

✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۵۵، تابستان ۱۳۸۱

آلودگی طبیعی ناشی از

Ornithobacterium rhinotracheale

در گله های طیور تجاری و عفونت تجربی آن در جوجه های عاری از پاتوژن های اختصاصی

● منصور بنانی، ● سید علی پوربخش، ● غلامرضا مؤذنی جولا، ● رضا ممیز و ● عباس عزى، اعضای هیأت علمی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، حصارک، کرج

تاریخ دریافت: تیر ماه ۱۳۸۰ تاریخ پذیرش: شهریور ماه ۱۳۸۱

چکیده

نمونه های طیور مربوط به ۱۲۰ مرغداری مراجعه کننده به موسسه رازی طی سال ۱۳۷۹ از نظر آلودگی به باکتری (ORT) *Ornithobacterium rhinotracheale* مورد بررسی قرار گرفتند. ۹۶ مورد از آنها (۸۰٪) اختلالات تنفسی داشتند که از این تعداد ۵۷ مرغداری (۵۹/۴٪) آلوده به باکتری ORT بودند. تمامی مرغداری های آلوده علائم تنفسی را بروز می دادند. از مرغداری های فاقد اختلالات تنفسی باکتری ORT جدا نگردید. علائم قابل توجه گله های آلوده به باکتری ORT در این مطالعه، التهاب کیسه های هوایی، تراکئیت، وجود قالب چرکی (Cast) در نزدیکی سیرینکس، برونکوپنومونی و سینوزیت بود. نارسایی بطن راست و آسیت همراه یا پس از اورنیتوباکتریوز جلب توجه می کرد. از ۲۰ گله ای که تلفات بالا و اختلالات تنفسی داشتند، ۱۶ گله (۸۰٪) آلوده به باکتری ORT بودند. در این مطالعه اورنیتوباکتریوز در نژادهای مختلف ماکیان شامل مادر گوشتی، جوجه گوشتی، تخمگذار تجاری و مرغ بومی دیده شد. باکتری های جدا شده ORT از موارد اورنیتوباکتریوز ارجاعی به موسسه رازی برای تعیین بیماریزایی با کمک ایجاد عفونت تجربی آزمایش شدند. باکتری های ORT جدا شده پس از تلقیح داخل نای جوجه های عاری از پاتوژن های اختصاصی (SPF) دو ماهه به تنهایی قادر به ایجاد تراکئیت، تورم کیسه های هوایی، پریکاردیت و پنومونی بودند و پس از تزریق داخل سینوس زیر چشمی، سینوزیت ایجاد نمودند و باکتری ORT از اندام های مبتلا جدا گردید. سرم تمامی جوجه های آلوده شده در روز دهم پس از عفونت پادتن ORT را در تست آگلوتیناسیون سریع روی لام نشان دادند. نتایج این آزمایش نشان دهنده توانایی ORT جدا شده از طیور تجاری کشور در ایجاد عفونت و بیماری تجربی در جوجه های SPF می باشد. با توجه به یافته های این بررسی میتوان حضور باکتری ORT در مرغداری های کشور را منشاء بخشی از خسارات وارده به صنعت طیور دانست.

کلمات کلیدی: *Ornithobacterium rhinotracheale*، عفونت تجربی، ماکیان، ایران

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 55 PP: 28-37

Natural infection with *Ornithobacterium rhinotracheale* in Commercial poultry and experimental infection in specific - pathogen - free chickens

By: M.Banani, S.A. Pourbakhsh, G.Moazeni jula, R.Momayez and A.Ezzi Members of Scientific board of Razi Research Institute

In 2000 and early 2001, samples from 120 poultry farms submitted to Razi Institute were examined for *Ornithobacterium rhinotracheale* (ORT) isolation. Ninety six farms out of these 120 farms (80%) had respiratory disorders, which 57 farms of them (59.4%) were infected with ORT, and all the infected flocks showed respiratory signs. Prominent signs in the infected flocks were airsacculitis, tracheitis, purulent cast near to syrinx, bronchopneumonia and sinusitis. Right ventricular failure (RVF) or ascites during or after course of ornithobacteriosis were seen. Out of 20 farms with high mortality and respiratory disorders, 16 farms (80%) were infected with ORT. In this study ornithobacteriosis was observed in various types of commercial chicken including broilers, layers, and broiler breeders. Field isolates of ORT from natural Ornithobacteriosis submitted to Razi Institute were tested on their pathogenicity in specific-pathogen-free (SPF) chickens. ORT isolates were found to cause airsacculitis, tracheitis, pneumonia and pericarditis in 2-month-old SPF chickens, after intra - tracheal administration, and to cause sinusitis after intra - sinus injection. ORT was reisolated from affected organs, and all SPF chickens inoculated with ORT developed antibodies to ORT detectable by the serum plate agglutination test. Upon the results ORT can be recognized as an important cause of losses in poultry industry of our country.

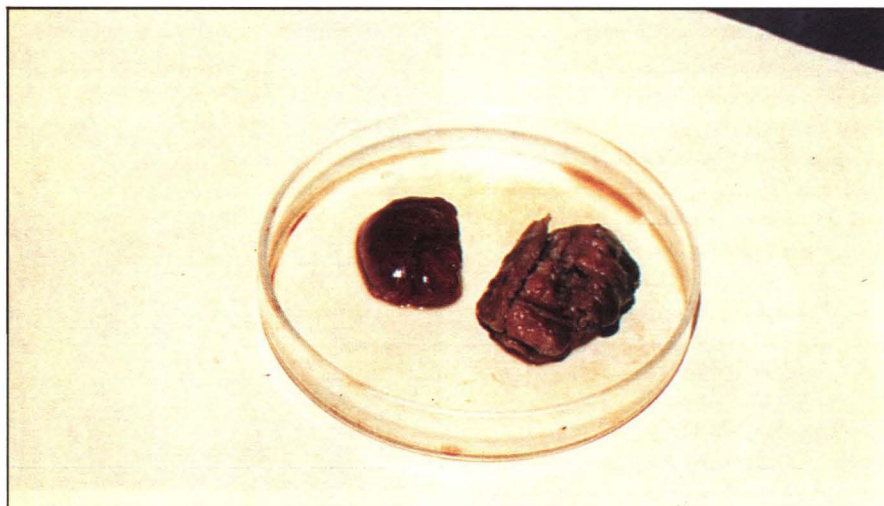
Key words: *Ornithobacterium rhinotracheale*, experimental infection, chickens, Iran.

مقدمه

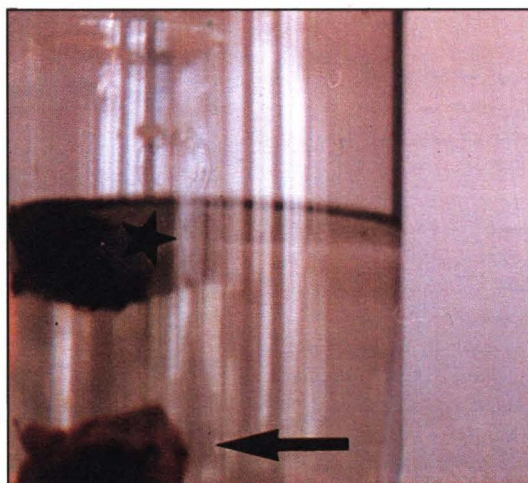
اصطلاح کلی پاستورلوز طیور شامل عفونت‌های ناشی از پاستورلاها و شبه پاستورلاهای مختلف است که مهمترین آنها بیماری وبای طیور ناشی از *Pasteurella multocida* و اورنیتوباکتریوز ناشی از (*ORT*) *Ornithobacterium rhinotracheale* و چسند بیماری کم اهمیت تر دیگر می باشد (۱۰). باکتری نوظهور *ORT* برای نخستین بار در سال ۱۹۹۴ به طور کامل توصیف و نامگذاری گردید. قبل از سال ۱۹۹۴ مواردی از جداسازی باکتری از طیور با نامهای متنوع، از جمله باکتری شبه پاستورلا وجود داشته است و اولین گزارش در سال ۱۹۸۱ از کشور آلمان بوده است. *O. rhinotracheale* باکتری گرم منفی، پیلومورف و غیر متحرکی است که به همراه بروز علائم تنفسی، کاهش رشد، کاهش تولید تخم و افزایش مرگ و میر و حذف کشتارگاهی از بوقلمون و ماکیان جدا شده است. تورم کیسه‌های هوایی و پنومونی یکطرفه یا دو طرفه شایعترین علائم کالبدگشایی اورنیتوباکتریوز است ولی سایر علائم بیماری شامل تراکئیت، سینوزیت، پریکاردیت و حتی آرتریت و مننژیت می باشد (۵، ۴، ۱۹). قبل از سال ۱۹۹۴ باکتری *ORT* به عنوان عامل پاتوژن فرصت طلب ثانویه شناخته شده بود (۵) و پس از آن علیرغم اینکه تاثیر باکتری در ایجاد اختلالات تنفسی در ماکیان و بوقلمون محرز بود ولی نقش آن به عنوان یک عامل پاتوژن اولیه مورد تردید بود (۱۹). در تازه‌ترین تحقیقات بعنوان عامل پاتوژن اولیه حداقل در بوقلمون (۱۵) و جوجه‌های گوشتی (۲۱) مطرح شده است.

با وجود اینکه فقط حدود ۷ سال است که توجه محققین به باکتری *ORT* جلب شده است ولی گسترش جهانی آن در طیور تجارتی به اثبات رسیده است. باکتری *ORT* از کشورهای مختلف اروپایی و آمریکای شمالی، فلسطین اشغالی، آفریقای جنوبی، پرو و ایران از گونه‌های مختلف پرندگان اهلی و وحشی جداسازی گردیده است (۱، ۲، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۷، ۱۹، ۲۱، ۲۲). باکتری *ORT* در جوجه‌های گوشتی هلند (۲۱)، آفریقای جنوبی (۱۷) و پرو (۹) شایع بوده و به دلیل بیماری، تلفات و حذف کشتارگاهی خسارات سنگینی به صنعت طیور این کشورها تحمیل نموده است. عفونت توأم *ORT* و ویروس برونشیت عفونی در موارد بیماری و تلفات مرغاریها در آمریکا مشاهده شده است (۱۳).

