عامل کم خونی جوجه‌ها

دکتر مسعود مقدم پور - مؤسسه تحقیقاتی رازی، حصارک

مقدمه:

عامل بیماری کم خونی جوجه‌ها برای اولین بار در ژاپن بوسیله Yuasa و همکارانش در سال ۱۹۷۹ از واکسنهای آلوده جدا شد و اهمیت واقعی آن ۴ سال بعد به وسیله خود ایشان روشن گردید. آنها نشان دادند که این ویروس در هیچیک از محیط‌های کشت سلولی مونولایر تکثیر پیدا نمی‌کند ولی در محیطهای کشت لمفوبلاستوئیدی مانند MDCC-MSB1 (MSB1) که از سلولهای لمفوبلاستی حاصل از ویروس بیماری مارک در طیور مبتلا تکثیر حاصل کرده و باعث آسیب‌های سلولی می‌شود. این کشف باعث شده تست خنثی کننده ویروس CAA به طور In vitro انجام پذیر شده و مطالعات ویروس شناسی در باره آن آسان‌تر شود و بعلاوه ویروس شناسان می‌توانند پادتن ضد ویروس را در سرم جوجه‌ها مورد شناسایی قرار دهند(۱).

درسال ۱۹۷۹ نام Chicken Anemia (CAA) Agent به عامل این بیماری داده شده. کلمه Anemia به علت حضور آنمی‌آپلاستیک بعد از تزریق آن به جوجه‌های SPF یک روزه بوده و Agent به علت عدم توانائی در یافتن ویروس بوسیله میکروسکوپ الکترونی و اسید نوکلئیک آن به نام آن افزوده شد. در سال ۱۹۸۹ به آن کم خونی عفونی طیور (AIA) و یا کم خونی جوجه‌ها (CIA) نام نهادند.

در سالهای ۱۹۸۷ و ۱۹۸۹ توسط محققین، اسید نوکلئیک ویروس مورد شناسایی قرار گرفت. در سال ۱۹۹۰ بخاطر بعضی از خصوصیات این ویروس، برخی آنرا جزء خانواده پارووویروس‌ها قلم داد کردند ولی در سال ۱۹۹۱ بعد از مطالعات دقیق‌تر بیان شد که باید آنرا در خانواده ویروسی جدیدی قرار داد و ضمناً نام آنرا از عامل کم خونی جوجه‌ها به نام ویروس کم خونی جوجه‌ها تغییر دادند (۱۲).

بسیاری از محققین در بیماریهای چند فاکتوری ویروس کم‌خونی جوجه‌ها را به عنوان عامل اصلی ذکر کرده‌اند از آن جمله است، آنمی‌آپلاستیک، سندرم هموراژی، گانگرن درماتیتی، سندرم درماتیت، آنمیا، سندرم هموراژیک، آپلاستیک آنمیا، درماتاتیتس آنمیا و بیماری بال آبی (۱۰).

لازم به ذکر است بخاطر اهمیت عامل این بیماری مرموز و دستیابی شما خواننده عزیز به مطالب جدیدتر در باره بیماری کم خونی عفونی طیور این مطالب گردآوری شده است. امید است این مطالب بتواند پایه‌ای برای فعالیت‌های عملی آینده باشد. در ضمن مطالب به طور خلاصه ارائه شده و از ذکر نکات ریز عملی چشم پوشی شده است.

اتیولوژی

الف - طبقه‌بندی و مرفولوژی

در مطالعات متعددی نشان داده شده است که عفونت‌زایی CAA در غلظتهای بین g/ml ۱/۳۵ تا ۱/۳۶ سزیم کلراید بروز می‌نماید CAA قطری حدود ۱۸ تا ۲۴ نانومتر دارد که از کوچکترین ویروسهای شناخته شده حیوانی DNAدار کوچکتر است (۱). در تحقیقاتی که بوسیله میکروسکوپ الکترونی انجام گرفته است مشخص شده که کپسید ذرات ویروسی شمای ایکوزاهدرال (۲۰ وجهی) داشته و دارای محور تقارن نوع ۳ و ۵ (و بدون انولوپ) می‌باشد (۹). ضمناً با اینکه آزمایشات سرولوژیک متعدد خصوصیات این ویروس رامشخص کرده بودند ولی اخیراً به وسیله دو روش مهندسی ژنتیک به نامهای Hybridization و Polymerase Chain Reaction توانسته‌اند ژنوم آنرا بیشتر شناسای نمایند. ژنوم ویروسی حدود ۲/۳kb حلقوی و تک رشته‌ای می‌باشد. با این دو روش اثبات شده است که این ویروس فقط دارای یک سروتایپ می‌باشد و CAA یک پاروویروس نمی‌باشد (۳ و ۹).

ب - تکثیر ویروس

احتمالاً ویریونها به روش جذب و نفوذ معمولی داخل سلول شده و در هسته تکثیر پیدا می‌کنند. به طوری که در تست ایمنوفلورسنت غیر مستقیم بیشترین میزان آنتی‌ژنهای ویروسی در این قسمت سلول قابل تشخیص می‌باشد. در جوجه‌ها، ویروس به طور اولیه در سلولهای فعال هماتوپویتیک مغز استخوان و در سلولهای فعال قشر تیموس تکثیر حاصل کرده و باعث تخریب آنها می‌شود (۱).

ج - میزبانهای آزمایشگاهی و کشت ویروس

۱- جوجه: جوجه‌های یک روزه تلقیح شده علائمی از قبیل کم خونی و جراحات مشخص در بافتهای لمفوئیدی و مغز استخوان را در ۱۲ تا ۱۶ روزگی نمایان می‌سازند. مرگ و میر آنها بین ۱۲ تا ۲۸ روز بعد از تلقیح اتفاق می‌افتد و درصد مرگ و میر کم است و به ندرت به ۳۰٪ می‌رسد. عفونت CAA به وسیله تلقیح زیر جلدی ویروس بیماری مارک یا مصرف‌بنامتازون‌افزایش می‌یابد(۱و۳و ۴).

۲- جنین ماکیان: تکثیر ویروس در جنین به دنبال تلقیح داخل کیسه زرده انجام گرفته و ویروس بعد از ۱۴ روز از همه قسمتهای جنین به استثناء زرده و غشاء کوریوآلانتوئیک بدست می‌آید (۱).

