجه‌های عاری از بیماری ضروری می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: طیور صنعتی، *مایکوپلاسما سینوویه*، الیزا، آگلوتیناسیون سرم روی پلیت

مقدمه

مایکوپلاسماها یکی از عوامل بیماریزای مهم طیور هستند که طیور پرورشی را در تمام دنیا تحت تاثیر قرار داده است. خسارات اقتصادی مایکوپلاسموز چه به صورت اولیه در اثر مشکلات تنفسی و ابتلای مفاصل و چه به صورت ثانویه یا در اثر عفونت‌های همزمان ویروسی و باکتریایی، تحت شرایط نامناسب بهداشتی و مدیریتی بروز می‌کند (۲۲). عواملی نظیر کاهش بازده غذایی، افزایش مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها، کاهش تولید تخم‌مرغ، افزایش تلفات جنینی، پایین آمدن کیفیت جوجه‌ها، ایجاد واکنش‌های زیانبار واکسن‌های زنده ویروسی و حساس کردن گله به عفونت‌های تنفسی بر اهمیت عفونت‌های مایکوپلاسمائی

افزوده است (۳، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۴ و ۱۸). مایکوپلاسموز در ایران برای نخستین بار در سال ۱۹۵۵ با استفاده از آزمایش‌های سرولوژیکی در طیور شناسایی شد و بعدا وجود آلودگی وسیع مایکوپلاسمایی از سوی پژوهشگران مختلفی در گله‌های تجاری کشور گزارش گردید (۱، ۲، ۳، ۷، ۱۴ و ۲۸).

مایکوپلاسما سینوویه (MS) به‌عنوان یکی از مایکوپلاسمای بیماری‌زای پرندگان در حالت سیستمیک با سینوویت عفونی همراه است که یک بیماری عفونی حاد تا مزمن در ماکیان و بوقلمون‌ها می‌باشد و به‌طور عمده غشای سینوویال مفاصل و غلاف تاندون‌ها را درگیر می‌کند، متعاقب آن سینوویت اکسوداتیو و تنوسینوویت یا بورسیت ایجاد می‌گردد (۲۳). شکل تنفسی عفونت MS بیشتر به صورت عفونت تحت بالینی قسمت فوقانی دستگاه تنفس رخ می‌دهد؛ اما در مواقعی که گله با ویروس‌های نیوکاسل یا برونشیت عفونی و یا واکسیناسیون با ویروس‌های زنده فوق مواجه شود، حالت بالینی شکل تنفسی بروز می‌کند که با عفونت کسیه های هوایی همراه است و سبب شدیدتر شدن بیماری می‌شود (۱۹). بیماری *مایکوپلاسما سینوویه* علاوه بر جراحات مفصلی، لنگش و مشکلات تنفسی، به‌دلیل سایر اختلالات نظیر کاهش رشد، افت تولید تخم‌مرغ، افزایش هزینه‌های درمان با دارو، کاهش بازده غذایی و حذف کشتارگاهی دارای اهمّیت اقتصادی است (۱۲، ۱۴ و ۱۹). نظر به این‌که این بیماری قابلیت انتقال عمودی و افقی دارد، نیازمند اقدامات مراقبتی و اجرای برنامه‌های منظم نظارتی در سطح مزارع طیور است (۱۱)؛ لذا تشخیص دقیق و به موقع آن اهمیت ویژه‌ای دارد.

با وجود این‌که ارزیابی‌های سرمی می‌تواند تحت تاثیر عوامل مختلفی نظیر مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و برنامه واکسیناسیون قرار گیرند، اما انجام آزمایش‌های سرولوژیکی اساس برنامه‌های کنترلی را تشکیل می‌دهند. برای غربالگری گله‌های طیور اغلب از آزمایش سریع، بسیار حساس و کم هزینه به نام آگلوتیناسیون سریع سرم روی پلیت (RSPA) استفاده می‌شود که بزرگترین عیب آن ویژگی پایین یا وجود واکنش‌های مثبت کاذب می‌باشد (۳، ۱۰، ۱۲، ۱۴ و ۲۲)؛ لذا برای تایید نمونه‌های مثبت، انجام سایر روش‌های سرولوژیکی قابل قبول نظیر آزمایش‌های الیزا (ELISA) و ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) و یا سایر روش‌های تکمیلی نظیر کشت عامل بیماری و آزمایش‌های مولکولی ضروری می‌باشد (۵، ۱۲، ۱۳، ۱۸، ۲۴، ۲۶ و ۲۹).

هدف از مطالعه حاضر بررسی میزان آلودگی سرمی *مایکوپلاسما سینوویه* در مرغداری‌های گوشتی استان اردبیل با آزمایش‌های سرولوژیکی و تعیین عوامل تاثیرگذار بر میزان شیوع آن می‌باشد تا با ارائه راهکارهای بهداشتی و برنامه‌های کنترلی نسبت به کاهش میزان شیوع بیماری در مزارع صنعتی اقدام نمود.