اولین گزارش عفونت *ORT* در ایران، در سال ۱۳۷۹ و از یک گله گوشتی و یک گله پولت تخمگذار با اختلالات تنفسی بوده است (۱). در گزارش قبلی تنها آلودگی *ORT* در دو گله طیور و شناسایی بیوشیمیایی باکتری جدا شده مطالعه شده بود. روشن شدن اهمیت این عفونت نوظهور در صنعت طیور کشور مستلزم مطالعات گسترده‌تر می باشد. بنابراین بررسی آلودگی طبیعی ناشی از *ORT* در گله‌های طیور مبتلا به اختلالات تنفسی ارجاعی به موسسه رازی و تعیین بیماری‌زایی باکتری جدا شده از طیور تجاری با کمک آلوده سازی تجربی جوجه‌های عاری از پاتوژنهای اختصاصی (SPF) از اهداف مطالعه حاضر بوده است.



تصویر ۱- ریه جوجه گوشتی مبتلا به اورنیتوباکتریوز. در سمت راست پنومونی در تمامی قسمتهای ریه دیده می شود. ریه سمت چپ تقریباً طبیعی است از ریه مبتلا به پنومونی *ORT* جدا شد.



تصویر ۲- ریه مبتلا به پنومونی در آب فرو رفته است (پیکان) و ریه طبیعی در سطح آب قرار دارد (ستاره).



تصویر ۳- برش عرضی منقار بالا در ناحیه عقب سوراخ بینی. اکسودای چرکی در سینوس زیر چشمی (پیکان) مشخص می باشد. در سمت راست حفره بینی و در سمت چپ آن، منقار پایین مشاهده می گردد از سینوس مبتلا *ORT* جدا شد.

مواد و روش کار علائم و نمونه برداری از موارد مشکوک به اورنیتوباکتریوز طبیعی

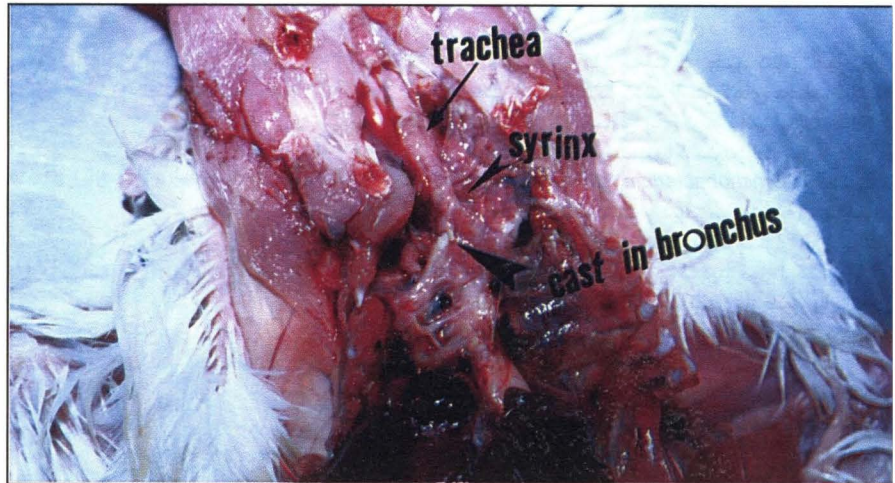
در طی سال ۱۳۷۹ در مراجعات مرغداران به بخش تشخیص و تحقیق بیماریهای طیور موسسه رازی، با پرسش از مرغدار اطلاعات مورد لزوم ثبت می‌شد و معاینه نمونه‌های زنده مریض با بررسی وضعیت ظاهری و معاینه خارجی دستگاههای مختلف بدن صورت می‌گرفت. سپس اقدام به کالبد گشایی لاشه‌ها می‌گردید و تمامی اعضای داخلی بدن از نظر حضور علائم ماکروسکوپی، مورد بررسی قرار می‌گرفتند. سپس در شرایط استریل با ایجاد برش در محل ثلث پایینی نای با استفاده از سواپ پنبه‌ای استریل از مخاط نای نمونه برداری می‌شد و از هر گله بین ۵ تا ۱۰ نمونه تهیه می‌گردید. با این روش از ۱۲۰ گله ارجاعی به موسسه رازی نمونه برداری شد. از نمونه‌های نای و ریه چند پرند مشکوک به اورنیتوباکتریوز کشت باکتریایی به عمل آمد و سپس نمونه‌های نای و ریه فوق در بافر فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شد. در صورت جداسازی ORT از هر نمونه بافتی، تهیه مقطع هیستوپاتولوژی از آن نمونه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین انجام می‌گردید.

کشت، جداسازی و شناسایی باکتری

روش کشت، جداسازی و شناسایی باکتری با استفاده از روشهای استاندارد انجام گرفت (۴، ۱). در برخی موارد جهت شناسایی بیشتر، سایر صفات بیوشیمیایی باکتری نیز بررسی شد (۱). روش کار بطور خلاصه بدین نحو بود که سوآپهای پنبه‌ای نمونه برداری شده در شرایط استریل بر روی محیط ژلوز خوندار حاوی جنتامایسین کشت داده شد و به مدت ۴۸ ساعت در انکوباتور حاوی ۷/۵ درصد دی اکسید کربن و در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری گردید. شناسایی اولیه بر اساس شکل و اندازه پرگنه‌ها، رنگ آمیزی گرم و آزمایشات کاتالاز و اکسیداز بود. سپس قابلیت رشد هوازی و کشت در محیط‌های مک کانکی، TSI، سیمون سیترات و اندول بررسی شده و در برخی موارد برای شناسایی دقیق تر، سایر صفات بیوشیمیایی نظیر انواع تستهای قندی و آنزیمی مورد آزمایش قرار گرفت. با توجه به متغیر بودن برخی خصوصیات بیوشیمیایی و به دلیل عدم رشد باکتری در برخی محیط‌های بیوشیمیایی و یا به دلیل تنوع ژنتیکی سویه‌های باکتری ORT (۴، ۵، ۸)، برای تشخیص قطعی آن از آنتی سرم استاندارد علیه ORT استفاده شد. این آنتی سرم از طریق پروفسور Silim، از دانشگاه مونترال کانادا (۱۱) دریافت شده بود و با استفاده از آزمایش آگلوتیناسیون سریع روی لام، شناسایی نهایی باکتری ORT جدا شده، از طریق سرولوژیکی انجام گرفت. در نهایت باکتری خالص و شناسایی شده پس از کشت در محیط‌های آبگوشت حاوی خون گوسفندی تکثیر و در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید.

عقوت تجربی با ORT از طریق داخل نای

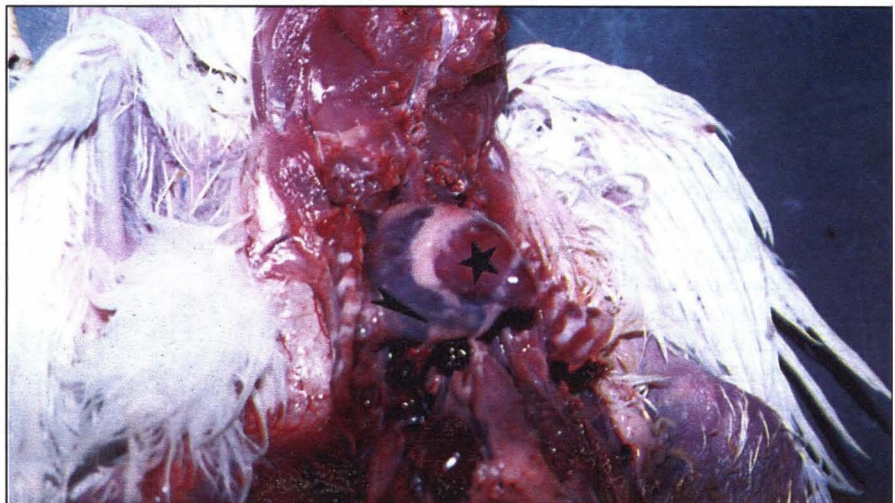
جهت آماده سازی باکتری برای تلقیح تجربی، ۵ نمونه باکتری ORT جدا شده از موارد بالینی با تلفات خیلی شدید (بالای ۱۰ درصد در روز) در محیط ژلوز خوندار معمولی کشت داده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور حاوی ۷/۵ درصد دی اکسید کربن و در دمای



تصویر ۴- اکسودای چرکی قالبی (cast) در نایژه اولیه خارج رویی (پایین) مشاهده می‌گردد، کمی بالاتر سیرینکس و بالاتر از سیرینکس نای مشخص می‌باشد.



تصویر ۵- وجود اکسودای چرکی در نایژه‌های داخل ریه (پیکان). ریه با علامت ستاره مشخص می‌باشد.



تصویر ۶- اتساع و هیپر تروفی بطن راست (ستاره) و تجمع مایع در حفره آبشامه قلب (پیکان) مشخص می‌باشد.

۳۷ درجه سانتی گراد نگهداری گردید. جمع آوری و تهیه سوسپانسیون باکتری با کمک محلول نمکی نرمال (۰/۰۸۵٪) انجام شد. غلظت باکتری در حدود CFU $10^8 \times 2$ در هر میلی لیتر از سوسپانسیون تهیه گردید. به دلیل پاساژهای مکرر باکتری‌های جدا شده (به منظور خالص سازی و شناسایی) و برای تجدید احتمالی حدت آنها، ابتدا یک میلی لیتر از سوسپانسیون حاصل به هریک از ۳ جوجه SPF دو ماهه از طریق داخل نای تلقیح گردید. باکتری جدا شده از قلب یکی از جوجه‌ها که پس از تلقیح مبتلا به پنومونی و پریکار دیت شده بود، برای تلقیح انتخاب گردید. سوسپانسیون باکتری انتخاب شده CFU $10^8 \times 1$ در هر میلی لیتر بود. ۲۰ قطعه جوجه SPF دو ماهه بطور تصادفی در دو گروه مساوی آزمایش و شاهد تقسیم شدند. هر یک از جوجه‌های گروه آزمایش با یک میلی لیتر سوسپانسیون آماده شده از کشت خالص ORT از طریق نای آلوده شدند و هر یک از جوجه‌های شاهد با یک میلی لیتر از محلول نمکی نرمال از راه نای تلقیح گردیدند. جوجه‌های هر دو گروه به مدت ۲ هفته در قفسهای جداگانه و با شرایط یکسان نگهداری شدند.