۳- کشت سلولی: ویروس مزبور فقط در بعضی از لاین‌های سلولی لمفوبلاستوئیدی که توسط ویروس بیماری مارک و لکوز لمفوماتوز تولید می‌شوند رشد می‌کند. معمولترین سلولهای مورد استفاده، MDCC- MSB1، MDCC- JP2 (که از دودمان T- Cellهای لمفومای طحال در بیماری مارک طیور می‌باشند) و سلولهای لمفوبلاستوئیدی LSCC-1104 B1 (که از B- Cellها می‌باشند) هستند (۱).

رشد ویروس باعث بروز اثرات سیتوپاتیک به شکل بزرگ شدن، تورم سلولی، تخریب سلولی و قلیایی شدن محیط می‌شود (۹).

د - مقاومت ویروس در برابر عوامل فیزیکو شیمیائی

این ویروس در برابر مواد شیمیائی و عوامل فیزیکی به طور قابل توجهی مقاوم است و استفاده از مواد شیمیائی موثر بر روی ویروس، عامل مهمی در حذف آن از محیط مرغداری می‌باشد. کارایی مواد شیمیائی و عوامل فیزیکی نسبت به وضعیت ویروس متفاوت خواهد بود. در یک مطالعه ویروس کشت داده شده درکشت سلول با ویروسی که ازکبد طیور مبتلا جدا شده بود مقایسه گردید. در این مطالعه نشان داده شد که ضد عفونی کننده‌های صابون کاتیونی، صابون آمفوتریک، ارتروی‌کلروبنزن، ضد عفونی کننده یدی و هیپوکلریت سدیم با غلظت ۵٪ نتوانستند ویروس را در مواد کبدی از بین ببرند. از طرفی مواد ضد عفونی کننده یُد دار و هیپوکلریت سدیم با غلظت ۱٪ ویروس حاصل از کشت سلولی را غیر فعال نمودند ولی بر روی ویروس موجود در مواد کبدی تأثیر نداشتند. بتاپروپیولاکتون ۰/۴٪ و گلوتارآلدئید ۱٪ ویروس مزبور را غیر فعال کردند. ویروس در مواد کبدی و کشت سلولی به فنل ۵٪ و Sodium azide ۰/۱٪ و تیومرسال ۰/۱٪ مقاوم بود (جداول شماره ۱ و ۲ و۳). در این آزمایش نشان داده شد که فرمالدئیدی که در مرغداری‌ها به طور روزمره برای ضد عفونی مصرف می‌شود در غلظت ۵٪ به مدت ۲۴ ساعت نمی‌تواند به طور کامل ویروس را غیر فعال کند (۱۴).

در یک مطالعه مشخص شده که ویروس در برابر مواد ضد عفونی کننده ارگانیک (آلی) مثل الکل اتیلیک و متیلیک و استن مقاوم می‌باشد (۱۴) ولی در فنل ۵۰٪ در ۵ دقیقه از بین می‌رود (۱). در باره تحمل دما گزارشهای مختلفی رسیده است. این ویروس حرارت ۶۰ سانتیگراد رابرای ۳۰ دقیقه (۱۲)، pH= ۳ را برای سه ساعت تحمل می‌کند (۹). ویروس جدا شده از مواد کبدی دمای ۵۶ تا ۷۰ سانتیگراد را برای یک ساعت (۹)، ۸۰ سانتیگراد را

برای ۳۰ دقیقه تحمل کرد ولی در کشت سلول از بین رفت (۱).

اپیدمیولوژی:

الف- شیوع و انتشار جهانی

مدارکی دال بر حضور این پاتوژن در گله‌ها قبل از کشف آن توسط Yuasa وجود دارد (۱۲).

بر اساس آزمایشات سرولوژیک و جداسازی ویروس این بیماری روشن شده است که عامل آن در گله‌های پرورشی تجاری و SPF دنیا انتشار دارد. تا به حال مکرراً این ویروس در کشورهای آمریکا، ژاپن، آلمان، سوئد، انگلستان، کانادا و استرالیا از گله‌ها جدا شده است (۱ و ۴).

ب- میزبانهای طبیعی

مدارکی وجود دارد که اثبات می‌کند جوجه به عنوان میزبان طبیعی ویروس CAA می‌باشد و احتمالاً CAA در جوجه‌های سراسر دنیا وجود دارد (۱ و ۲) و در پولت‌های بوقلمون یک روزه‌ای که از طریق داخل عضلانی با ویروس CAA تلقیح شده بودند علائم کلینیکی کم خونی و وجود پادتنهای ضد CAA مشاهده نشد (۹).

مطالعات سرولوژیک نشان داده‌اند که تیتر بالایی از پادتن‌های ضد CAA در پرندگان مسن گله‌های مادر تخمگذار و گوشتی وجود دارد علاوه بر این، بسیاری از گله‌های گوشتی که در کشتارگاه مورد آزمایش سرولوژیک قرار گرفته‌اند دارای میزان قابل توجهی از پادتن ضد CAA می‌باشند. پادتنهای ضد CAA همچنین در بسیاری از گله‌های جوجه SPF وجود دارد (۹).

ج- انتقال

تصور بر این است که ویروس بیماری کم خونی جوجه‌ها از طریق مادری یا عمودی (Vertical) و افقی (Horizental)، از طریق واکسنهای آلوده، حشرات ویا جایگاه انتقال می‌یابد (۹ و ۱۲).

مدارکی دال بر تائید انتقال مادری در عفونتهای طبیعی و تجربی ارائه شده است و با توجه به اینکه گفته می‌شود در شرایط طبیعی در اکثر گله‌های مادر پادتن ضد CAA وجود دارد (۱). نتیجتاً انتقال مادری از اهمیت کمی برخوردار است ولی در بعضی منابع انتقال عمودی را مهمترین راه اشاعه ویروس می‌دانند (۱). در مطالعه سرولوژیک در انگلستان گفته شده است که اکثر پرندگان زیر ۵ هفته توسط مدفوع جوجه‌هایی که از طریق مادر مبتلا شده بودند به ویروس مزبور آلوده شدند و از طرف دیگر این ویروس در بین جوجه‌های یک گله به آسانی منتشر می‌شود که هر دو اینها تأکیدی بر اهمیت انتشار افقی ویروس است (۱ و ۲). در مطالعه دیگری در استرالیا بیان شده که احتمالاً بیماری CAA از طریق روده و کبدهای آلوده به طیور گله‌های گوشتی مورد بررسی منتقل شده است. در همین تجربه، ویروس در مدفوع گله‌های سالم دیده شد (۴). در ضمن انتقال آلودگی از طریق دستگاه تنفس نیز نباید از نظر دور داشت (۹).