مواد و روش کار

این مطالعه به روش توصیفی مقطعی از ابتدای مهرماه سال ۱۳۹۱ تا پایان شهریور ماه سال ۱۳۹۲ به مدت ۱۲ ماه در استان اردبیل انجام گرفت. در طول این مدت، از گله‌های طیور صنعتی فعال بطور تصادفی ۳۶ گله گوشتی نژاد راس ۳۰۸ با ظرفیت متفاوت و سنین زیر یک هفته برای نمونه‌گیری انتخاب شدند که سابقه عدم دریافت واکسن MS داشتند.

برای نمونه‌گیری، 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 به‌طور کاملا تصادفی انتخاب و نمونه خون اخذ شد. ضمنا در مورد سالن‌های بیش از ۲۰۰۰۰ قطعه، ۲۵ قطعه و به ازای هر ۵۰۰ قطعه بیشتر از آن، یک عدد پرنده اضافی به‌طور کاملا تصادفی انتخاب شدند (۲). به‌طوری‌که تعداد گله‌های با ظرفیت کمتر از ۵۰۰۰، ۵۰۰۱ تا ۱۰۰۰۰، ۱۰۰۰۱ تا ۲۰۰۰۰ و بالای ۲۰۰۰۱ به ترتیب ۷، ۶، ۱۳ و ۱۰ فارم بود که از کل مزارع انتخابی تعداد ۶۱۷ قطعه جوجه مرغ و ۳۸ قطعه جوجه خروس جمعا ۶۵۵ پرنده انتخاب گردید. لازم به ذکر است که جنسیت پرندگان از روی وضعیت پرهای بال و تاج و ریش تعیین شدند. در هنگام نمونه‌گیری از گله‌های مورد نظر، نمونه‌های خون در لوله‌های دربسته استریل‌دار به‌طور جداگانه جمع‌آوری و بعد از علامت-گذاری 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 (۱۲). نهایتا سرم‌های جدا شده بعد از انجام آزمایش آگلوتیناسیون سریع سرم روی پلیت در میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده به یخچال ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل تا زمان انجام تست الیزا نگه‌داری شدند.

آزمایش RSPA: قبل از شروع آزمایش، سرم‌ها به مدت نیم‌ساعت در حرارت ۵۶ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند تا عوامل ممانعت کننده از بین برود (۱۸). ۳۰ میکرولیتر از سرم و آنتی‌ژن MS (ساخت شرکت Soleil فرانسه) روی صفحه شیشه‌ای مخلوط و بعد از گذشت ۲ دقیقه از نظر وجود و یا عدم وجود آگلوتیناسیون بررسی شدند. نمونه‌های مثبت، در رقت‌های ۱:۸ با PBS مجددا آزمایش شدند و در صورت آگلوتینه شدن، مثبت تلقی گردیدند (۳). طبق دستورالعمل سازمان دامپزشکی گله‌ای که ۱۰ درصد نمونه‌های سرم رقیق شده آن در آزمایش مجدد RSPA مثبت بود، آن فارم به عنوان MS مثبت در نظر گرفته شدند.

آزمایش الیزا: تمامی نمونه‌های سرمی مذکور برای آزمایش الیزا و بررسی میزان دقت آزمایش آگلوتیناسیون آماده شدند. کیت الیزای استفاده شده در این تحقیق متعلق به شرکت IDEXX آمریکا بود. مراحل آزمایش الیزا مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد، در نهایت نتایج با دستگاه الیزا ریدر مارک Awernes آمریکا در طول موج nm ۴۰۵ قرائت گردید (۲، ۱۲ و ۲۶). در این آزمایش تیترهایی که ۶۶۷ و کمتر بود منفی و تیترهایی که ۶۶۸ و بیشتر بود به عنوان مثبت در نظر گرفته شدند.

میزان حساسیت و ویژگی آزمایش‌های سرولوژی RSPA و الیزا طبق فرمول ذیل محاسبه شد.

$$\text{درصد حساسیت} = \frac{\text{تعداد موارد مثبت حقیقی}}{\text{تعداد موارد مثبت حقیقی + تعداد موارد منفی کاذب}}$$

$$\text{درصد ویژگی} = \frac{\text{تعداد موارد منفی حقیقی}}{\text{تعداد موارد منفی حقیقی + تعداد موارد مثبت کاذب}}$$

داده‌های به‌دست آمده از یافته‌های سرولوژیکی با استفاده از نرم افزار SPSS 13 و آزمون Chi-square مقایسه شدند. به منظور تعیین همبستگی و ارتباط بین آزمایش‌های RSPA و الیزا از آزمون Spearman و بسته نرم افزار SPSS 13 استفاده گردید. سطح معنی‌داری در این آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