عفونت تجربی ORT از طریق داخل سینوس

آماده سازی باکتری و غلظت سوسپانسیون حاصل از کشت خالص باکتری ORT مشابه تجربه اول بود ولی حجم باکتری تزریقی ۰/۴ میلی لیتر و محل تزریق سینوس زیرچشمی یکطرف صورت در نظر گرفته شد. ۲۰ قطعه جوجه SPF دو ماهه بطور تصادفی در دو گروه مساوی آزمایش و شاهد تقسیم شدند. هر یک از جوجه‌های گروه آزمایش از راه تزریق ۰/۴ میلی لیتر کشت خالص ORT معادل CFU $10^8 \times 4$ در سینوس زیر چشمی یکطرف آلوده گردیدند و به هریک از جوجه‌های گروه شاهد ۰/۴ میلی لیتر از محلول نمکی نرمال تزریق شد. جوجه‌های هر دو گروه به مدت ۲ هفته در قفسهای جداگانه و در شرایط یکسان نگهداری شدند.

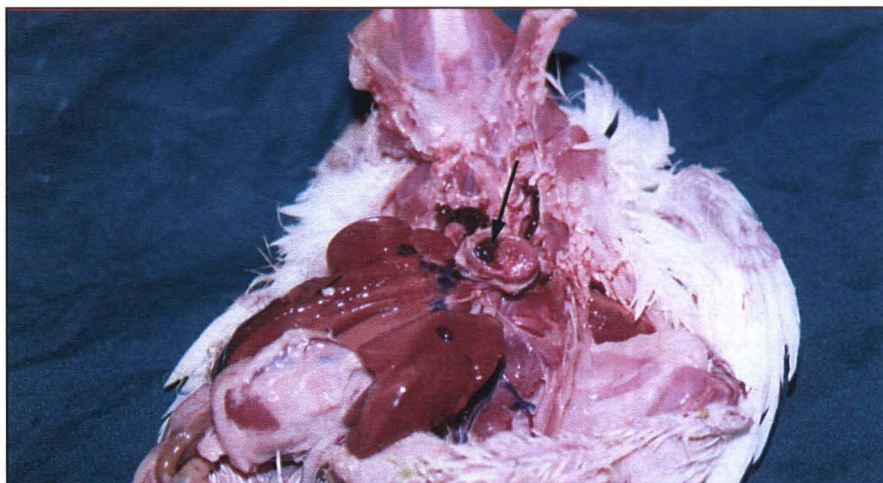
آزمایشات پس از عفونت‌های تجربی

پس از آلوده سازی جوجه‌های SPF از موارد تلف شده و بیمار کالبد گشایی به عمل آمد و علائم و جراحات ایجاد شده معاینه گردید. مطابق با روشهای استاندارد نسبت به جداسازی باکتری، مایکوپلاسما و ویروس اقدام شد و بافتهای درگیر برای بررسی هیستوپاتولوژی مورد آزمایش قرار گرفت. سرم جوجه‌های آلوده شده ۱۰ روز پس از عفونت از نظر پادتن علیه باکتری ORT با روش آگلوتیناسیون سریع روی لام و پادتن علیه ویروسهای آنفلوآنزای طیور و نیوکاسل با آزمون HI بررسی گردیدند.

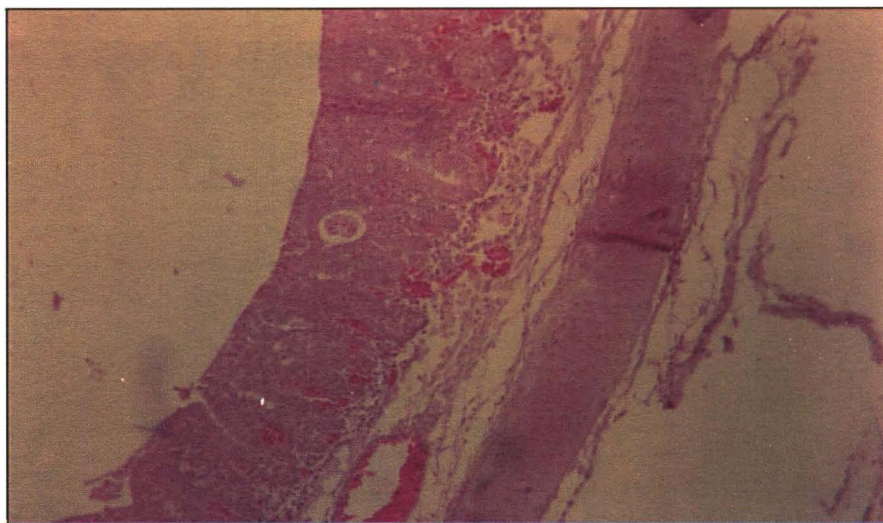
نتایج

جداسازی و شناسایی باکتری

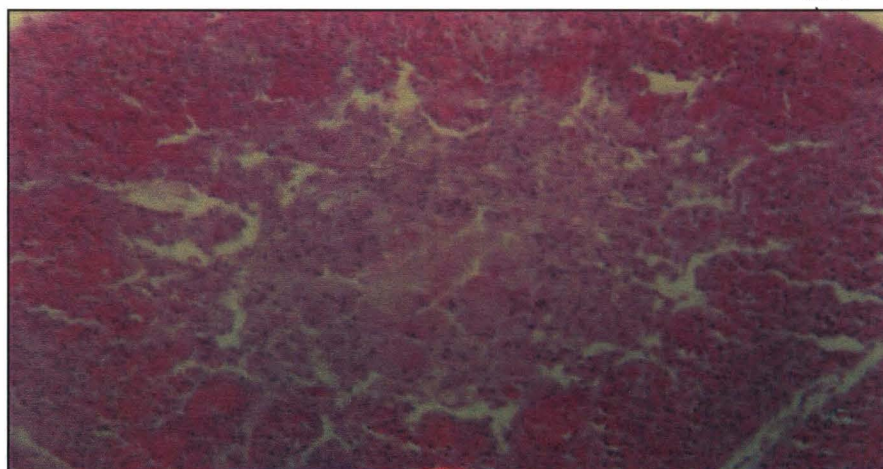
در نمونه‌های آلوده به باکتری ORT، پس از ۲۴ ساعت پرگنه‌هایی با قطر کمتر از یک میلی متر و پس از ۴۸ ساعت، به قطر ۱-۲ میلی متر بر روی ژلوز خوندار دیده شد. پرگنه‌ها خاکستری و گرد و فاقد رنگدانه و دارای بوی خاصی شبیه اسید بوتیریک بودند. باکتریهای جدا شده کاتالاز منفی و اکسیداز مثبت بودند و در رنگ آمیزی گرم، باکتریهای گرم منفی، فاقد اسپور و



تصویر ۷- اتساع و هیپر تروفی بطن راست که RVF را به دنبال دارد (پیکان) پس از برش عرضی بطن‌ها دیده می‌شود.



تصویر ۸- آلودگی طبیعی ORT در نای مرغ گوشتی. هیپرپلازی بافت پوششی، ادم و نفوذ سلولهای آماسی در ناحیه زیر مخاط مشخص می‌باشد (۱۰۰×).



تصویر ۹- پنومونی ناشی از ORT در طیور تجاری. اکسودای حاوی سلولهای آماسی و نکروز شده در فضای داخل پارابرونش و پرخونی و نفوذ هتروفیلها و سلولهای تک هسته‌ای در بافت ریه جلب توجه می‌نماید (۲۰۰×).

شدیداً پلئومورف با اشکال متنوع میله‌ای کوتاه و کلفت، دمبلی، کوکوباسیل، رشته‌ای و چماقی مشاهده شد (۱). عدم رشد باکتری در محیط‌های مک کانکی و سیمون سترات و عدم رشد یا رشد خیلی ضعیف در محیط TSI بدون تغییر در قسمتهای شیب‌دار و ایستاده آن، عدم تولید اندول و قابلیت رشد هوازی باکتری از دیگر خصوصیات ثابت باکتریهای ORT جدا شده بود، که با گزارشات قبلی منطبق می‌باشد (۱۹،۵،۴۱). در برخی موارد برای تشخیص تفریقی از سایر باکتریها، انواع تستهای قندی و تعدادی از تستهای آنزیمی نیز انجام شد که نتایج بدست آمده مشابه گزارشات قبلی بود (۱۹،۵،۴۱). براساس خصوصیات بیوشیمیایی، تشخیص باکتری ORT و تشخیص تفریقی آن از گونه‌های مختلف پاستورلا، ریمرا، یرسینیا، هموفیلوس، و همینطور از باکتریهای مختلف آنتر و باکتریا، پزودوموناس، فلاووباکتریوم، کپنوسایتوفاگا و سائتوفاگا انجام شد (۵،۳،۱). پس از شناسایی نهایی باکتری ORT با کمک خصوصیات بیوشیمیایی آن، برای تشخیص قطعی از آزمایش آگلوتیناسیون سریع روی لام و آنتی سرم استاندارد علیه ORT استفاده شد که در تمامی موارد تشخیص باکتری براساس خصوصیات بیوشیمیایی از طریق سرولوژیکی نیز مورد تأیید قرار گرفت.