گفته می‌شود به علت این که CAA به صورت افقی قابل انتقال است و آلودگی بسیاری از گله‌های SPF نیز تائید شده است، نتیجتاً راه دیگر انتشار آلودگی می‌تواند از طریق واکسنهای آلوده باشد. در عین حال این راه انتقال توانسته است به عنوان یکی از عوامل انتشار جهانی این ویروس در چند سال قبل باشد ولی امروزه از اهمیت کمتری برخوردار است (۹). در بسیاری از گله‌ها، جوجه‌ها دارای پادتن‌های مادری ضد CAA می‌باشند. گفته شده است که اگر گله‌های مادر تا موقع تخمگذاری هیچگونه تماسی با ویروس مزبور نداشته باشند، در صورت آلوده شدن به آن، ویروس به طور عمودی وارد دودمان آنان خواهد شد که در این مورد علائم کلینیکی در گله‌های مادر دیده نمی‌شود (۲ و ۹) و هیچ تاثیری در تولید تخم مرغ، جوجه درآوری و میزان باروری حاصل نمی‌گردد و جوجه‌هایی که از تخم مرغ بیرون می‌آیند، ظاهری طبیعی دارند اما در ۱۰ تا ۱۴ روزگی مرگ و میر شروع شده و بیماری کلاسیک بروز می‌یابد (۱). تخم مرغ‌های گله‌های مادر در دوره‌ای بین ۶-۳ هفته بعد از آلودگی به ویروس آلوده‌اند. احتمالاً این فاصله زمانی برای انتشار ویروس در گله و تولید پادتن و سپس جلوگیری از انتقال عمودی ویروس لازم می‌باشد (۱ و ۹). البته گفته می‌شود که در عفونت تجربی انتقال عمودی از ۸-۱۴ روز بعد از آلودگی انجام می‌شود (۱). با افزایش سن، مقاومت جوجه‌ها در برابر ایجاد بیماری تجربی با CAA افزایش می‌یابد. این مقاومت تا سن ۲ هفتگی به طور بنیادی تکوین می‌یابد (۱ و ۲) اما پرندگان مسن‌تر نیز به عفونت حساس هستند. مقاومت سنی احتمالاً در اثر افزایش توانایی در ساخت پادتن هومورال بروز می‌کند (۹). در بسیاری از گزارشات، به انتشار بیماری CAA در گله‌های جوان در زمان اوج دوره تولید تخم‌مرغ اشاره شده است. این موضوع احتمالاً در اثر فعال شدن ویروس نهفته در اثر استرس ناشی از تولید یا تغییرات هورمونی می‌باشد (۹ و ۱۲). البته در مطالعه‌ای دیگر نیز مشخص شده است که در صد مرگ و میر جوجه‌های آلوده بیش از حد قابل تصور می‌باشد که احتمالاً در اثر انتقال عفونت به صورت افقی بوده و یا به دلیل حالت نهفته ویروس است (۹). البته تاکنون هیچ دلیل قاطعی دال بر حالت نهفتگی ویروس به دست نیامده است (۹). به هر حال اپیدمیولوژی CAA بسیار پیچیده است. پیدایش فرم کلینیکی بیماری به فاکتورهایی از قبیل سن پرنده، مقدار و راه ورود ویروس و حضور پادتن مادری بستگی دارد. موضوع مهم دیگر همراه شدن ویروس‌های مضعف ایمنی با CAA می‌باشد که در این هنگام حدت بیماری CAA افزایش یافته و سن مقاومت و آنتی‌بادی مادری از بین می‌رود. در ضمن گفته می‌شود که وقوع بیماری در پرندگان مسن نیز احتمالاً به همین دلیل است (۱ و ۹ و ۱۲).

ر- درصد مرگ و میر و میزان ابتلاء

همان طور که قبلاً ذکر شد پیشگوئی عفونت CAA تحت تاثیر فاکتورهای مختلفی است و حدت ویروس که جزء ویژگیهای ویروسی می‌باشد بر روی میزان ابتلاء و درصد مرگ و میر تاثیر بسزایی دارد چنان که گفته می‌شود سویه 5803 - TK که به وسیله Goryo کشف شده است در برابر سویه‌های جدا شده دیگر از حدت بیشتری برخوردار است. البته مقدار ویروس نیز می‌تواند بر شدت علائم موثر باشد.

مسائلی همچون ایجاد عفونت CAA همزمان با ویروس‌های مضعف ایمنی، مصرف مواد شیمیائی مضعف ایمنی مثل بتامتازون یا سیکلوسپورین A و بعضی از فاکتورهای محیطی که در کاهش ایمنی پرنده موثرند، می‌توانند در بیماریزایی ویروس، شدت علائم، میزان ابتلاء و درصد مرگ و میر به طور قابل توجهی موثر باشند (۱). به طور کلی میزان نهایی مرگ و میر متفاوت و معمولاً بین ۵ تا ۲۰٪ می‌باشد، اما بالاتر از ۶۰٪ هم گزارش شده است (۱ و ۹). ضمناً همه‌گیری بیماری بین ۲۰ تا ۶۰٪ متغیر است (۹).

سیستم ایمنی

الف- ایمنی فعال

در ارتباط با پاسخهای ایمنی مبتلایان به CAA اطلاعات کمی وجود دارد. گزارشات مختلف حاکی از آن است که ۲۱ روز پس از تلقیح داخل عضلانی ویروس به جوجه‌ای یک روزه،پادتنهای خنثی کننده قابل تشخیص می‌باشند و گفته می‌شود که تا هفته چهارم تیتر پادتن با کمی افزایش در سطح پائینی قرار دارد.