تعداد ۳۶ گله طیور صنعتی و ۶۵۵ نمونه سرم اخذ شده، از نظر آلودگی سرمی *مایکوپلاسما سینوویه* با آزمایش‌های سرولوژیکی مورد بررسی قرار گرفتند (جدول ۱) که تعداد ۱۳ گله (۳۶/۱ درصد) و ۲۶۱ نمونه سرم (۳۹/۸ درصد) در آزمایش آگلوتیناسیون سرم روی پلیت مثبت شدند. درحالی‌که در آزمایش الیزا، ۱۱ واحد (۳۰/۶ درصد) و ۲۰۷ عدد (۳۱/۶ درصد) به ترتیب از گله‌ها و نمونه‌های سرمی مثبت بودند. بر اساس آزمون همبستگی غیرپارامتری اسپرمن، بین آزمایش‌های سرولوژی ارتباط معنی‌دار و غیرمستقیم وجود داشت ($P< ۰/۰۰۲$, $R= -/۳۵۲$:گله) و ($P< ۰/۰۰۱$, $R= -/۳۴۲$:نمونه سرم). حساسیت آزمایش الیزا نسبت به آزمایش آگلوتیناسیون در گله‌ها و نمونه‌های سرم به ترتیب ۸۴/۶ درصد و ۷۹/۳درصد بود. در حالی‌که ویژگی آن در گله‌ها و نمونه‌های سرم به ترتیب ۹۲/۵ درصد و ۸۹/۲ درصد بود.

جدول ۱- نتایج آزمایش‌های سرولوژی از نظر آلودگی سرمی عفونت *مایکوپلاسما سینویه* در طیور صنعتی استان اردبیل

واحد آزمایش	تعداد آزمایش شده	نتایج آزمایش RSPA				نتایج آزمایش الیزا				مقایسه آزمایش الیزا با RSPA	
		مثبت		منفی		مثبت		منفی			
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	حساسیت	ویژگی
گله	۳۶	۱۳	۳۶/۱[a]	۲۳	۶۳/۹	۱۱	۳۰/۶[b]	۲۵	۶۹/۴	٪ ۸۴/۶	٪ ۹۲/۵
نمونه سرم	۶۵۵	۲۶۱	۳۹/۸[a]	۳۹۴	۶۰/۲	۲۰۷	۳۱/۶[b]	۴۴۸	۶۸/۴	٪ ۷۹/۳	٪ ۸۹/۲

[a و b]: در سطرها نشانگر اختلاف معنی‌داری می‌باشد ($P<۰/۰۰۱$).

مقایسه نتایج حاصل از آزمایش‌های آگلوتیناسیون سرم روی پلیت و الیزا به تفکیک فصول مختلف در سال ۱۳۹۳ در جدول ۲ آورده شده است. با توجه به آنالیز آماری مربع کای بین فصول مختلف از نظر شیوع سرمی *مایکوپلاسما سینوویه* اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۰۱). به‌طوری‌که کمترین و بیشترین درصد آلودگی سرمی MS به ترتیب در فصول بهار و زمستان مشاهده گردید.

جدول ۲- میزان شیوع سرمی عفونت *مایکوپلاسما سینویه* در طیور صنعتی استان اردبیل به تفکیک فصل

فصول / نمونه‌های سرمی	بهار	تابستان	پاییز	زمستان
تعداد نمونه‌های مورد آزمایش	۱۴۱	۱۴۰	۱۷۸	۱۹۶
تعداد نمونه‌های مثبت در آزمایش آگلوتیناسیون	۲۸	۴۲	۶۱	۱۳۰
تعداد نمونه‌های مثبت در آزمایش الیزا	۲۵	۳۷	۵۲	۹۳
درصد نمونه‌های مثبت آزمایش آگلوتیناسیون تایید شده در الیزا	۸۹/۳	۸۸/۱	۸۵/۲	۷۱/۵
فراوانی موارد مثبت آزمایش الیزا از کل موارد مثبت تایید شده در الیزا	٪ ۱۲/۱	٪ ۱۷/۹	٪ ۲۵/۱	٪ ۴۴/۹
فراوانی موارد مثبت آزمایش الیزا از نمونه‌های اخذ شده در هر فصل	٪ ۱۷/۷[d]	٪ ۲۶/۴[c]	٪ ۲۹/۲[b]	٪ ۴۷/۴[a]

[a , b, c, d] : نشانگر اختلاف معنی‌دار بودن داده‌ها در یک سطر می‌باشد (P<۰/۰۰۱).