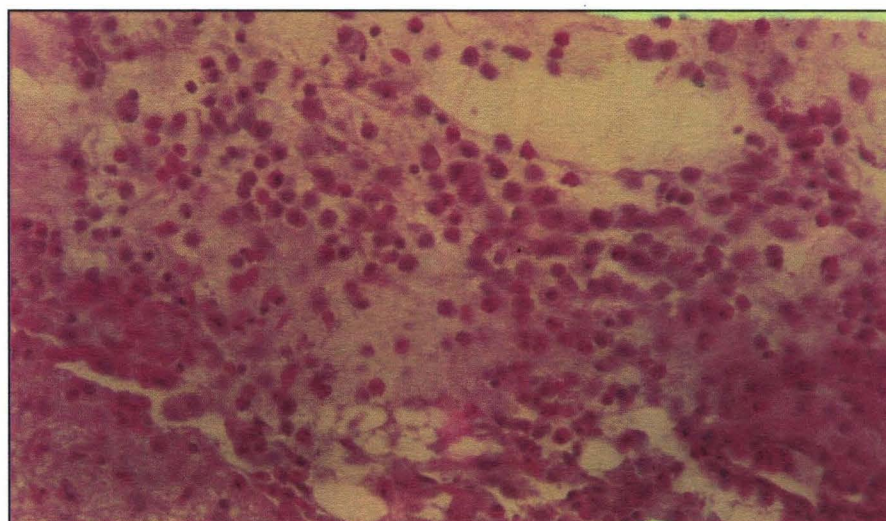
علائم بالینی، کالبدگشایی و هیستوپاتولوژی گله‌های آلوده به باکتری ORT

۹۶ گله از ۱۲۰ گله مورد بررسی (۸۰٪) اختلالات تنفسی را نشان دادند. علائم بالینی در این گله‌ها علاوه بر علائم غیر اختصاصی نظیر افسردگی، ژولیدگی پرها و کاهش مصرف دان شامل صداهای تنفسی، سرفه و عطسه، آبریزش بینی و کونژکتیویت و تورم سر و صورت بود. در کالبدگشایی لاشه‌ها، پریکاردیت، پری هیپاتیت، تورم کیسه‌های هوایی، تراکیت، پنومونی (تصاویر ۱ و ۲) و سینوزیت (تصویر ۳) دیده شد. ۲۴ گله از ۱۲۰ گله مورد بررسی (۲۰٪) فاقد اختلالات تنفسی بوده و علائم عصبی و یا گوارشی را نشان داده و یا مبتلا به آسیب، تومور، سندرم مرگ ناگهانی و یا عفونت کیسه زرده بودند.

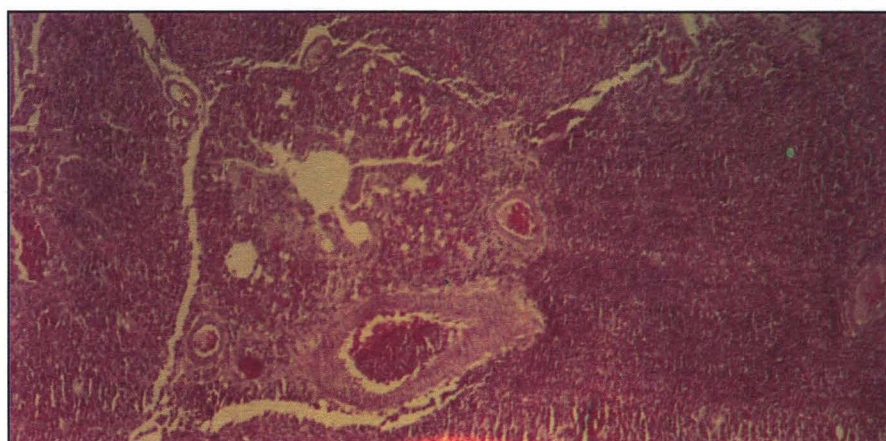
۵۷ گله از ۹۶ گله مبتلا به اختلالات تنفسی (۵۹/۴٪) آلوده به باکتری ORT بودند. از هیچکدام از گله‌هایی که فاقد علائم تنفسی بودند باکتری ORT جدا نشد و در واقع تمامی مرغداریه‌های آلوده به باکتری ORT اختلالات تنفسی را نشان می‌دادند (جدول شماره ۱). بیشترین علائم کالبدگشایی در گله‌های آلوده به ORT شامل تراکیت همراه با ترشحات چرکی - پنیری و حضور قالب (cast) چرکی در نزدیکی سیرینکس و بویژه در نایژه‌های اولیه خارج ریوی^۱ (تصویر ۴) حتی در نایژه‌های داخل ریه (تصویر ۵)، اتساع عروق خونی ریه، پنومونی یکطرفه یا دو طرفه (تصاویر ۱ و ۲)، سینوزیت و وجود ترشحات چرکی پنیری در سینوس زیر چشمی^۲ (تصویر ۳) بود در برخی موارد نیز باکتری از گله‌هایی که پریکاردیت و پری هیپاتیت نشان دادند، جدا گردید. نارسایی بطن راست^۳ (RVF) (تصاویر ۶ و ۷) و آسیب هم از علائم همراه یا متعاقب علائم تنفسی در گله‌های آلوده بود. در مواردی که باکتری ORT از نای طیور مبتلا به علائم پریکاردیت و پری هیپاتیت جدا گردید، به‌طور



تصویر ۱۰- جوجه مرغ و خروس SPF آلوده شده به باکتری ORT. ۳ روز پس از تلقیح داخل سینوس زیر چشمی. تورم سینوس، صورت و ریش کاملاً مشخص است.



تصویر ۱۱- تورم ریش و بافتهای نرم اطراف آن پس از عفونت تجربی ORT. ادم، پرخونی و نفوذ هتروفیلها و پلازما سلها در بافت همبند ریش مشاهده می‌گردد (۴۰۰×).



تصویر ۱۲- پنومونی در جوجه‌های SPF آلوده شده با ORT. پرخونی شدید و نفوذ گسترده سلولهای آماسی در پارانشیم ریه و نایژه‌ها مشخص است (۱۰۰×).

همزمان باکتری *E. coli* نیز از قلب و یا کبد جدا شد. ضایعات هیستوپاتولوژی در نای و ریه مؤید تراکیت و پنومونی بود. در نای هیپرپلازی بافت پوششی، پرخونی، ادم و نفوذ سلولهای آماسی (تصویر ۸) و در ریه پنومونی فیبرینی چرکی، پرخونی، نکروز و نفوذ هتروفیلها و سلولهای تک هسته‌ای جلب توجه می‌نمود. تجمع اکسودا در پارابرونشها از سایر علائم ریوی بود (تصویر ۹).

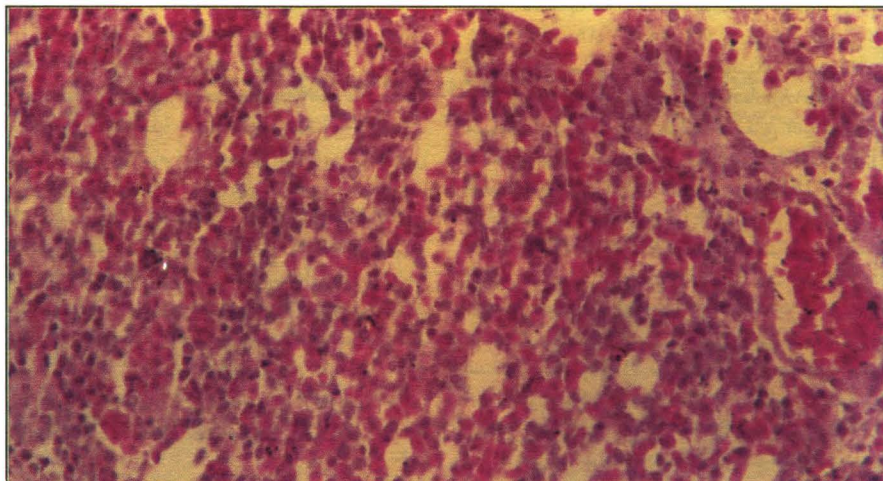
نژاد و سن گله‌های طیور آلوده به ORT

از مجموع ۱۲۰ مرغداری که از نظر حضور باکتری ORT بررسی شدند، ۵۷ مرغداری (۴۷/۵٪) آلوده بودند. تعداد گله‌های جوجه‌گوشی مورد بررسی ۹۸ گله بود که ۴۵ گله جوجه‌گوشی (۴۶/۵٪) آلودگی به ORT را نشان دادند. نمونه‌های ارسالی از ۱۱ گله مادر گوشی از نظر آلودگی به ORT بررسی شد که ۶ گله از آنها (۵۴/۵٪) آلوده بود. سه گله از ۷ گله مرغ تخمگذار تجارتي و ۲ گله از ۳ گله مرغ بومی رنگی نیز از نظر عفونت ORT مثبت بود (جدول ۱ و ۲).