Yuasa گزارش کرده است که افزایش تولید پادتن همزمان با کاهش غلظت ویروس در بافت‌ها می‌باشد. در مطالعه‌ای بیان شد که پرندگان مسن‌تر سریعتر به عفونت تجربی جواب می‌دهند یعنی حدود ۷ روز بعد از تلقیح، پادتن SN قابل اندازه‌گیری است. گله‌های مادر ممکن است در اثر شیوع عفونت افقی، تیتری پیدا کنند که البته این بیماری به صورت عفونت تحت درمانگاهی بروز می‌کند (۱). تاکنون موردی در رابطه با ایمنی سلولی (CMI) در این بیماری شناخته نشده است (۱ و ۹).

ب- ایمنی غیر فعال

گزارش شده است که بسیاری از جوجه‌ها دارای پادتنهای مادری ضد CAA می‌باشند. دیده شده است که پادتن‌های مادری در برابر عفونت تجربی CAA، از جوجه‌ها محافظت کرده و همچنین شیوع بیماری CAA در جوجه‌هایی که گله‌های مادر آنها ایمن شده بودند. مشاهده نشده است. گفته می‌شود که پادتنهای مادری ضد CAA معمولاً در سن ۳ هفتگی محو شده ولی تا دو هفتگی بهترین محافظ می‌باشند (۱ و ۹).

ج- تضعیف ایمنی

در گزارشات متعدد بیان شده است که CAA به علت تاثیر بر روی بافت لمفوئیدی، مضعف ایمنی (Immuno suppressive) بوده و یا حداقل در جوجه‌های حساس در زمان حضور بیماری کلینیکی مضعف ایمنی می‌باشد. شیوع بسیار زیاد عفونتهای ثانویه باکتریایی، قارچی، ادنوویروسی و رئوویروسی در جوجه‌های مبتلا، دلیلی بر این فرض

تلقی می‌شود (۱ و ۲ و ۳). مطالعات حاکی از آن است که بروز عفونت CAA در حین واکسیناسیون بر علیه سیر بیماریهای طیور، باعث تضعیف پاسخ و یا از بین رفتن ایمنی واکسنی شده و حتی در یک مورد باعث بروز بیماری حاد، بعد از واکسیناسیون با ویروس تخفیف حدت یافته شده است.البته گفته شده است که حضور ویروس گامبورو پاتوژنز CAA را به شدت افزایش می‌دهد (۱۲ و ۹).

برای پی بردن به میزان تاثیر CAA بر ایمنی حاصل از واکسیناسیون بر علیه بیماریهای دیگر (گامبورو، رئوویروس، نیوکاسل، برونشیت عفونی) مطالعه‌ای انجام شده است، که در آن پادتنهای ضد بیماریهای مزبور در شرایط حضور و عدم حضور پادتن CAA مورد سنجش و ارزیابی قرار گرفته‌اند (جدول شماره ۴). با توجه به نتایج حاصله به جزء یک استثناء (که علت آن به وضوح توجیه نشده است) در همه موارد دیگر میزان پادتنها در هنگام حضور پادتن CAA و عدم وجود آن در مقایسه با یکدیگر تفاوت چندانی نداشتند. یعنی تضعیف ایمنی آنچنانکه در گزارشات بیماری طبیعی وجود دارد در این کار تجربی دیده نشد. البته احتمال دارد که CAA تلقیح شده، فقط قادر به تولید پادتن بوده و این مقدار نمی‌توانسته باعث تضعیف ایمنی شود و از طرفی سیستم ایمنی پرندگان در این تجربه مورد بررسی قرار نگرفته است (۵).

بیماریزایی

الف- قدرت بیماریزایی و بروز خواص آنتی ژنی

حدت ویروس CAA به فاکتورهای متعددی از جمله ، دز ویروس (۵)، طریقه آلودگی، عفونتهای توأمان مضعف ایمنی، سن، میزان پادتن مادری و یا حتی تعداد پاساژهای آنها بستگی دارد (۱۲). گفته می‌شود که بین قدرت عفونت‌زایی و قدرت ایمنی‌زایی CAA با حدت آن رابطه وجود دارد (۱). در یک مطالعه توانسته‌اند با دز کمتر از $TCID_{50}$ $10^{3/3}$ کم خونی را در جوجه‌ها ایجاد کنند ولی کم خونی پایدار در دز $TCID_{50}$ $10^{5/75}$ به دست آمد (۱۲). لازم به ذکر است که ویروس‌ها با هر حدتی از نظر بروز خواص آنتی‌ژنی با یکدیگر تفاوت ندارند (۱۲).

ب- بیماریزایی

سلولهای اجداد هماتوپویتیک در مغز استخوان و سلولهای اجداد تیموس در قشر تیموس بطور اولیه خیلی زود در ۸-۶ روز بعد از تلقیح CAA از بین می‌روند (۱). از طرفی احتمالاً لمفوسیت‌های کرتکس تیموس برای تولید سلولهای اریتروسیت در مغز استخوان لازم می باشند (۲). گفته می‌شود که این ویروس برای سلولهای پیش‌قراول خونساز مغز استخوان سیتوتوکسیک می‌باشد (۹). در مقایسه با تیموس، نابودی سلولهای لمفوئید و گاهی اوقات نکروز بورس، طحال، بافت‌های لمفوئیدی در بافت‌های دیگر حداقل ۱۲ روز بعد از تلقیح قابل تشخیص است (۱).

در عفونت تجربی علاوه بر بزرگ شدن پروواریتروسیتها و دژنراسیون سلولهای هماتوپویتیک، ماکروفاژها نیز در حال هضم دژنره هماتوپویتیک در مغز استخوان مشاهده شده‌اند (۱).

Yuasa و همکارانش در مطالعه‌ای نشان دادند که یک روز بعد از تلقیح داخل عضلانی CAA به جوجه‌های یک روزه، ویروس از مغز، کبد، طحال، بورس فابرسیوس، مغزاستخوان، محتویات رکتوم و سرم جدا شده و ۲ تا ۲۸ روز بعد از تلقیح ویروس از بافتهای فوق‌الذکر به همراه تیموس و کلیه وطحال جدا گردیده است ولی در مطالعه‌ای که به وسیله رنگ‌آمیزی ویروس در بافتها انجام گرفت بیان شد که سلولهای حامل CAA از تیموس و مغز استخوان به سراسر بدن می‌روند (۹).

