نخستين گزارش وقوع وباي پرندگان در تالاب ميانكاله، جنوب شرقي درياي خزر

ساسان فريدوني[1]، حسين مديرروستا[1] و فرحناز آذين[2]

[1] آزمايشگاه تحقيق بيماري‌هاي حيات وحش، موسسه تحقيقات واكسن و سرم‌سازي رازي

[2] بخش پرندگان، دفتر امور حيات وحش و آبزيان، مركز تحقيقات زيستمحيطي سازمان حفاظت محيط زيست، تهران

چكيده: بيماري وباي پرندگان از بيماري‌هاي عفوني و مرگبار پرندگان اهلي و وحشي است و عامل آن باكتري پاستورلا مولتوسيدا مي‌باشد. اين بيماري در سطح جهان در بيش از ۱۰۰ گونه از پرندگان وحشي گزارش شده است. تالاب ميانكاله يكي از مهمترين تالاب‌هاي بين‌المللي در شمال ايران و در ضلع جنوب شرقي درياي خزر است. به دنبال بروز تلفات در پرندگان آبزي مهاجر تالاب ميانكاله در پاييز ۱۳۸۳، بررسي گسترده‌اي براي يافتن علت تلفات انجام شد. در نتيجه اين بررسي‌ها باكتري *Pasteurella multocida multocida* كه عامل بيماري وباي پرندگان است، از ۷ گونه مختلف از پرندگان تلف شده شامل فلامينگو (*Phoenicopterus ruber*)، اردك سياه كاكل (*Aythya fuligula*)، اردك سرسياه (*Aythya marila*)، اردك سرحنايي (*Aythya ferina*)، چنگر (*Fulica atra*)، باكلان كوچك (*Phalacrocorax pygmeus*) و كشيم بزرگ (*Podiceps cristatus*) جدا و تعيين مشخصات گرديد. در اين مقاله، بيماري وباي پرندگان براي اولين بار از پرندگان آبزي مهاجر ايران گزارش مي‌شود.

The First Report of Avian Cholera in Miankaleh Wetland, Southeast Caspian Sea

S. FEREIDOUNI[1*], H. MODIR-ROUSTA[1] & F. AZIN[2]

[1] *Wildlife Diseases Research Department, Razi Research Institute, Karaj*

[2] *Ornithology Unit, Wildlife & Aquatic Organisms Bureau, Environmental Research Centre, Department of the Environment (DoE), Tehran*

** Corresponding author. Email: s.fereidouni@rvsri.com*

Received 31 December 2005; accepted 15 April 2006

Abstract: Avian cholera is a highly contagious disease resulting from infection by the bacterium *Pasteurella multocida*. This bacterium has affected more than 100 species of waterbirds worldwide, including swans, geese, ducks, gulls, and coots. The bacterium can kill the infected birds just in 6-12 hours, although death in 1 to 2 days is more common. *Pasteurella multocida* isolates are divided to 3 different subspecies including *Pasteurella multocida multocida*, *P. m. septica*, *P. m. gallicida*. The disease primarily occurs in winter and early spring. During these times, waterfowl are usually in dense groups on wintering areas and may be experiencing stress due to crowding and severe weather. Miankaleh is one of the most important wetlands in north of Iran. Every year, several hundred thousands to one million waterbirds migrate to this area during autumn and winter. In this study, an outbreak of waterbirds mortality in Miankaleh wetland during January 2005 was investigated. Different samples were collected from infected birds and were tested by standard bacteriological methods. Avian Cholera caused by *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* was diagnosed. *Pasteurella multocida* was isolated and characterized from different affected species including Great Crested Grebe *Podiceps cristatus*, Pygmy Cormorant *Phalacrocorax pygmeus*, Greater Flamingo *Phoenicopterus ruber,* Pochard *Aythya ferina*, Tufted Duck *Aythya fuligula,* Scaup *Aythya marila* and Coot *Fulica atra.* This is the first report of Avian Cholera of wild waterbirds in Iran.

Keywords: Avian Cholera, waterbirds, Miankaleh, wetland, Iran.

مقدمه

بيماري وباي پرندگان يكي از بيماري‌هاي حاد و واگيردار پرندگان آبزي مي‌باشد است كه عامل آن باكتری *Pasteurella multocida* مي باشد (Botzler 1991). پاستورلا مولتوسيدا يك باكتري كپسول‌دار گرم منفي است و به صورت ميله‌اي يا كوكوباسيل ديده مي‌شود. اين باكتري در رنگ‌آميزي به روش‌هاي متيلن بلو، رايت، گيمسا و گرم به صورت دو قطبي رنگ مي‌گيرد (Wobeser 1981). تاكنون سه زيرگونه از اين باكتري مورد شناسايي قرار گرفته است شامل *P. m. multocida*، *P. m. septica* و *P. m. galicida* (Mutters *et al.* 1985).