در جدول ۳ فراوانی شیوع سرمی *مایکوپلاسما سینوویه* به تفکیک جنسیت ارائه شده است. این جدول نشان می‌دهد که میزان شیوع سرمی MS در مرغ‌ها و خروس‌ها به ترتیب ۳۱/۸ درصد و ۲۸/۹ درصد می‌باشد، هرچند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

جدول ۳- فراوانی شیوع سرمی MS بر اساس جنس پرندگان مورد مطالعه

جنس پرندگان	تعداد سرم آزمایش شده	مثبت		منفی		اختلاف معنی‌داری
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	
مرغ	۶۱۷	۱۹۶	۳۱/۸	۴۲۱	۶۸/۲	۰/۴۳۵
خروس	۳۸	۱۱	۲۸/۹	۲۷	۷۱/۱	

میزان شیوع سرمی عفونت *مایکوپلاسما سینوویه* بر اساس ظرفیت‌گله‌های مورد بررسی در جدول ۴ آورده شده است. در مقایسه آماری فراوانی آلودگی سرمی به MS بین ظرفیت‌های مختلف گله‌ها، اختلاف معنی‌داری نبود (P>۰/۰۵). هر چند بیشترین میزان شیوع سرمی *مایکوپلاسما سینوویه* در گله‌های با ظرفیت بیش از ۲۰۰۰۰ قطعه مشاهده گردید. درحالی‌که کمترین آن در گله‌های با ظرفیت کمتر از ۵۰۰۰ تایی بود.

جدول ۴- مقایسه میزان شیوع سرمی MS بر اساس ظرفیت گله‌های مورد مطالعه

ظرفیت گله‌ها (قطعه)	تعداد سرم آزمایش شده	مثبت		منفی		اختلاف معنی‌داری
		تعداد	درصد	تعداد	درصد	
تا ۵۰۰۰	۱۰۴	۲۸	۲۶/۹	۷۶	۷۳/۱	۰/۹۹۲
۵۰۰۱ تا ۱۰۰۰۰	۸۸	۲۵	۲۸/۴	۶۳	۷۱/۶	
۱۰۰۰۱ تا ۲۰۰۰۰	۲۲۷	۷۲	۳۱/۷	۱۵۵	۶۸/۳	
بیش از ۲۰۰۰۱	۲۳۶	۸۲	۳۴/۷	۱۵۴	۶۵/۳	

از مناطق نمین، اردبیل و نیر به ترتیب تعداد ۲۹۸ نمونه، ۲۴۵ نمونه و ۱۰۵ نمونه از نظر میزان آلودگی سرمی MS مورد آزمایش قرار گرفتند که بیشترین میزان شیوع سرمی *مایکوپلاسما سینوویه* به ترتیب در نمین (۳۷/۲ درصد)، اردبیل (۳۰/۲ درصد) و نیر (۱۴/۳درصد) مشاهده شد (P<۰/۰۰۱).

بحث

مایکوپلاسموز سال‌هاست که از سوی پژوهشگران در کشورهای مختلف دنیا با روش‌های مختلف تشخیصی شناسایی شده است. Mohammed و همکاران در سال ۱۹۸۳، آلودگی سرمی MS را در گله‌های تخم‌گذار کالیفرنیای مرکزی و جنوبی به ترتیب ۳۲ درصد و ۸۷ درصد گزارش کردند (۲۲). در یک مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۴ با استفاد از آزمایش الیزا در انگلستان میزان شیوع *مایکوپلاسما سینوویه* ۷۸ درصد بود (۱۳). Feberwee و همکاران در سال ۲۰۰۸ شیوع سرمی MS را در چندین گله تخم‌گذار در هلند در طول مدت ۱۲ ماه از سال ۲۰۰۵ الی ۲۰۰۶ به روش RSPA، ۳۷ درصد تشخیص دادند (۱۰). شیوع سرمی MS و MG در گله‌های طیور کشور رومانی در سال ۲۰۰۸ با روش الیزا ۸۰ درصد اعلان و نشان دادند که در گله‌های بالای ۳۶ هفته MS نسبت به MG شیوع بیشتری دارد (۵). در مطالعه‌ی مقایسه‌ای که از سوی Osman و همکاران در سال۲۰۰۹ روی ۲۷۹ نمونه در مصر انجام گرفت، در روش‌های الیزا و آگلوتیناسیون به ترتیب ۴۱/۹ درصد و ۵۴/۸ درصد نمونه ها مثبت بود (۲۵). در مطالعه‌ای که در پاراگوئه روی فارم‌های تخم‌گذار انجام شد، ۵۳ درصد نمونه‌ها MS مثبت گزارش گردید (۸). Buim و همکاران در سال ۲۰۰۹ در برزیل نشان دادند که از ۷۲/۷ درصد گله‌های طیور، مایکوپلاسماها جداسازی شد و بیشترین موارد آن مربوط به *مایکوپلاسما سینوویه* بود (۶). در پرو در سال ۲۰۰۹ آلودگی سرمی MS، با آزمایش آگلوتیناسیون ۶۷ درصد تخمین زده شد که با تست الایزا این میزان به ۵۳ درصد کاهش یافت (۲۹). در بررسی که Köhn و همکاران در سال ۲۰۰۹ که روی گله-های تخم‌گذار انجام دادند، ۷۵ درصد آن‌ها از نظر شیوع *مایکوپلاسما سینوویه* مثبت بودند (۲۰). در گله‌های طیور صربستان در سال۲۰۱۰ میزان شیوع سرمی MS در سال‌های ۲۰۰۰ و ۲۰۰۹ به ترتیب ۴۷/۴۹ درصد و ۲۲/۱۷ درصد گزارش شد (۱۸). مطالعه‌ای که توسط Luciano و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی ۲۷۸۱ نمونه سرم جمع‌آوری شده از گله‌های مادر گوشتی تجاری برزیل انجام گرفت، میزان شیوع MS با آزمایش‌های آگلوتیناسیون و الیزا به ترتیب ۲۶/۴۶ درصد و ۵/۳۹ درصد بود (۲۱). Heleili و همکاران در سال ۲۰۱۲، ۲۷ گله طیور گوشتی را با آزمایش آگلوتیناسیون در شرق الجزایر بررسی نمودند و از ۵۰۵ نمونه سرم جمع‌آوری شده میزان شیوع سرمی *مایکوپلاسما سینوویه* ۶۶/۳۳ درصد بیان کردند (۱۶). طبق بررسی که Moreira و همکاران در سال ۲۰۱۵ روی ۳۶ گله مادر گوشتی در پرتغال با روش‌های الیزا و PCR انجام دادند، میزان شیوع MS ۶۶/۷ درصد گزارش شد (۲۴). در مطالعه دیگر که توسط Júnior و همکاران در سال ۲۰۱۷ روی ۴۵۹ نمونه سرمی اخذ شده از جوجه‌های بومی موزامبیک جنوبی صورت گرفت، شیوع *مایکوپلاسما سینوویه، ۸۴/۵ درصد بود* (۱۷) .