بهبودی بیماری به بازیابی جمعیت سلولی مغز استخوان (پرواریتروبلاست و پرومیلوسیت‌ها) و بازگشت فعالیت هماتوپویتیک بستگی دارد که حدود ۱۶ روز بعد از تلقیح همزمان با شروع حضور پادتن‌ها انجام می‌گیرد (۱).

علائم بیماری

الف- علائم درمانگاهی

بیان شده که در عفونت تجربی کم خونی و جراحات بافت شناختی را می‌توان ۸ روز بعد از تلقیح CAA مشاهده نمود. علائم کلینیکی ۱۰ تا ۱۴ روز بعد از تلقیح ایجاد می‌گردد. مرگ و میر از حدود ۱۶ روز بعد از تلقیح شروع می‌شود. در شرایط طبیعی دوره نهفتگی مشخص نشده و علائم بالینی و جراحات در ۱۲ روزه‌گی خودنمایی نموده و تا ۳ الی ۴ هفتگی افزایش می‌یابد (۱).

وقوع طبیعی بیماری اکثرا" در طیور گوشتی، نیمچه‌های جایگزین شونده گزارش شده است (۹)، همچنین بیماری در جوجه‌هایی که گله‌های مادری آنهابرای اولین بار با CAA آلوده شده و به سالن تخمگذاری آورده شده‌اند نیز دیده می‌شود (بدون اینکه علائم درمانگاهی قابل مشاهده‌ای در آنها دیده شود) (۲). علائم اولیه بیماری معمولا" در اواخر هفتهٔ دوم زندگی جوجه قابل ملاحظه است (۹). پرندگان بی‌اشتها و بی‌حال بوده و تاج و ریش آنها رنگ پریده و پرهای آنها ژولیده می‌باشند. سپس افزایش روزانه مرگ ومیر شروع می‌شود (۱ و ۹). این بیماری حاد بوده، مرگ و میر ۶-۵ روز بعد از شروع علائم به اوج رسیده و اغلب بعد از ۶-۵ روز به سطح طبیعی برمی‌گردد (۹).

در پرندگان مبتلا اغلب جراحات پوستی موضعی مشاهده می‌شوند. این جراحات بیشتر در بالها دیده می‌شود ولی ممکن است روی سر، اطراف دم، سینه و شکم، رانها، ساق و پاها نیز وجود داشته باشد. این جراحات در نتیجه

جدول ۱- اثر ضد عفونی کننده‌های تجاری روی عفونت‌زایی CAA (۱۴)

ضدعفونی کننده‌ها	درجه حرارت	زمان	مواد حاوی‌ویروس	آخرین غلظت مواد مصرفی(٪) تیتر عفونت‌زائی ۰/۱	۱	۵	۱۰ A
Invert Soap	۳۷°C	۲h	L			۵/۵	۵/۵
	"	۲h	TC			۵/۵	۵/۵
Amphoteric Soap	۳۷°C	۲h	L			۵/۵	۵/۵
	"	۲h	TC			۵/۰	۵/۰
Orthodichlorobenzene	۳۷°C	۲h	L			۵/۵	۵/۵
	"	۲h	TC			۵/۵	۵/۵
Iodine Disinfectant	۳۷°C	۲h	L		۵/۵	۵/۵	-
	"	۲h	TC		-	-	-
Sodium hypochlorite	۳۷°C	۲h	L		۵/۰	۱/۵	-
	"	۲h	TC	۳/۰	-	-	-
	۳۷°C	۲۴h	L	+	+	+	+
		"	TC	+	-	-	-
	RT	۲۴h	L	+	+	۱	-
		"	TC	+	-	-	-
	RT	۱۰min	L			۱/۵	
		"	TC			-	

A= Log TCID50/۰/۱ml تیتر عفونت‌زائی مواد حاوی ویروس بدون مجاورت با مواد ضد عفونی کننده ۱۰۵/۵ TCID 50/۰/۱ml می‌باشد.(-) منفی در کمترین رقت مواد مورد آزمایش، (+) مثبت ولی تیتر آن اندازه‌گیری نشده است، RT درجه حرارت آزمایشگاه،L مواد کبدی،TC کشت سلول

جدول شماره ۲- عفونت‌زائی CAA بعد از بکارگیری مواد شیمیائی (۱۴) (رجوع به توضیحات جدول ۱)

مواد شیمیایی	غلظت	درجه‌حرارت	زمان	تیتر عفونت‌زایی TC	L
Glutaraldehyde	٪۱	RT	۱۰min	-	-
Beta-propiolactone	٪۰/۴	۴°C	۲۴h	-	-
Phenol(water saturated)	٪۵	۳۷°C	۲h	۵	۵
Sodium azide	٪۰/۱	۳۷°C	۲۴h	۵/۵	۵/۵
Thimrosal	٪۰/۱	۳۷°C	۲۴h	۵/۵	۵/۵
HCl	۰/۱N	۳۷°C	۲h	۳/۵	۰/۵
	۰/۱N	۱۵°C	۲۴h	۴	۳
NaOH	۰/۱N	۳۷°C	۲h	۰/۵	-
	۰/۱N	۱۵°C	۲۴h	۰/۵	-
Urea	۶M	۳۷°C	۲۴h	۵/۵	۵/۵

جدول شماره ۴- مقایسه پادتن‌های رئوویروس، برونشیت (IBV)، نیوکاسل (NDV) و گامبورو (IBDV) با حضور و عدم حضور پادتن عامل کم‌خونی جوجه‌ها بوسیله ELIZA (۵)

Reovirus	NDV	IBV	IBDV	تعداد	CAA	سن پرندگان
۱۶۳۶	۲۲۶	۵۳۹۲	۴۹۸۳	۲۸	+	۱روز
۱۴۳۹	۵۰۰	۵۵۵۵	۵۱۶۴	۲۴	−	
۱۲۸	۷	۷۸	۱۱۵۹	۲۸	+	۱۴روز
۱۱۳	۲	۷۴	۵۴۱	۱۹	−	
۹۶۳	۲۳۶	۱۵۳۱	۵۷۰۲	۱۲	+	۶۱روز
۱۸۴	۲۶۵	۹۵۳	۵۶۲۴	۸	−	
۴۱۰	۳۲	۱۵۷۵	۶	۴۱	+	۱۰هفته
۹۷۱	۱۶	۱۹۱۹	۶	۲۵	−	
۱۸۷۹	۳۲۱	۲۴۰۴	۲۲	۴۸	+	۱۷هفته
۲۲۸۸	۲۲۹	۲۳۳۲	۴	۱۹	−	
۱۰۰۶	۴۵۴	۳۱۵۵	۴۹۶۶	۸۲	+	۳۲-۲۹هفته
۱۴۶۸	۱۸۹	۳۴۱۷	۱۹۶۹	۶۲	−	