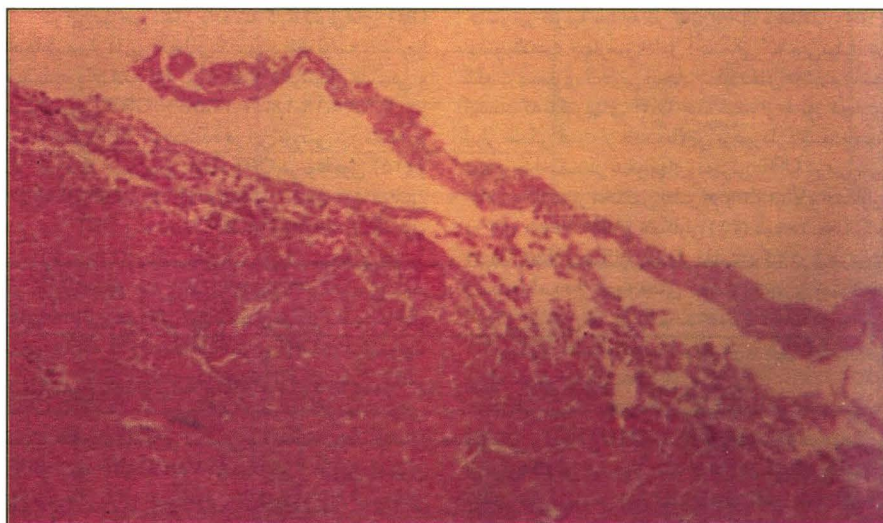
در بررسی حاضر در جوجه‌های گوشی در هفته سوم و چهارم مواردی از اورنیتوباکتریوز دیده شده است، ولی بیشترین موارد بیماری و تلفات گله‌های جوجه‌گوشی در هفته ششم زندگی اتفاق افتاده است. میزان آلودگی در ماه اول زندگی جوجه‌های گوشی مورد بررسی ۲۵/۸ درصد و در ماه دوم ۵۶ درصد بوده است. بیشترین میزان آلودگی در هفته‌های ششم و هفتم مشاهده گردید. در بررسی حاضر، از ۵ گله مادر گوشی در حال تولید تخم مرغ و در سنین ۳۰ - ۴۳ هفتگی باکتری ORT جدا گردید. در یک مورد هم باکتری از یک گله مادر گوشی در سال دوم تولید و ۱۵ هفته پس از تولد بردن گله جداسازی گردید. علائم مشاهده شده در این گله‌های مادر گوشی، کاهش اشتها، علائم تنفسی و تورم سر و صورت و افت تولید یا نرسیدن به اوج تولید بود. در یک مورد تورم مفصل و در یک مورد دیگر تغییر کیفیت پوسته تخم مرغ دیده شد. در این بررسی ۳ مورد جداسازی ORT از گله‌های طیور تخمگذار تجاری انجام شده است که فقط یک مورد آن از گله در حال تولید تخم مرغ بوده و دو مورد دیگر در سنین ۴۰ و ۵۶ روزه بوده است. دو مورد جداسازی باکتری از گله‌های طیور بومی رنگی در سنین ۲۰ و ۵۲ هفتگی صورت گرفت.

تلفات گله‌های مبتلا به اورنیتوباکتریوز

میزان تلفات گله‌های آلوده به ORT در این بررسی از تلفات عادی تا مرگ و میر بیش از ۶۰ درصد متغیر بود. از ۱۲۰ گله مورد بررسی در این تحقیق، ۴۲ گله در زمان نمونه برداری، تلفات روزانه مساوی یا بالای نیم درصد (تلفات شدید) داشتند که ۲۷ گله از آنها (۶۴/۳٪) آلودگی به ORT را نشان دادند. همچنین در این مطالعه ۲۳ گله تلفات روزانه مساوی یا بالاتر از یک درصد داشتند (تلفات خیلی شدید) که ۱۶ گله (۷۰٪) از آنها آلوده به باکتری ORT بودند (جدول شماره ۲). جالب توجه اینکه از ۷ گله‌ای که تلفات خیلی شدید را بدون آلودگی با ORT نشان می‌دادند، ۳ مورد فاقد علائم تنفسی بوده و عوامل عفونی یا غیر عفونی دیگری غیر از پاتوژنهای تنفسی موجب تلفات شده بود. یک مورد عوامل مدیریتی، کلی باسیلوز و آسیت در بروز تلفات



تصویر ۱۳- پنومونی پس از عفونت تجربی ORT. پرخونی و نفوذ سلولهای آماسی در بافت ریه دیده می‌شود (۲۰۰x).



تصویر ۱۴- قلب جوجه SPF تلف شده متعاقب عفونت تجربی با ORT. ادم و پرخونی و اکسودای فیبرینی در ناحیه پریکارد (پریکاردیت) مشاهده می‌گردد. از این نمونه قلب باکتری ORT بطور خالص جدا گردیده بود (۱۰۰x).



تصویر ۱۵- کبد جوجه SPF تلف شده متعاقب عفونت تجربی ORT. دژنراسانس و نکروز انعقادی در بافت کبد دیده می‌شود. از این نمونه کبد باکتری ORT بطور خالص جدا شده بود. محل نکروز با ستاره مشخص شده است (۲۰۰x).

نقش اصلی را بعهده داشت در یک مورد هم جداسازی همزمان ویروسهای ND^۴ و AI^۵ احتمالاً بیانگر علل تلفات بوده است و در دو مورد باقیمانده، در گله‌های مورد بررسی از آنتی بیوتیک‌های موثر علیه ORT (۱۶،۵،۴،۱) استفاده کرده بودند. در واقع از ۲۰ گله‌ای که همزمان تلفات خیلی شدید و اختلالات تنفسی را نشان دادند، ۱۶ گله (۸۰٪) آلوده به باکتری ORT بودند. از ۱۶ گله‌ای که آلوده به ORT بوده و تلفات خیلی شدید داشتند، ۱۴ گله جوجه‌گوشی، یک گله مرغ بومی رنگی و یک گله پولد تخمگذار ۵۶ روزه بودند (جدول شماره ۲). بیشترین تلفات روزانه در مرغهای مادر گوشتی مبتلا به اورنیتوباکتریوز در یک گله مادر گوشتی ۳۰ هفته و به میزان ۶/۰ درصد بود. بیشترین موارد تلفات بالا در جوجه‌های گوشتی مبتلا به اورنیتوباکتریوز در سنین ۲۹ الی ۴۹ روزگی (۷۹/۱٪) و بویژه در هفته ششم مشاهده شد.

عفونت تجربی از طریق داخل نای

در گروه آزمایش از ۲ روز پس از تلقیح باکتری، افسردگی، کم اشتها و صداهای تنفسی در ۷ قطعه جوجه آلوده شده مشاهده گردید که ۴ مورد از آنها بیماری شدیدتری را نشان داده و یک قطعه از موارد بیماری شدید، ۶ روز پس از تلقیح تلف گردید. در کالبد گشایی جوجه تلف شده پریکاردیت، تورم کیسه‌های هوایی، کبدی شدن ریه در قسمتی از ریه‌های راست و چپ و مرز بین نواحی آسیب دیده و سالم کاملاً مشخص بود.

سه مورد دیگری که علائم تنفسی شدیدتری داشتند در روز هفتم پس از عفونت کشته شدند و علائم کالبد گشایی تقریباً مشابه مورد تلف شده بود و در یک مورد RVF خفیف هم مشاهده گردید. سایر جوجه‌های بیمار در اواخر هفته دوم بهبودی قابل توجهی را نشان دادند. جوجه‌های گروه شاهد هرگونه علائمی نبودند.

عفونت تجربی از راه داخل سینوس

هشت جوجه از گروه آزمایش علائم سینوزیت یکطرفه بارزی را در ۴۸ ساعت پس از تلقیح نشان دادند. علاوه بر سینوزیت، تورم ریش‌ها و صورت کاملاً مشهود گردید (تصویر ۱) و بتدریج تا پایان هفته دوم بهبودی نسبی در تمامی جوجه‌های گروه آزمایش دیده شد. ۲ مورد از جوجه‌هایی که سینوزیت و تورم ریش را شدیدتر از سایرین نشان دادند در روز هفتم پس از عفونت کشته شدند. علائم کالبد گشایی بررسی شد و از بافت‌های ریش و سینوس زیر چشمی کشت باکتریایی به عمل آمد و نمونه‌های سینوس و ریش آلوده و متورم جهت بررسی هیستوپاتولوژی در بافر فرمالین ۱۰ درصد قرار داده شد.

نتایج آزمایشات پس از عفونت‌های تجربی

در بررسی باکتریولوژی از تمامی نمونه‌های کالبد گشایی شده باکتری ORT از اندام‌های درگیر جدا گردید. در اغلب موارد باکتری جدا شده کاملاً خالص بود و در تعدادی از نمونه‌ها نیز باکتری *E. coli* همزمان از نای و سینوس جدا گردید. کشت بافت‌های تنفسی درگیر از نظر میکوپلاسما منفی بود. در کشت ویروسی نمونه‌های درگیر در تخم مرغهای SPF جنین‌دار و حتی پس از چند پاساژ، ویروسی جدا نشد و در آزمایشات سرولوژی

پادتن علیه باکتری ORT با روش آگلوتیناسیون سریع روی لام در تمامی جوجه‌های آلوده شده، قابل شناسایی بود و در آزمایش HI عیار پادتن علیه ویروس‌های نیوکاسل و آنفلوانزای طیور تحت تیپ H9N2 در تمامی جوجه‌های آلوده شده مشاهده نگردید. نتایج آزمایشات هیستوپاتولوژی، تورم ریش، سینوزیت، تورم کیسه‌های هوایی، پریکاردیت، نکروز کبدی و پنومونی را تأیید نمود. در نمونه‌های تورم ریش و بافت‌های نرم اطراف آن، ادم، تورم اندوتلیال عروق، نفوذ هتروفیلها به‌طور غالب و همینطور سلول‌های آماسی تک هسته‌ای جلب توجه نمود (تصویر ۱) و در موارد پنومونی تکثیر و نفوذ شدید سلول‌های تک آماسی همراه با پرخونی از علائم برجسته بود (تصاویر ۱۲ و ۱۳). جالب توجه آنکه در مورد پریکاردیت (تصویر ۱۴) و نکروز و خونریزی کبدی (تصویر ۱۵) باکتری ORT بطور خالص از قلب و کبد جدا گردید.