در ایران نیز در خصوص شیوع مایکوپلاسماها مطالعات فراوانی صورت گرفته است که با توجه به نتایج پژوهشگران میزان آلودگی آن‌ها در مناطق مختلف کشور متفاوت است. میاحی و همکاران در سال ۱۳۸۶ روی ۱۰ گله طیور گوشتی در هفته اول به منظور پایش میزان پادتن ویژه MS با آزمایش آگلوتیناسیون تحقیقی انجام دادند که ۹۰/۲۵ درصد نمونه‌ها قبل از حرارت، ۸۴/۴۸ درصد بعد از حرارت و ۵۱/۵۴ درصد در مرحله رقت ۱/۴ از نظر MS مثبت بودند (۱). در سال ۲۰۰۶ مطالعه‌ای که بر روی مزارع گوشتی اطراف شیراز انجام گرفت، میزان آلودگی MS در مناطق مورد بررسی بسیار بالا و ۱۰۰ درصد گزارش گردید (۷). ولدان و همکاران در سال ۱۳۸۹، روی ۳۴۷۴ نمونه‌ی سرم خون اخذ شده از ۲۲۶ گله طیور گوشتی کشتار شده استان تهران از نظر MS تحقیق انجام دادند که در آزمایش‌های آگلوتیناسیون و الیزا به ترتیب ۳۸/۱۹ درصد (۱۳۲۷ نمونه) و ۲۷/۰۶ درصد (۹۴۰ نمونه) مثبت بودند (۲). در مطالعه‌ای دیگر در منطقه تبریز نشان داده شد که گله‌های تخم‌گذار تجاری مبتلا به *مایکوپلاسما گالی*-سپتیکوم نسبت به گله‌های تخم‌گذار عاری از بیماری به‌طور قابل توجه‌ای عملکرد پایین دارند (۳). Haghighi-Khoshkhoo و همکاران در سال ۲۰۱۱ شیوع سرمی MS را در گله‌های تخم‌گذار تجاری استان‌های شمال مرکزی ایران ۴۲/۵ درصد گزارش کردند (۱۴). در سال ۲۰۱۳ با آزمایش آگلوتیناسیون ۲۰۰ مرغ بومی در اقلید مورد بررسی قرار گرفت و میزان آلودگی *مایکوپلاسما سینوویه* ۲ درصد اعلان گردید (۲۸). Seifi در سال ۲۰۱۳ با آزمایش‌های سرولوژی روی ۳۱۵ گله مادر گوشتی در استان مازندران طی سال‌های ۲۰۰۲ الی ۲۰۰۸ بررسی انجام داد و بیشترین و کمترین میزان شیوع سرمی MS را در سال‌های ۲۰۰۳ و ۲۰۰۸ (به ترتیب ۴۱/۲ درصد و ۰ درصد) گزارش کرد (۲۷).