جدول شماره ۳- اثر فرمالدئید روی عفونت‌زائی CAA (۱۴) (رجوع به توضیحات جدول ۱)

آخرین غلظت مواد مصرفی (٪)			مواد حاوی ویروس	زمان	درجه حرارت
تیتر عفونت‌زائی					
۰/۱	۱	۵	۱۰			
	۴/۰	۰/۵	+	L	۲ساعت	۳۷°C
۴/۵	۳	۱	۰/۵	TC		
+	+	−		L	۲۴ساعت	۳۷°C
+	+	−		TC		
			۴/۵	L	۱ساعت	RT
	۵	۴	۳/۵	TC		
+	+	−		L	۲۴ساعت	RT
+	+	−		TC		
		+		L	۱هفته	۴°C
		+		TC		

خونریزی‌های اکیموتیک بوجود می‌آیند (۹ و ۱۲). در گزارشی علت هموراژی اولیه را با ترمبوسیتوپنی (که با تغییرات آنوکسی خونی بغرنج‌تر می‌شود)، مربوط دانسته‌اند (۱۲).

پوست آبی رنگ و شکننده و ترشح اکسودای خونی مشاهده می‌گردد. عفونتهای ثانویه باکتریایی نیز در این جراحات دخالت نموده و باعث ایجاد درماتیت گانگرونوز می‌گردد (۹ و ۱۲). به علت وجود این علائم و جراحات به این بیماری اسامی چون سندرم درماتیت آنمیک، بیماری بال آبی، سندرم هموراژی و سندرم آنمی عفونی را داده‌اند (۹).

در عفونت تجربی علائم با علائم بیماری طبیعی مشابه بوده و فقط به دنبال آن جراحات پوستی دیده نمی‌شوند. وزن کاهش می‌یابد و خونریزی زیر جلدی و داخل عضلانی ممکن است مشاهده شود (۹).

ب- علائم خونی

جوجه‌های یک روزه‌ای که از طریق داخل عضلانی تلقیح می‌شوند، در حدود ۸ تا ۱۰ روز بعد از تزریق، تغییرات خونی را نشان می‌دهند. سطح هماتوکریت و تعداد ترومبوسیتها و سلولهای سفید و قرمز خونی رو به کاهش و تعداد سلولهای پلاستیک در بافت مغز استخوان رو به افزایش می‌گذارد. خون جوجه‌های مریض کم و بیش آبکی شده و زمان لخته شدن افزایش می‌یابد (۱ و ۲ و ۹). به احتمال قوی خونریزی در جوجه‌های بیمار به علت اختلال در سیستم انعقاد خون و آنوکسی خونی به وقوع می‌پیوندد و رنگ پلاسمای خون بی رنگتر می‌شود. آنیزوسیتوز در ۸ روز بعد از عفونت جلب توجه می‌کند. ۱۶ روز بعد از تلقیح اشکال نابالغ اریتروسیت‌ها، گرانولوسیت‌ها و ترمبوسیت‌ها در خون محیطی مشخص می‌شود (۱). با توجه به این که متوسط عمر گلبول قرمز طیور حدود ۲۰ تا ۳۵ روز است، اریتروسیتهای نابالغ احتمالاً بعد از ۲۰ روز افزایش یافته و به حدود ۳۰٪ می‌رسند (۱ و ۱۲). در ۱۲ تا ۲۴ روز بعد از تلقیح ممکن است حجم هماتوکریت به پایین‌ترین حد خود یعنی ۱۰ تا ۲۰٪ و حتی در پرندگان در حال مرگ به ۶٪ برسد (۱ و ۲ و ۹). در جوجه‌های رو به بهبودی حجم هماتوکریت از ۱۶ تا ۲۰ روز بعد از تلقیح رو به افزایش گذارده و ۲۸ تا ۳۲ روز بعد از تلقیح به وضعیت نرمال باز می‌گردد (۱ و ۹). در این فرایند روند تشکیل گلبول قرمز قبل از گلبول سفید آغاز می‌شود (۹).

د- علائم کالبدگشایی یا ماکروسکوپیک

رنگ پریدگی و یا صورتی و زرد شدن مغز استخوان در لاشه جوجه‌های با سن ۳-۲ هفته از نشانه‌های قطعی بیماری CAA می‌باشد (۲). خونریزی ممکن است در زیر پوست ودر سراسر عضلات اسکلتی مشاهده شود، تورم و رنگ پریدگی کبد و درماتیت قانقاریایی و خونریزی در موکوس پیش معده و زیر جلدی و خونریزی عضلانی بعضاً در آنمی شدید دیده می‌شود (۱ و ۲ و ۹).

تشخیص

الف- جداسازی و تشخیص عامل

CAA را می‌توان از همه بافتهای جوجه آلوده جدا نمود (۱)، ولی لازم به ذکر است که اکثراً ویروسها از نمونه‌های کبدی پرندگان مبتلا جدا شده‌اند، زیرا بیشترین غلظت ویروس را در خود دارد (۱ و ۹). تلقیح داخل عضلانی یا داخل صفاقی در جوجه یکروزه طریق بسیار اختصاصی برای جداسازی اولیه CAA می‌باشد و از کشت سلول‌هایی که قبلاً ذکر شد می‌توان برای این عمل استفاده کرد که در این صورت، اگر جراحات سلولی بعد از ۱ تا ۶ تعویض کشت (۷ تا ۲۴ روز) دیده شد، به عفونت CAA مشکوک می‌شویم، زیرا آسیب سلولی شناخته شده‌ای مخصوص ویروس این بیماری که با میکروسکوپ نوری قابل مشاهده باشد وجود ندارد. لازم به ذکر است که اگر از کبد هموژن صاف شده برای جداسازی استفاده شود، می‌توان آنرا برای ۵ دقیقه در ۷۰ درجه سانتیگراد گرم کرده و یا به آن کلروفرم افزود (۱). تشخیص CAA با این روشها باید از طریق روشهای سرولوژیک تائید شود (۱).