بحث

در این بررسی نشان داده شد که باکتری‌های ORT جدا شده از طیور تجاری کشور بطور اولیه بیماری‌زا هستند و علائم گزارش شده از عفونت‌های طبیعی و تجربی ORT (۲، ۱۳، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱) در جوجه‌های SPF آلوده شده در این بررسی نیز مشاهده گردید. قبلاً بیماری‌زایی اولیه ORT در بوقلمون (۱۵) و جوجه‌های گوشتی (۲۱) به اثبات رسیده بود. در این بررسی ORT به تنهایی قادر به ایجاد پنومونی، پریکاردیت، تراکیت، سینوزیت و تورم کیسه‌های هوایی در جوجه‌های عاری از پاتوژن‌های اختصاصی بود. Sprenger و همکاران توانستند از طریق تلقیح داخل نایی $10^5 \times 2$ CFU باکتری ORT در بوقلمونها، پنومونی و تلفات ایجاد نمایند (۱۵). در بررسی حاضر $10^5 \times 1$ CFU باکتری ORT از طریق نای به تنهایی قادر به ایجاد بیماری تنفسی و تلفات در جوجه‌های SPF بود. Van Veen و همکاران از طریق اسپری باکتری قادر به ایجاد پنومونی، تراکیت و تورم کیسه‌های هوایی در جوجه‌های گوشتی SPF و تجاری بودند. اسپری باکتری بر روی جوجه‌های لگه‌ورن SPF فقط تورم کیسه‌های هوایی ایجاد کرد (۲۱). شاید علت اینکه در بررسی حاضر علاوه بر تورم کیسه‌های هوایی، پنومونی و تراکیت هم در جوجه‌های لگه‌ورن SPF دیده شده این است که راه آلوده سازی در این بررسی داخل نای بوده است و احتمال حدت بیشتر سوبه‌های به کار رفته در این بررسی هم وجود دارد. Van Veen و همکاران بر خلاف نظر محققین قبلی (۵، ۱۸، ۱۹، ۲۰) تفاوت حدت باکتری‌های ORT جدا شده را مشاهده نمودند (۲۱). آنها همچنین حساسیت بیشتر نژادهای گوشتی را در مقایسه با نژادهای تخمگذار (لگه‌ورن) اعلام نمودند (۲۱).

تلفات و بیماری شدیدتر ناشی از عفونت ORT در طیور تجاری در مقایسه با عفونت تجربی در جوجه‌های SPF در مطالعه حاضر می‌تواند به دلیل اختلاف نژادی طیور و سایر فاکتورهای متعدد موجود در مرغدارها باشد. بطور کلی نباید نقش سایر پاتوژن‌های موجود در صنعت طیور را در ایجاد عوارض و علائم مشاهده شده در اورنیتوباکتریوز طبیعی نادیده گرفت تمامی محققین به اثر تشدید کننده سایر عوامل

پاتوژن همراه با ORT اذعان دارند (۲، ۴، ۵، ۱۱، ۱۳، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲). برخی از محققین در ایجاد علائم بیماری و تلفات در عفونت‌های تجربی ناشی از باکتری ORT به تنهایی ناموفق بوده‌اند (۱۸، ۱۹، ۲۰). موفقیت این بررسی مانند تحقیق Sprenger و همکاران در مورد بوقلمون (۱۵) می‌تواند به دلایل احتمالی زیر باشد؛ اول اینکه جوجه‌های بکار رفته در بررسی حاضر SPF بوده و قبل از شروع کار، عدم آلودگی آنها به ORT از طریق باکتریولوژی و سرولوژی (تست آگلوتیناسیون سریع روی لام) به اثبات رسیده بود. دومین دلیل راه آلوده سازی است که در بررسی‌های ناموفق از روش‌های اسپری یا تلقیح داخل کیسه‌های استفاده شده بود (۱۸). سومین دلیل احتمالی، روش آماده سازی باکتری برای تلقیح می‌باشد. در بررسی حاضر مانند بررسی Sprenger و همکاران (۱۵) از محیط‌های جامد و تعداد پاساژهای کم استفاده شد و علاوه بر آن تازه نمودن حدت باکتری نیز با پاساژ در جوجه عملی شد. دوز باکتری به کار رفته در بررسی حاضر نیز تقریباً مشابه کار Sprenger و همکاران (۱۵) بود و بالاخره چهارمین دلیل احتمالی که می‌تواند در شدت بیماری تجربی ایجاد شده نقش داشته باشد اینست که باکتری‌های ORT جدا شده از طیور تجاری ایران ممکن است از حدت بالایی برخوردار باشند. بهبود سریع جراحات در عفونت‌های تجربی ORT در بررسی حاضر و کار سایر محققین نظیر Van Empel و همکاران (۲۱) و Van Veen و همکاران (۲۱) دیده شده است. Van Veen و همکاران اظهار داشتند که در تجربیات بدست آمده از جوجه‌های گوشتی تجاری مبتلا به آلودگی طبیعی نیز علیرغم مشاهده ضایعات در سنین ۲۵ روزگی، علائم اورنیتوباکتریوز در سنین ۴۲ روزگی مشاهده نگردیده است (۲۱).

نتایج بیشتر مطالعات انجام شده در مورد عفونت‌های طبیعی و تجربی ORT نشان می‌دهد که در بیماری اورنیتوباکتریوز معمولاً یک عامل بیماری‌زای دستگاه تنفس نظیر ویروس برونشیت عفونی نقش عامل اولیه و مستعد کننده را دارد و جایگاه ORT در بیماری‌های تنفسی طیور مشابه *E. coli* بوده و بیشتر نقش عامل ثانویه و پیچیده کننده را دارد (۲، ۱۷، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱). از طرف دیگر حضور عوامل بیماری‌زای متعدد در طیور تجاری کشور حاکی از آنست که آلودگی با ORT در آنها مشابه سایر مرغدارهای دنیا بیشتر بصورت ثانویه است. در این زمینه تحقیقات بیشتر و بررسی آلودگی‌های همزمان با سایر عوامل بیماری‌زا و از جمله ویروس آنفلوانزای طیور ضروری به نظر می‌رسد. با وجود این، براساس نتایج مطالعه حاضر و دو بررسی قبلی (۱۵، ۲۱)، احتمال اینکه در مواردی نیز عفونت ORT در طیور تجاری به‌صورت اولیه بروز نماید، وجود دارد. بدیهی است در موارد عدم همراهی سایر پاتوژن‌ها، تلفات و خسارات بیماری اورنیتوباکتریوز کمتر است. احتمالاً یکی از دلایل تلفات متغیر مشاهده شده در مطالعه حاضر نیز اینست که نقش عوامل همراه با ORT، در شدت بیماری و تلفات ایجاد شده تعیین کننده است.

این بررسی بیانگر شیوع بالای اورنیتوباکتریوز در مرغداریهایی است که نمونه‌هایشان به موسسه رازی ارسال شده بود و نقش مهم این عفونت نوظهور را در ایجاد علائم و اختلالات تنفسی و تلفات نشان می‌دهد. از

جدول شماره ۱ - توزیع فراوانی گله‌های طیور آلوده و غیر آلوده به ORT بر حسب نژاد و علائم تنفسی در نمونه‌های طیور بررسی شده ارجاعی به موسسه رازی

علائم تنفسی در گله‌های آلوده و غیر آلوده به ORT		گله‌های طیور واجد اختلالات تنفسی		گله‌های طیور فاقد اختلالات تنفسی		نژاد
		جدا سازی ORT	عدم جدا سازی ORT	جدا سازی ORT	عدم جدا سازی ORT	
گوشتی		۷۹	۲۰	۹۹	۵۳	تخمگذار
		۴۶	۲۰	۴۶	۵۳	
تخمگذار		۵	۲	۷	۴	مادر گوشتی
		۳	۰	۳	۴	
مادر گوشتی		۹	۲	۱۱	۵	بومی
		۶	۰	۶	۲	
بومی		۳	۰	۳	۱	مجموع
		۲	۰	۲	۱	
مجموع		۹۶	۲۴	۱۲۰	۶۳	
		۵۷	۲۴	۵۷	۶۳	

جدول شماره ۲ - توزیع فراوانی گله‌های طیور آلوده و غیر آلوده به ORT بر حسب نژاد و تلفات در نمونه‌های طیور بررسی شده ارجاعی به موسسه رازی

وضعیت تلفات در گله‌های آلوده و غیر آلوده به ORT		گله‌های طیور واجد تلفات خیلی شدید		گله‌های طیور فاقد تلفات خیلی شدید		نژاد
		جدا سازی ORT	عدم جدا سازی ORT	جدا سازی ORT	عدم جدا سازی ORT	
گوشتی		۲۱	۷۸	۹۹	۵۳	تخمگذار
		۱۴	۳۲	۴۶	۴۶	
تخمگذار		۱	۶	۷	۴	مادر گوشتی
		۱	۲	۳	۴	
مادر گوشتی		۰	۱۱	۱۱	۵	بومی
		۰	۶	۶	۵	
بومی		۱	۲	۳	۱	مجموع
		۱	۱	۲	۱	
مجموع		۲۳	۹۷	۱۲۰	۶۳	
		۱۶	۴۱	۵۷	۵۶	

* منظور از تلفات خیلی شدید در این بررسی، تلفات روزانه مساوی یا بالاتر از ۱٪ گله در هنگام مراجعه بوده است

۱۲۰ گله مورد بررسی ۵۷٪ گله (۴۷/۵٪) به باکتری ORT آلوده بودند. نمونه‌های مثبت در این بررسی به‌طور عمده از استانه‌های تهران و قزوین بودند و موارد مثبتی از استانه‌های قم، مازندران و اصفهان نیز مشاهده گردید. با توجه به اینکه تعداد زیادی از مزارع مرغ مادر کشور در این مناطق متمرکز هستند و انتقال این بیماری از طریق عمودی نیز مطرح است (۲، ۱۹)، می‌توان گستردگی آلودگی در سایر نقاط کشور را نیز محتمل دانست. بنابه دلایل زیر آلودگی در گله‌های مورد بررسی باید بیش از میزان بدست آمده باشد، اولاً مصرف بالای آنتی بیوتیک‌های مختلف در مرغداری‌های کشور و از جمله در گله‌های مورد بررسی می‌تواند مانع جداسازی باکتری از گله‌های آلوده شود؛ ثانياً در این مطالعه جهت جداسازی باکتری از جنتامایسین در محیط کشت باکتری استفاده شد و حدود ۵ درصد از باکتری‌های ORT به این آنتی بیوتیک حساس می‌باشند (۴)؛ ثالثاً اقدام به جداسازی از هر گله بطور عمده فقط در یک زمان انجام می‌گرفت و در نتیجه شانس جداسازی باکتری کاهش می‌یافت. در یک مورد که در دو نوبت اقدام به جداسازی گردید، باکتری در نوبت اول جدا نشد ولی با فاصله چند روز بعد آلودگی گله مشخص شد.