در مطالعه حاضر هم در آزمایش آگلوتیناسیون و هم در آزمایش الیزا، ۱۱ گله از ۳۶ گله (میزان شیوع ۳۰/۶ درصد) مثبت بود. از ۱۱ گله MS مثبت، ۵ گله در شهرستان نمین، ۴ گله در شهرستان اردبیل و ۲ گله در شهرستان نیر از نوع نژاد راس ۳۰۸ بودند. از مجموع ۶۵۵ نمونه سرم مورد بررسی، ۳۹/۸ درصد در آزمایش آگلوتیناسیون و ۳۱/۶ درصد در آزمایش الیزا مثبت بود. این آمار نشان دهنده‌ی بالا بودن تعداد موارد مثبت کاذب در آزمایش آگلوتیناسیون (۲۰/۷ درصد) و یا پایین بودن ویژگی آن می-باشد که این یافته مطابق با مطالعات پژوهشگران است (۴، ۹، ۱۱، ۱۲، ۱۹، ۲۵ و ۲۹). یافته‌های به‌دست آمده از این مطالعه در خصوص میزان شیوع سرمی *مایکوپلاسما سینوویه* (۳۰/۶ درصد) از برخی گزارش‌های پیشین (۲، ۱۸ و ۲۸) بیشتر و از برخی نتایج مطالعات دیگر (۱، ۵، ۷، ۱۶، ۲۱ و ۲۹) کمتر است. این موضوع بیانگر آن است که فراوانی آلودگی مایکوپلاسماها در نواحی مختلف جعرافیایی متفاوت می‌باشد.

بر اساس نتایج مطالعات Heleili و همکاران در سال۲۰۱۱ میزان شیوع مایکوپلاسما در فصل زمستان در بالاترین حد (۶۱/۴۸ درصد) و در تابستان در پایین‌ترین حد (۴۷/۷۴ درصد) قرار داشت (۱۵). در مطالعه دیگر در سال ۲۰۰۵ درصد آلودگی در فصل زمستان (۶۲/۴۴ درصد) بیش از تابستان (۵۳/۱۰ درصد) گزارش گردید (۲۶). Seifi در سال ۲۰۱۳ ، نشان داد که بیشترین و کمترین میزان آلودگی *مایکوپلاسما سینوویه* به ترتیب زمستان (۳۹/۶ درصد) و تابستان (۳۰/۶ درصد) بود (۲۷). در مطالعه حاضر نیز تغییرات فصلی بر میزان شیوع سرمیMS تاثیر داشت، به‌طوری‌که بیشتر شیوع آن در زمستان (۴۷/۴) مشاهده شد. این یافته با نتایج مطالعات محققین (۱۵، ۲۶ و ۲۷) مطابقت دارد.

در این مطالعه شیوع عفونت در مرغ‌ها در مقایسه با خروس‌ها و همچنین در گله‌های با ظرفیت بالای ۲۰۰۰۰ قطعه نسبت به سایر ظرفیت‌ها بیشتر بود، هرچند که این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار مشاهده نشد، اما نشان داد که پرندگان جنس ماده و گله‌های با ظرفیت‌های بیشتر نسبت به عفونت حساس‌تر هستند. این یافته‌ها با نتایج Sarkar و همکاران در سال ۲۰۰۵، Heleili و همکاران در سال ۲۰۱۲ و Seifi در سال ۲۰۱۳ هم‌خوانی دارند (۱۵، ۲۶ و ۲۷). در مطالعه حاضر از بین مناطق مختلف جغرافیایی مورد بررسی استان، شهرستان نمین به‌طور معنی‌داری بیشترین میزان شیوع سرمی مایکوپلاسما داشت. به نظر می‌رسد تراکم زیاد گله‌ها، نزدیکی فارم‌ها به هم و یا نزدیکی تدریجی روستا به مزارع و کیفیت اصول امنیت زیستی می‌تواند از فاکتورهای موثر بر میزان آلودگی منطقه نمین باشد.

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان آلودگی سرمی طیور صنعتی تجاری استان اردبیل به *مایکوپلاسما سینوویه* نسبتا قابل توجه است که احتمالا ناشی از انتقال عمودی بیماری در مزارع طیور می‌باشد. عواملی نظیر تغییرات فصلی، جنسیت پرندگان، ظرفیت گله‌ها و تراکم گله‌ها در مناطق نمونه‌گیری بر میزان شیوع سرمی عفونت MS تاثیر دارند. لذا ضمن رعایت کامل شرایط امنیت زیستی و اصول بهداشتی، بایستی برنامه‌های منظم نظارتی و اقدامات مراقبتی در سطح مزارع مرغ مادر به‌طور دقیق اجرا شود و حتما جوجه‌های گوشتی یک‌روزه تجاری از گله‌های مادر عاری از بیماری تهیه گردد. بر این اساس مطالعات تکمیلی با روش‌های مولکولی در سطح طیور تجاری پیشنهاد می‌شود.