ب- سرولوژیک

تأیید تشخیص بیماری CAA به وسیله روشهای سرولوژی اعم از ایمنوفلورسنت غیر مستقیم (IIF) و سرم خنثی کننده (SN) و ELISA مورد شناسایی قرار می‌گیرد. این آزمایشها اصولاً برای بررسی وضعیت کیفی پادتن‌های موجود در گله‌ها مخصوصاً گله‌های مادر و SPF بکار می‌روند (۱ و ۲ و ۹).

برای مقایسه سه تست فوق‌الذکر مطالعه‌ای انجام گرفته است. نتایج آن نشان می‌دهد که حساسیت تستها به ترتیب از ELISA به SN و IIF کم می‌شود (۱ و ۲). پادتنهای مخصوص هر سه تست در یک زمان تولید می‌شود، ولی مدت زمان پایداری پادتن خنثی کننده بیشتر از دو پادتن دیگر است (۹)، یعنی حتی ۳۷ هفته بعد از آلودگی قابل تشخیص می‌باشد و تست ELISA و IIF ممکن است در آخر دوره عفونت جواب منفی کاذب بدهد (۱۱).

با توجه به کلیه جوانب این سه تست سرولوژی، بهتر است اگر سرمی با ELISA و IIF جواب نداد با SN مورد آزمایش قرار گیرد (۱۱). از روش IIF می‌توان به عنوان تست غربالگر در گله‌های مادر آلوده و تعیین میزان موفقیت واکسیناسیون استفاده کرد (۲).

در مطالعه‌ای یک روش غیرسرلوژیک توصیه شده است که در آن ویروس CAA در مقاطع بافتی با روش آویدین-بیوتین رنگ‌آمیزی ایمنوپراکسیداز قابل تشخیص شده است. این روش در مقایسه با روش IIF از حساسیت یکسانی برخوردار است ولی احتیاج به زمان طولانی‌تری دارد (۷).

بطورکلی استفاده از این روش ارزش کمی دارد زیرا در رنگ‌آمیزی بافتهایی همچون مغز استخوان و خون که خود پراکسیداز آندروژنوس دارند با مشکلاتی مواجه می‌شوند (۷). در حال حاضر با روش‌هایی هیبریداسیون و پلی‌مریزاسیون رشته‌های واکنشی (PCR) دقیقاً عامل بیماری را مورد شناسایی قرار دهند و در آینده نزدیک از این دو روش می‌توان به عنوان یک تست غربالگر بهره جست (۹ و ۱۰).

ج- تشخیص قطعی

بر مبنای علائم کلینیکی و یافته‌های پاتولوژیک در پرندگان مبتلا کمتر از ۶ هفته تشخیص اولیه را می‌توان داد. البته تاریخچه گله مادر در صورتی که جوجه‌ها علائم بیماری را نمایش دهند به امر

تشخیص کمک می‌کند (۱ و ۹). کلا" تشخیص قطعی بیماری بر علائم کلاسیک درمانگاهی، یافته‌های پاتولوژیک در طیور مبتلا، آزمایش سرولوژیک گله مادر و جداسازی ویروس از پرندگان مبتلا استوار است (۹).

د- تشخیص تفریقی

علائمی از قبیل آنمی آپلاستیک همراه با آتروفی تیموس و بورس فابرسیوس و تضعیف ایمنی در اثر ویروس استئوپتروزیس نیز مانند ویروسی CAA ایجاد می‌شود (۱). آنمی در اثر ویروس اریتروبلاستوزیس می‌تواند به وسیله میکروسکوپ از آنمی در اثر ویروس CAA تفکیک شود (۱). ویروس بیماری مارک و ویروس گامبورو می‌توانند باعث آتروفی بافتهای لمفوئیدی با جراحات کلاسیک هیستولوژیک شوند، اما معمولا" باعث کم خونی در جوجه‌های آلوده نمی‌شوند (۱). البته گفته می‌شود به دلیل اینکه آنمی و آتروفی اعضاء خونساز همیشه به هم ربط ندارند و از طرف دیگر بسیاری از عوامل می‌توانند این دو اثر را در جوجه‌ها تولید کنند فقط با تکیه به این دو علامت نمی‌توان عفونت CAA را از دیگر عفونتها تفکیک کرد (۶). در تشخیص بیماری مشاهده اجسام داخل هسته‌ای در مقاطع پاتولوژی که بعضا" در عفونت تجربی و طبیعی دیده می‌شود از ارزش زیادی برخوردار نیست (۱۲). مسمومیت با مقادیر زیاد سولفانامیدها یا مایکوتوکسین‌ها مثل آفلاتوکسین می‌تواند باعث آنمی آپلاستیک و سندرم هموراژی شود. آفلاتوکسین ممکن است سیستم ایمنی را هم از بین ببرد. بطور کلی جوجه‌های پرورشی بندرت با دزهای سمی آفلاتوکسین و سولفانامیدها برخورد دارند. از طرف دیگر مسمومیت تحت درمانگاهی جوجه‌ها ممکن است با CAA توام شود (۱).

خسارات اقتصادی

خسارات اقتصادی سندرم درماتیت آنمیا به سه بخش افزایش مرگ و میر، هزینه آنتی بیوتیکهای مورد نیاز برای درمان عفونتهای باکتریایی ثانویه و کاهش رشد تقسیم می‌گردد (۸). تجربیاتی جهت برآورد ضررهای اقتصادی شکل تحت درمانگاهی بیماری گله‌های گوشتی در هنگام کشتار انجام شده است، در بسیاری از طیور گوشتی تحت بررسی پادتنهای ضد CAA دیده شده که نشانه حضور بیماری تحت درمانگاهی و انتشار افقی بیماری است. در مقایسه‌ای که بین جوجه‌های دارای پادتن و فاقد پادتن انجام شد اختلاف چشمگیر آماری در درآمد خالص، ضریب تبدیل غذایی و میانگین وزن هر پرنده دیده شد ولی در میزان مرگ و میر آنها اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت (۸).