باکتری ORT ابتدا از طیور مبتلا به علائم تنفسی در آلمان جدا شده است و سپس از کشورهای هلند، انگلستان، مجارستان، ایتالیا، فرانسه، بلژیک، ایرلند، اتریش، اسلوانی، آمریکا، کانادا، فلسطین اشغالی، آفریقای جنوبی، پرو و ایران و به‌طور عمده از ماکیان و بوقلمون و همیپتور از سایر پرندگان نظیر کبک، بلدرچین، قرقاول، مرغ شاخدار، کبوتر، کلاغ، اردک، غاز و شترمرغ جدا گردیده است. (۱، ۴، ۲۰، ۵، ۶، ۸، ۹، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۷، ۱۹، ۲۱، ۲۲). عفونت نوظهور ناشی از ORT در جوجه‌های گوشتی هلند، آفریقای جنوبی و پرو (۹، ۱۷، ۱۹، ۲۱) کاملاً شایع بوده و خسارات سنگینی به صنعت طیور آن کشورها تحمیل نموده است. Hafez و Sting در یک بررسی آلودگی سرولوژیکی گله‌های مادر گوشتی و جوجه‌های گوشتی را به ترتیب ۷۹٪ و ۲۶٪ اعلام نمودند (۷). در مطالعه دیگر Ryll و همکاران پادتن علیه باکتری ORT را در ۹۶/۶٪ از گله‌های بوقلمون گوشتی نشان دادند (۱۴). در مورد منبع عفونت ORT و راه‌های انتقال آن هنوز اطلاعات کاملی وجود ندارد (۲) ولی شیوع جهانی آلودگی در مدت کوتاه نظر محققین را به‌خود جلب کرده است.

Hafez و Van Empel علت شیوع سریع و گسترده ORT در طیور تجاری را امکان انتقال عمودی باکتری علاوه بر انتقال افقی آن اعلام کرده‌اند. آنها انتقال عمودی باکتری را هم از راه تخمدان و هم از راه آلودگی کلوای مرغ مادر محتمل می‌دانند (۱۹). امکان انتقال افقی از راه هوا نیز وجود دارد (۱۹، ۲۰). شیوع بالای آلودگی در جوجه‌های گوشتی ارسال به موسسه رازی و جداسازی باکتری از چندین گله مرغ در حال تولید تخم مرغ جوجه کشی در این بررسی، می‌تواند مؤید گستردگی آلودگی در مرغداری‌های کشور باشد. از ۱۲۰ گله مورد بررسی، ۹۶ گله علائم تنفسی را نشان می‌دادند، از گله‌های طیور دارای اختلالات تنفسی ۵۷٪ گله (۵۹/۴٪) آلوده به باکتری ORT بودند و از گله‌های فاقد علائم تنفسی، باکتری ORT جدا نشد و به عبارت دیگر تمامی گله‌های طیور آلوده به ORT، اختلالات تنفسی را بروز

می‌دادند. از بین عوامل بیماری‌زایی که طیور صنعتی را مبتلا می‌کنند، عفونت‌های تنفسی جدی‌ترین آنها هستند که خسارات شدید اقتصادی را از طریق افزایش تلفات، هزینه دارویی، حذف کشتارگاهی و کاهش وزن و تولید تخم مرغ به صنعت طیور تحمیل می‌نمایند (۱۹). باکتری نوظهور ORT بصورت اولیه یا ثانویه قادر به ایجاد بیماری حاد و واگیردار تنفسی در ماکیان و بوقلمون می‌باشد (۲، ۵، ۱۹). بنابراین باکتری ORT باید به فهرست عوامل بیماری‌زای دستگاه تنفسی طیور تجاری کشور اضافه گردد.

میزان تلفات گله‌های آلوده به ORT در این بررسی از تلفات عادی تاملرگ و میر بالای ۶۰٪ متغیر بود و در گله‌هایی که همزمان اختلالات تنفسی و تلفات بالا را نشان دادند، بطور معنی داری باکتری ORT جدا شد. Van Empel و Hafez میزان تلفات ناشی از عفونت این باکتری را در جوجه‌های گوشتی ۱۰-۰ درصد و در مرغ مادر گوشتی ۳-۱۳ درصد اعلام نمودند (۱۹). Van Veen و همکاران با انجام یک تحقیق در هلند اعلام نمودند که تلفات و حذف کشتارگاهی ۵-۱۰ درصد و حتی تا ۹۰ درصد در جوجه‌های گوشتی مبتلا به اورنیتوباکتریوز غیر عادی نیست. آنها برای اولین بار باکتری ORT را در جوجه‌های گوشتی به‌عنوان عامل پاتوژن اولیه اعلام کردند (۲۱). قبل از آن نیز نقش ORT به‌عنوان عامل پاتوژن اولیه در بیماری تنفسی بوقلمون اثبات شده بود (۱۵). نقش ORT در تلفات و خسارات مشاهده شده در مطالعه حاضر غیر قابل انکار است. در مواردی که آلودگی با ORT ساده و غیر آمیخته با سایر عوامل بیماری‌زا باشد، میزان تلفات ناشی از ORT حداقل بوده و در حد گزارش شده آن یعنی صفر تا ۱۰ درصد است. ولی در مواردی که آلودگی با ORT همراه با سایر عوامل بیماری‌زا است، به دلیل اثرات متقابل و تشدید کننده عوامل بیماری‌زا، تاثیر ORT به مراتب افزایش می‌یابد. به‌طور کلی عوامل مختلفی در شدت بیماری و تلفات اورنیتوباکتریوز موثرند (۱۹، ۲۱)، به درستی نمی‌توان سهم هر عامل را در میزان تلفات مشاهده شده برآورد نمود و مطالعات گسترده‌ای در این زمینه ضروری بنظر می‌رسد. با توجه به مشاهدات این بررسی و کار سایر محققین میتوان نتیجه‌گیری نمود که لاکل بخش‌ی از اختلالات تنفسی و تلفات و حذف کشتارگاهی صنعت طیور کشور ناشی از عفونت ORT بوده است. Van Empel و Hafez اعلام کردند که شدت علائم بالینی و طول دوره بیماری و تلفات ناشی از عفونت ORT، خیلی متغیر است و به عوامل محیطی نظیر مدیریت، تهویه، تراکم، رطوبت و سایر عوامل عفونی بستگی دارد (۱۹). Van Veen و همکاران علاوه بر عوامل محیطی، حدت باکتری و حساسیت میزبان را هم در شدت بیماری و تلفات ناشی از ORT دخیل می‌دانند (۲۱).

Van Empel و Hafez سن وقوع اورنیتوباکتریوز را در جوجه‌های گوشتی، ۳ تا ۴ هفته‌ی اعلام نمودند (۱۹). طبق اظهار De Rosa و همکاران سن وقوع بیماری و تلفات ناشی از ORT در جوجه‌های گوشتی ۴ تا ۶ هفته‌ی بوده است (۶). در بررسی حاضر در جوجه‌های گوشتی در هفته سوم و چهارم مواردی از بیماری و تلفات دیده شده است ولی بیشترین موارد بیماری و تلفات در هفته ششم مشاهده شد. Van Empel و Hafez (۱۹) و Chin و Droual (۵) شایع‌ترین سن بروز بیماری را

گله‌های مادر گوشتی را ۲۴ تا ۵۲ هفته‌ی و بویژه در زمان اوج تولید تخم مرغ اعلام کردند. در بررسی حاضر نیز گله‌های مادر گوشتی آلوده به‌طور عمده در سن ۳-۴۳ هفته‌ی بودند. با توجه به نتایج این بررسی و همیپتور گزارش قبلی (۱) حضور این عفونت نوظهور در نژادهای مختلف ماکیان صنعتی و بومی کشور به اثبات می‌رسد.

در بررسی قبلی باکتری ORT از موارد پنومونی یکطرفه و سینوزیت جدا شد (۱). در بررسی حاضر علاوه بر علائم قبلی در موارد عیدیه‌ای باکتری از طیوری جدا شد که مبتلا به تراکئیت بوده و قالب چرکی در نزدیکی محل دو شاخه شدن نای (سیرنیکس) را نشان میدادند و حداقل می‌توان باکتری ORT را در ایجاد این علامت سهیم دانست. در چند مورد گله‌های طیور واجد چنین علامتی که آلوده به ORT بودند، در آزمایش سرولوژی سابقه آلودگی به ویروس آنفلوآنزای طیور را نیز نشان دادند. احتمالاً در بروز این علامت علاوه بر ORT ویروس آنفلوآنزای طیور تحت تیپ H9N2 نیز می‌تواند نقش داشته باشد. بنابراین در تشخیص تفریقی علامت فوق‌الذکر، علاوه بر ویروس برونشیت عفونی و قارچ اسپریلوس (۳، ۱۰، ۱۲، ۱۶) باید عفونت نوظهور ORT نیز مد نظر باشد. Abdul - Aziz تراکئیت و حضور مواد چرکی پیری در نای را از علائم کالیدگشائی موارد شدید اورنیتوباکتریوز ماکیان می‌داند (۲). پنومونی فیبریانی چرکی و وجود اکسودا در نای (۴، ۵، ۶، ۱۰، ۱۲، ۱۷، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲) و برونکوپنومونی (۸، ۶) از علائم شایع بیماری است. بنابراین کلینیسینهای طیور کشور باید به این نکته در تشخیص تفریقی بیماری‌های تنفسی توجه کافی داشته باشند، تا بدینوسیله از خسارت‌های احتمالی ناشی از تشخیص غلط جلوگیری گردد. از دیگر علائم کالیدگشایی قابل توجه در جوجه‌های گوشتی مبتلا به عفونت ORT در این بررسی، RVF و آسیت بود که اغلب متعاقب بیماری تنفسی گله دیده شد. عوامل متعددی نظیر تغذیه، ژنتیک، سموم و عوامل محیطی قادر به ایجاد آسیت در جوجه‌های گوشتی هستند. علاوه بر اینها به نظر می‌رسد که هر عامل عفونی که قادر به ایجاد پنومونی حاد فیبریانی گردد می‌تواند RVF و آسیت ایجاد نماید. اولین بیماری عفونی که ثابت شد می‌تواند یکی از علل آسیت باشد، اسپریلوزیس تنفسی است که برجسته‌ترین علامت آن پنومونی می‌باشد (۱۲). در کشور ژاپن مشخص شده است که وقوع آسیت در گله‌های مبتلا به بیماری‌های تنفسی بالاتر است و ثابت گردید که باکتری *E. coli* به همراه ویروس برونشیت عفونی قادر به ایجاد آسیت در جوجه‌های گوشتی می‌باشد (۱۶). با توجه به اینکه پنومونی یکطرفه یا دو طرفه فیبریانی چرکی از علائم برجسته اورنیتوباکتریوز است (۲، ۴، ۵، ۶، ۱۰، ۱۳، ۱۷، ۱۹، ۲۰، ۲۱) و حتی در کلی‌باسیلوز به تنهایی، کمتر پنومونی دیده می‌شود (۳، ۱۰) و با توجه به یافته‌های این بررسی، آسیت عفونی با منشاء غیر از اسپریلوزیس تنفسی هم باید مورد توجه کلینیسینهای طیور کشور باشد. تاکنون در خصوص تاثیر عفونت ORT در ایجاد آسیت گزارشی وجود ندارد و هدف مطالعه حاضر نیز اثبات این امر نیست و علیرغم مشاهده RVF در یک پرندۀ SPF آلوده شده با ORT، درستی احتمال تاثیر فوق‌نیز نیاز به کار تحقیقاتی دیگری دارد، زیرا بیشترین وقوع آسیت در جوجه‌های گوشتی است و