تا به حال ١٦ سروتيپ از اين باكتري شناسايي شده است (Rimler *et al.* 1984). در برخي از مسيرهاي پروازي، بيشترين موارد بيماری در پرندگان وحشی توسط سروتيپ ١ ايجاد شده (Botzler 1991) و در برخي ديگر از مسيرهاي پروازي سروتيپ ٣ در پرندگان آبزی به طور غالب وجود دارد اما كمتر سبب بيماری واگير مي‌شود. سروتيپ‌های ديگر *P. multocida* معمولاً در پرندگان آبزی يا ديگر گونه‌های پرندگان وحشی ايجاد بيماري نمي‌كنند، اگرچه به طور تصادفی انواع مختلفی از آنها از پرندگان جدا شده‌اند (Friend 1992).

باكتری *P. multocida* می‌تواند در بيش از ١٠٠ گونه از پرندگان آبزی موجب بيماري و بروز تلفات شود. وقوع اين بيماري در بسياري از كشورهاي جهان گزارش شده است (Samuel *et al.* 2003). در بسياري از كشورهايي كه تالاب‌هاي متعدد و مناسب براي تجمع پرندگان آبزي مهاجر دارند, به ويژه در آمريكا و كانادا، واگيري‌هاي متعددي از اين بيماري با شدت و تلفات متغير از چند هزار تا چند صد هزار پرنده در طي يك قرن گذشته رخ داده است. عامل بيماري براي مدت‌هاي طولاني در آب و خاك تالاب‌هاي آلوده باقي مي‌ماند و سبب انتقال بيماري از يك گروه از پرندگان به گروهي ديگر مي‌گردد (Price & Brand 1984). دسته‌اي از پرندگان باقيمانده از بيماري به صورت ناقل بيماري درآمده و اين گروه نيز در انتقال بيماري نقش دارند (Samuel *et al.* 1999).

وبای طيور يک بيماری بسيار كشنده است و در بعضی از موارد در كمتر از ٦ تا ١٢ساعت موجب مرگ پرنده می‌شود. پس از مرگ پرنده، باكتری در محيط‌هاي تالابي آزاد می‌شود و ساير پرندگان را آلوده مي‌كند. وبای پرندگان ممكن است به سرعت در تالاب گسترش يابد و سبب مرگ هزاران پرنده در يک واگيری شود (Samuel & Mensik 2005).

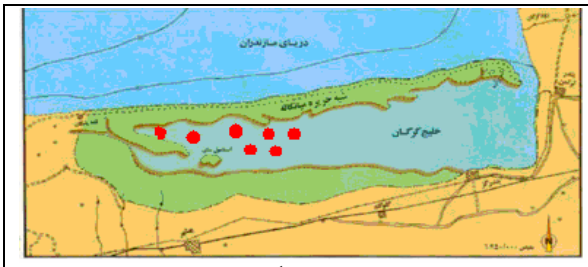
اين بيماري از طيور و اردك‌هاي اهلي ايران گزارش شده است (Rasadi 1988; Tavasoli *et al.* 1984) ولي تاكنون گزارشي از آن در پرندگان وحشي ايران وجود نداشته است.

تالاب ميانكاله و خليج گرگان با وسعت ٦٨٨٠٠ هكتار يكي از زيستگاه‌هاي مهم براي زمستان‌گذراني پرندگان مهاجر در ايران است. براي مثال اين تالاب در سال ١٣٨٢ حدود يك ميليون پرنده مهاجر را در خود جاي داد و به دليل تجمع اين تعداد پرنده مي‌تواند بالقوه شرايط مناسبي را براي انتقال بيماري‌هاي عفوني دارا باشد (Friend 1992).

مواد و روش‌ها

تالاب ميانكاله يكي از تالاب‌هاي بسيار مهم و بين المللي كشور براي مهاجرت و زمستانگذراني پرندگان مهاجر در استان مازندران مي‌باشد. ميانكاله تالابي است كم عمق با آبي شور تا لب شور كه در منتهي اليه جنوب شرقي كرانه درياي خزر قرار دارد. اين تالاب از نظر آب و هوايي در تابستان گرم و در زمستان معتدل بوده و درجه حرارت هوا در طول سال به طور متوسط از ٩ تا ٢٤ درجه در نوسان مي‌باشد ليكن محدوده آن از ٦- تا ٣٢ درجه سلسيوس متغير مي‌باشد.

در بررسي وضعيت تلفات بر سطح تالاب، تعداد بسيار زيادي از پرندگان تلف شده از گونه‌هاي مختلف بر سطح تالاب وجود داشت كه لاشه اغلب آنها توسط پرندگان ديگر به ويژه انواع كاكايي‌ها خورده شده يا در حال خورده شدن بود و باقيمانده آنها نيز متلاشي و گنديده شده بود. نقاط نمونه‌برداري در شكل ١ نشان داده شده است.