منابع

۱-میاحی، منصور؛ صیفی آبادشاپوری، مسعودرضا؛ کاظمی کاوردی، سمیه؛ و فتاحی نیا مهناز؛ بررسی تغییرات پادتن ویژه مایکوپلاسماگالی سپتیکم و مایکوپلاسما سینوویه در سرم خون گله‌های گوشتی؛ پانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران؛ ۱۳۸۶؛ ۹۹.

۲-ولدان، مجید؛ پوربخش، سیدعلی؛ قلعه‌نویی، محمدرضا؛ شکری، غلامرضا؛ احمدی، احمدرضا؛ قدیری ابیانه، محمد و خامنه فرهاد؛ تشخیص سرولوژیکی و میکروبیولوژیکی مایکوپلاسماها از ماکیان صنعتی در کشتارگاه‌های طیور استان تهران؛ نشریه دامپزشکی (پژوهشی و سازندگی)؛ ۱۳۸۹؛ ۸۸: ۲۶-۱۹.

3-Azizpour, A. and BozorgmehriFard. M.H; A Comparative Survey on Performance of MG -Free and MG-infected Layer Flocks in Tabriz area of Iran. J. Appl. Anim. Res; 2011; 39(4): 295-297.

4-Bencina, D; Tadina, T. and Dorrer, D; Natural Infection of ducks with Mycoplasma synoviae and Mycoplasma gallisepticum and myocplasma egg transmission. Avian. Dis; 1988; 17: 441-449.

5-Botus, D; Popa, V; Stratulat, G.H. and Catana, N; Epidemiological aspects of avian mycoplasmosis during 2007, Lucrari. Scie. Vet. Med; 2008; 3: 536-543.

6-Buim, M.R; Mettifogo, E; Timenetsky, J; Kleven, S. and Ferreira, A.J.P; Epidemiological survey on Mycoplasma gallisepticum and M. synoviae by multiplex PCR in commercial poultry. Pesquisa. Vet. Brasil; 2009; 29: 552-556.

7-Dadras H; Investigation of five diseases among native hens around Parishan Lake in Iran. The 4st international congress of clinical science veterinarians in Iran; 2006; pp: 90.

8-Dufour-Gesbert, F; Dheilly, A; Marois, C. and Kempf, I; Epidemiological study on Mycoplasma synoviae infection in layers. Vet. Microbiol; 2006; 114: 148-54.

9-Fan H.H; Kleven S.H. and Jackwood M.W; Application of polymerase chain reaction with arbitrary primers to strain identification of Mycoplasma galliseplicum. Avian. Dis; 1995; 39: 729-735.

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

11-Feberwee, A; De Wit, J.J. and Landman, W.J.M; Induction of eggshell apex abnormalities by Mycoplasma synoviae: field and experimental studies. Avian Pathol; 2009; 38: 77-85.

12-Feberwee, A; Mekkes, D.R; De Wit ,J.J; Hartman, E.G. and Pijpers, A; Comparison of culture, PCR, and different serologic tests for detection of Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma synoviae Infections. Avian. Dis; 2005; 49: 260-268.

13-Hagan, C.J; Ashton, N.J; Bradbury, J.M. and Morgan, K.L; Evaluation of an egg yolk enzyme-linked immunosorbent assay antibody test and its use to assess the prevalence of Mycoplasma synoviae in UK laying hens. Avian. Pathol; 2004; 33(1): 93-97.

14-Haghighi-Khoshkhoo, P; Akbariazad, G; Roohi, M; Inanlo, J; Masoumi, M. and Sami-Yousefi, P; Seroprevalence of Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma synoviae infection in

the commercial layer flocks of the Centernorth of Iran. African. J. Microb. Res; 2011; 5(18): 2834-2837.

15-Heleili, N; Mamache, B. and Chelihi, A; Incidence of Avian Mycoplasmosis in the region of Batna, Eastern Algeria. Vet. World; 2011; 4 (3):101-5.

16-Heleili, N; Ayachi, A; Mamache, B. and Chelihi, A. J; Seroprevalence of Mycoplasma synoviae and Mycoplasma gallisepticum at Batna Commercial poultry farms in Algeria. Vet. World; 2012; 5(12): 709-712.

17-Junior, A.M; Taunde, P; Zandamela, A. F; Junior, A. P; Chilundo, A; Costa, R. and Bila. C.G; Serological Screening Suggests Extensive Presence of Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma synoviae in Backyard Chickens in Southern Mozambique. J. Vet. Med; 2017; Article ID 2743187; 4.

18-Kapetanov, M; Orlic, D; Potkonjak, D. and Velhner, M; Mycoplasma in poultry flocks in the year 2009 compare to the year 2000 and significance of the control measures in Serbia. Lucrari scientific Med. Vet; 2010; XLIII: 249-253.