ventricular failure and ascites in meat type chickens. Avian pathol., 19: 643 - 654 .

13- Odor, E.M., Salem, M., Pope, C.R., Sample, B., Primm, M., Vance, K., and Murphy, M. 1997. Isolation and identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* from commercial broiler flocks on the Delmarva Peninsula. Avian Dis. 41: 257-260 .

14 - Ryll, M., Hinz, K.-H., Neumann, U., Lohren, U., Sudbeck, M., and Steinhagen, D., 1997. Pilot study on the prevalence of the *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection in meat type chickens in Northwest Germany, Berliner und Munchener Tierarztlichen Wochenschrift, 110 : 267 - 271 .

15- Sprenger, S.J., Back, A., Shaw, D.P., Nagaraja, K.V., Roepke, D.C., and Halvorsen, D.A., 1998. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in turkeys : experimental reproduction of the disease., Avian Dis., 42:154-161.

16- Tottori, J. Yamaguchi, R., Murakawa, Y., Sato, M., Uchida, K. and Tateyama, S., 1997. Experimental production of ascites in broiler chickens using infectious bronchitis virus and *Escherichia coli*. Avian Dis., 41:214-220 .

17- Travers, A.F., 1996 . Concomitant *Ornithobacterium rhinotracheale* and Newcastle disease infection in broilers in South Africa. Avian Dis., 40 : 488-490

18- Van Empel, P., Van Den Bosch, H., Goovaerts, D., and Storm, P., 1996. Experimental infection in turkeys and chickens with *Ornithobacterium rhinotracheale*. Avian Dis. 40 : 858-864.

19- van Empel, P.C.M. and Hafez, H.M. 1999. *Ornithobacterium rhinotracheale*: A review. Avian Pathol., 28: 217-227.

20- Van Empel, P., Vrijenhoek, M., Goovaerts, D., and Van den Bosch, H., 1999, Immunohistochemical and serological investigation of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection in chickens. Avian Pathol., 28: 187-193.

21- Van Veen, L., Van Empel, P., and Fabri, T., 2000. *Ornithobacterium rhinotracheale*, a Primary Pathogen in broilers. Avian Dis., 44: 896 - 900.

22- Zorman - Rojs, O., Zdovc, I., Bencina D., and Mrzel, I., 2000, Infection of turkeys with *Ornithobacterium rhinotracheale*, and *Mycoplasma synoviae*. Avian Dis., 44: 1017 -1022.

منابع مورد استفاده

۱- بنانی، منصور، خاکی، پژواک، گودرزی، حسین، وندیوسفی، جلیل، پوربخش، سیدعلی، ۱۳۷۹، جداسازی و شناسایی گوشتی و یک گله پالت تخمگذار، پژوهش و سازندگی، شماره ۴۶، از صفحه ۱۰۶ تا ۱۰۹ .

2- Abdul - Aziz. T.A. 1997. *Ornithobacterium rhinotracheale* developing into a serious infection , World Poultry Misset, 13(8) : 47-48 .

3- Calnek, B.W. Barnes, H.J., Beard, C.W., McDougald, L.R., and Saif, Y.M., 1997. Diseases of poultry , 10th ed, Ames, Iowa state university press. Pp:131-141.

4- Chin, R.P. & Charlton, B.R., 1998. Ornithobacteriosis. In : A laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. Swayne, D.E., et al., (eds). 4th ed, Pp:89-91 .

5- Chin, R.P & Droual, R. 1997. *Ornithobacterium rhinotracheale* infection. In : Diseases of poultry. Calnek, B.W., (ed). 10th ed. Ames, Iowa state university press, Pp: 1012 - 1015.

6- De Rosa, M., Droual, R., Chin, R.P., Shivaprasad, H.L., and Walker, R.L., 1996 . *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in turkey breeders. Avian Dis., 40: 865 - 874.

7. Hafez, H.M. and Sting, R., 1996. Serologic surveillance on *Ornithobacterium rhinotracheale*, in poultry flocks using self-made ELISA . In Proceedings of the 45th Western Poultry Disease Conference, Cancun, Pp:163 - 164 .

8- Hinz, K-H, Blome, C. and Ryll, M., 1994. Acute exudative pneumonia and airsacculitis associated with *Ornithobacterium rhinotracheale* in turkey . Vet. Rec. , 135 : 233- 234.

9. Hung . A.L. and Alvarado, A. 2000. Characterization and serotyping of *Ornithobacterium rhinotracheale* isolates associated with respiratory disease in domestic poultry in Peru. XXI World's Poultry Congress, Montreal , Canada.

10- Jordan, F.T.W., and Pattison, M., 1999. Poultry diseases, 4th ed. (reprinted), W B Saunders.

11- Joubert, P., Aiggins, R., Laperle, A., Mikaelian, I., Venne, D. and Silim, A. 1999. Isolation of *Ornithobacterium rhinotracheale* from turkey in Quebec, Canada. Avian Dis., 43:622-626 .

12- Julian, R.J., and Goryo, M., 1990. Pulmonary aspergillosis causing right

جوجه‌های SPF مطالعه حاضر از نژاد گوشتی نبودند. با این حال به دلایل زیر تاثیر عفونت ORT در ایجاد آسیت محتمل است ؛ اولاً پنومونی از علائم بارز اورنیتوباکتریوز است و سایر عواملی که در تشدید پنومونی موثرند و ممکن است ORT را همراهی کنند، در طیور تجاری کشور به وفور وجود دارند. ثانیاً در مطالعه حاضر علاوه بر مشاهده پنومونی در اغلب موارد عفونت ORT، در حدود ۳۰٪ از موارد اورنیتوباکتریوز در طیور تجاری که اتفاقاً با تلفات بالا و حضور برونکوپنومونی هم همراه بودند، RVF و آسیت به وضوح مشاهده گردید. ثالثاً در مبحث پاتوژن آسیت، پنومونی از جمله علل متعدد ایجاد کننده RVF و آسیت محسوب می‌شود (۱۰) و نقش پنومونی ایجاد شده در آسپرژیلوزیس و همینطور پنومونی ناشی از عفونت همزمان *E. coli* و ویروس برونشیت عفونی در ایجاد آسیت قبلاً به اثبات رسیده است (۱۲، ۱۶) و این در حالیست که در مقایسه با کلی باسیلوز که در اغلب موارد آن پنومونی دیده نمی‌شود، در اورنیتوباکتریوز پنومونی به مراتب بیشتر و شدیدتر است. با وجود اینکه در مطالعه حاضر نمی‌توان تمامی عوامل متنوع موثر در ایجاد RVF و آسیت را مشخص نمود ولی به نظر می‌رسد که پنومونی ایجاد شده بر اثر ORT باید به عنوان یکی از آن عوامل در نظر گرفته شود. بنابراین خسارات ناشی از اورنیتوباکتریوز فقط محدود به دوره بیماری نبوده و علاوه بر افت رشد، کاهش تولید تخم مرغ، افزایش تلفات و هزینه‌های دارویی، شامل عوارض و بیماری‌های ثانویه نظیر آسیت عفونی، کلی باسیلوز و حتی حذف کشتارگاهی هم می‌شود.

با توجه به نتایج این بررسی و اهمیت روز افزون این باکتری در مرغداریهایی سراسر دنیا و از جمله ایران، بررسی همه جانبه بیماری از جمله شناسایی مناطق و کانونهای آلوده کشور، شناسایی دقیق تر سویه‌های جدا شده و بررسی راهکارهای اصولی مبارزه علیه این عامل بیماری‌زای نوظهور طیور، ضروری بنظر می‌رسد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از زحمات آقایان حسین مدیر روستا و محمد محمد طاهری و خانمها هلالی و صلاحی کارشناسان آزمایشگاهی بخش تشخیص بیماریهای طیور موسسه رازی که صمیمانه ما را در این تحقیق یاری رساندند و همینطور از آقایان پروفسور Amer Silim، دکتر محمد علی بهمنی نژاد، دکتر سعید عطایی کچویی، دکتر حسین گودرزی، دکتر امیرحسین دیهیم، خانم آهنگران، خانم یزدانی و کلیه کارکنان بخش بیماریهای طیور که هر کدام به نحوی در ارائه این بررسی همکاری نموده‌اند تشکر می‌گردد.

این مطالعه با کمک طرح شماره ۰۲ - ۷۹۰۴۳۰۱۱۷۰۰۰ مصوب وزارت جهاد سازندگی انجام شده است.

پاورقی‌ها

- 1- Extra-pulmonary primary bronchus
- 2- Infra-orbital sinws
- 3- Right ventricular failure
- 4- Neweastle disease
- 5- Avian influenza