باتوجه به تأثیر عامل این بیماری بر سیستم ایمنی پرندگان و اثبات حضور عفونت تحت درمانگاهی بیماری CAA در گله‌های تحت بررسی (که در نتیجه باعث حساسیت پرندگان به عوامل عفونی اعم از باکتریایی، قارچی، ویروسی و غیره می‌شود) یک روشی قابل اطمینان برای جلوگیری از بروز شکل تحت درمانگاهی بیماری CAA و خسارات اقتصادی ناشی از آن بسیار ضروری به نظر می‌رسد (۲ و ۵ و ۸ و ۱۲).

درمان، کنترل و پیشگیری

درمان خاصی برای جوجه‌های بیمار وجود ندارد. مصرف آنتی‌بیوتیکهای وسیع‌الطیف که عفونتهای باکتریایی همراه با آنمی عفونی را کنترل می‌کند عنوان شده است لیکن کارآیی آن ضعیف بوده و مصرف آن امکان پذیر نمی‌باشد (۱).

در زمینه کنترل بیماری، لازم به ذکر است که باید به وسیله روشهای مدیریتی و بهداشتی از عوامل محیطی یا بیماریهای عفونی که باعث تضعیف ایمنی می‌شوند (که در راس آنها گامبورو) جلوگیری کرد (۱ و ۹ و ۱۲). از برخورد جوجه‌ها در سنین پایین با ویروس CAA و یا انتقال هر شیئی از گله آلوده به گله سالم باید جلوگیری کرد. از طرفی باید به وسیله آزمایشهای مستمر گله‌های مادر، از حضور پادتن ضد CAA مطلع شد تا از این طریق بتوان از انتقال عمودی بیماری جلوگیری کرد (۱).

در مورد پیشگیری، از سالهای قبل محققین سعی کرده‌اند تا واکسن خوبی برای CAA تولید کنند. در سال ۱۹۸۰ در آلمان بعد از مواجهه با این بیماری در گله‌های مادر گوشتی، جوجه‌های آلوده را بطور سنجیده به گله مادر بعدی اضافه کردند و نتایج موثری به دست آمد ولی همانطور که می‌دانید انتقال هر شیئی از یک گله به گله دیگر از نظر بهداشتی خطرناک است . بعد از مدتی سعی شد از مایع هموژن کبد جوجه‌های مبتلا در دوره زندگی گله مادر به روش داخل آب آشامیدنی به عنوان یک واکسن اتوژن درموارد بیماری کنترل نشده استفاده شود که موثر واقع شد ولی به عنوان یک روش استاندارد معرفی نمی‌شود، زیرا احتمال انتقال پاتوژنهای دیگر و عدم اطمینان از غلظت کافی ویروس وجود دارد. بعدها سویه ویروسی CUX-I که از جنین جوجه‌های SPF به دست می‌آمد به عنوان یک واکسن معرفی شد که به شکل داخل آب آشامیدنی در سن ۱۳ تا ۱۵ هفتگی در گله مادر مصرف می‌شد (۹).

در مورد نوع واکسن گفته می‌شود که یک واکسن زنده تخفیف حدت نیافته در همه کشورها قابل قبول نیست و تاکنون هیچ سویه غیر پاتوژن از CAA شناخته نشده است. البته ممکن است سویه‌های ایمنی‌زایی که فاقد بیماریزایی باشند به وسیله دستکاری DNA ویروسی یا به وسیله حذف (Excision) یا تغییر زنجیرهای اختصاصی (Alteration) تولید شود. در صورتی که هدف افزایش ایمنی گله‌های مادر جهت مقابله با عفونت تحت درمانگاهی در جوجه‌ها باشد، استفاده از یک واکسن غیرفعال حاوی ادجوانت منطقی‌تر است. احتمالا" در آینده نزدیک با استفاده از مهندسی ژنتیک، واکسن Subunit یا واکسن Virus vector تولید خواهد شد (۹).

در مطالعات مختلف سن واکسیناسیون را متفاوت ذکر کرده‌اند ولی بهترین سن را اکثرا" ۱۳ تا ۱۵ هفته در گله مادر عنوان می‌کنند (۱۳). همچنین سن ۱۸-۱۶ هفته هم در بعضی مقالات دیده می‌شود، ولی هرگز نباید قبل از ۴-۳ هفته پیش از شروع دوره تخمگذاری اینکار انجام گیرد، زیرا خطر انتشار ویروس به تخم‌مرغ‌ها وجود دارد. ویروس CAA در سن واکسیناسیون ویروس باعث تضعیف ایمنی نمی‌شود (۱).

منابع مورد استفاده:

1-Bülow V. Von, 1991, Diseases of poultry, pp 690-699.

2- Jordan, F.T.W., 1990, Poultry diseases, pp 205-208.

3- Connor, T.J.M., Neilly, F., Firth, G.A., McNulty, M.S., 1991, Australian veterinary journal, Vol. 68, No 6.

4- Firth, G. A., 1990, Australian veterinary journal, Vol. 67, No 8.

5- Goodwin, M. A., Brown, J., Smeltxer, M. A., Girshick, T., Miller, S. L., Dickson, T. G., 1992, Avian disease, (36) pp 356-358.

6- Goodwin, M. A., Brown, J., 1992 Avian disease, (36) pp 353-355.

7- Hoop, R. K., Reece, R. L., 1991, Avian pathology, (20) pp 349-355.

8- McNulty, M. S., McIlroy, S. G., Bruce, D. W., Todd, D., 1991, Avian disease, (35) pp 263-268.

9- McNulty, M. S., 1991, Avian pathology, (20), pp 187-203.

10- Noteborn, M.H.M., Verschueren, C.A., Vanroozelaar, D.J., Veldkamp, S., Vander, E.A.D.J., Deboer, G.F., 1992, Avian pathology, (21) pp 107-118.

11- Otaki, Y., Saito, K., Tajima, M., Nomura, Y., 1991, Avian pathology, (20) pp 315-324.

12- Pope, C.R., 1991, Veterinary immunology and immunopathology, (30) pp 51-65.

13- Vielttz, E., Conrad, C., Voss, M., Bülow, V., Von, Dorn, P., Bachmeter, J., LÖhren, U., 1991, Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, (98) pp 144-147.

14- Yuasa, N., 1992, Avian pathology, (21) pp 315-319.