19-Kleven, S.H. and Ferguson-Noel, N; Mycoplasma synoviae Infection. . In: Disease of poultry, 12th Edition, (Swayne, D.E; Glisson, J.R; McDougald, L.R; Nolan, L,K; Suarez, D.L; Nair, V.L), Iowa State Press: Ames; 2008; 845-856.

20-Köhn, S; Spergse, J; Ahlers, C; Voss, M; Bartels, T; Rosengarten, R. and Krautwald-Junghanns, M.E; Prevalence of Mycoplasmas in commercial layer flocks during laying period. Klinikfür Vögelund Reptilien der Universität Leipzig. Berl. Munch. Tierarztl. Woch; 2009; 122: 186-92.

21-Luciano, R. L; Cardoso, A. L. S. P; Stoppa, G. F. Z; Kanashiro, A.M. I; de Castro, A. G. M. and Tessari, E. N. C; Comparative Study of Serological Tests for Mycoplasma synoviae Diagnosis in Commercial Poultry Breeders. Vet. Med. Inter; 2011; 5: doi:10.4061/2011/304349.

22-MacOwan, K.J; Helen, C.J; Jones, G.R. and Brand, T.F; Association of Mycoplasma synoviae with respiratory disease of broilers. Avian. Pathol; 1982; 11: 235-244.

23-Mohammed, H.O; Carpenter, T.E; Yamamoto, R. and McMartin, D.A; Prevalence of Mycoplasmagallisepticum and M. synoviae in CommercialLayers in Southern and Central Californi. Avian. Dis; 1983; 30(3): 519-526.

24-Moreira, F.A; Cardoso, L. and Coelho, A.C; Epidemiological survey on Mycoplasma synoviae infection in Portuguese broiler breeder flocks. Vet. Itali; 2015; 51 (2): 93-98.

25-Osman Km Fau – Aly, M. M; Aly Mm Fau – Amin, Z. M. S; Amin Zm Fau – Hasan, B. S. and Hasan, B. S; Mycoplasma Gallisepticum: An Emerging Challenge to the Poultry Industry in Egypt. Rev. Sci. Tech; 2009; 28(3): 1015-1023.

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

27-Seifi, S; Risk factors and seroprevalence of Mycoplasma synoviae infection in broiler breeder farms in Mazandaran province, North Iran. Acta. Vet; 2013; 63(2-3):303-309.

28-Shadmanesh, A. and Mokhtari, M. M; Serological investigation of five diseases; Influenza, Newcastle disease, Salmonella, Mycoplasma gallisepticum and Mycoplasma synoviae in native hens of Eghlid, Iran. Vet. World; 2013; 6(3): 126-130.

29-Suzuki, K; Origlia, J; Alvarez, F; Faccioli, M; Silva, M; Caballero, J; Nunrez, L. and Castro, L; Relative risk estimation for Mycoplasma synoviae in backyard chickens in Paraguay. Int. J. Poult. Sci; 2009; 8: 842-847.

Serological survey of *Mycoplasma synoviae* infection in industrial poultry of Ardabil province by using RSPA and ELISA

Summary

Mycoplasma synoviae (MS) is an important pathogens of poultry and turkeys, and causes respiratory infection, lameness, decreased growth rate, loss of egg production and hatch reduction. This study was conducted to determine the seroprevalence of MS infection in industrial poultry of Ardabil province, northwestern Iran, and to find the possible association of prevalence of infection with some potential factors. Between October 2012 and April 2013, 655 blood samples were collected from 36 industrial flocks. Serum samples were examined by Rapid Serum Plate Agglutination (RSPA) and ELISA tests. From 36 flocks, 13 flocks (36.1%) in RSPA and 11 flocks (30.6%) in ELISA were positive. From 655 serum samples, 261 samples (39.8%) and 207 samples (31.6%) were positive in RSA and ELISA tests, respectively. In RSPA, sensitivity, specificity and correlation rate of ELISA were 84.6%, 92.5% and -0.352, respectively. The highest rate of seroprevalance with statistical difference ($p<0.001$) was in winter. 31.8% of MS prevalence was detected in the female type and 28.9% in the male type. The capacity of the flocks was classified into four groups and the highest MS seroprevalance was seen in the flocks including more than 20000 birds. The prevalence of MS in Namin city was significantly ($p<0.05$) higher (32.2%) as compared to other regions. The results of this study showed that factors such as sex of birds, size of flocks, seasonal variations and density of flocks in sampling regions were effective in MS. Also, the seroprevalence of MS infection is relatively higher in the industrial flocks of Ardabil Province. It needs to respect the biosecurity and sanitation principles and providing free MS chickens.

Key word: Industrial poultry, Mycoplasma synoviae, ELISA, RSPA