شكل ١- نقاط نمونه‌برداري از پرندگان بيمار يا تلف شده در تالاب ميانكاله.

Figure 1. Sampling points in Miankaleh Wetland.

پس از بررسي وضعيت تالاب, ٢٢ پرنده از پرندگان بيمار يا تلف شده موجود در سطح تالاب كه داراي وضعيت مناسبي براي كالبدشكافي و نمونه‌برداري بودند شامل يك كشيم بزرگ

(*Podiceps cristatus*)، يك باكلان كوچك (*Phalacrocorax pygmeus*)، دو فلامينگو (*Phoenicopterus ruber*)، دو اردك سياه‌كاكل (*Aythya fuligula*)، يك اردك سرسياه (*Aythya marila*)، يك اردك سرحنايي (*Aythya ferina*) و ١٤ چنگر (*Fulica atra*) جمع‌آوري و كالبد گشايي شدند.

شكل‌هاي ۴-۲- تصاويري از ٣ پرنده تلف شده در تالاب ميانكاله شامل كشيم بزرگ (بالا)، فلامينگو (وسط) و چنگر (پايين).

Figures 2-4. A view to dead birds, Great Grebe (top), Flamingo (middle) and Coot (bottom).

اندام‌هاي مختلف پرندگان مورد نظر از نظر ضايعات پاتولوژيك مورد بررسي قرار گرفتند و دستگاه گوارش و تنفسي از نظر انگل‌هاي مختلف ارزيابي گرديد. سپس نمونه‌هاي مختلف شامل كبد، طحال، قلب، كليه, مغز و استخوان (جهت كشت مغز استخوان) از آنها اخذ گرديد. نمونه‌ها پس از جمع‌آوري در ظروف مناسب قرار داده شدند و تا زمان آزمايش در فريزر ٢٠- درجه سلسيوس نگهداري شدند (Towsend *et al.* 1998). همچنين نمونه‌هاي مختلفي جهت بررسي‌هاي ويروس‌شناسي و پاتولوژيك اخذ گرديد.

در آزمايشگاه نمونه‌ها به طور همزمان برروی محيط بلاد آگار و مك كانكی آگار كشت داده شدند و به مدت ٢٤ ساعت در انكوباتور ٣٧ درجه سلسيوس قرار گرفتند. از كلنی‌های رشد يافته، لام گِرّم تهيه گرديد و تست اكسيداز و كاتالاز انجام شد. باكتري‌هاي گرم منفی كه هر دو تست اكسيداز و كاتالاز آنها مثبت بود، بر روی محيط‌هاي TSI آگار، SIM، سيمون سيترات آگار، اوره براث، نيترات براث، MR-VP، و محيط‌های قندی آرابينوز، تره‌هالوز، دولسيتول، سوربيتول، سوكروز، گزيلوز، گلوكز، مالتوز و مانيتول كشت داده شدند.

جهت بررسي ويروس‌شناسي ، نمونه‌هاي اخذ شده به حفره كوريوآلانتوئيك تخم‌مرغ‌هاي جنين‌دار ١١-٩ روزه تلقيح گرديد. تخم‌مرغ‌ها به مدت ۵ روز در داخل انكوباتور ٣٧ درجه سلسيوس قرار گرفتند و روزي دوبار از نظر تلفات جنيني بررسي شدند. پس از پايان اين مدت، مايع كوريوآلانتوئيك از نظر حضور ويروس‌ها و خاصيت هماگلوتيناسيون گلبول‌هاي قرمز مورد بررسي قرار گرفت.

نتايج

در كالبدشكافي پرنده‌هاي تلف شده نشانه‌هاي وباي پرندگان شامل تورم و نكروز كبد مشاهده گرديد. نشانه‌هاي پاتولوژيك و روند سريع تلفات, احتمال وقوع وباي پرندگان را متبادر به ذهن مي‌ساخت. ليكن تشخيص قطعي بيماري نياز به جداسازي عامل بيماري دارد.

در بررسي‌هاي آزمايشگاهي از ٩۵% پرنده‌هاي نمونه‌برداری شده، باكتري *P. m. multocida* جدا شد. نتايج آزمايش‌هاي بيوشيميايي ايزوله‌هاي *P. multocida* جدا شده از پرندگان تالاب ميانكاله در جدول ١ ارائه شده است. در ضمن نمونه‌هاي پرندگان، از نظر عفونت‌هاي ويروسي (همانند انفلوانزا و نيوكاسل)، انگلي و ساير عفونت‌هاي باكتريايي (همانند ليستريوز، سالمونلوز) مورد ارزيابي قرار گرفتند كه نتايج همگي منفي بود.

جدول ۱- نتايج آزمايش‌هاي بيوشيميايي ايزوله‌هاي *P. multocida* جدا شده از پرندگان تالاب ميانكاله.

Table 1. Results of Biochemical tests for *P. multocida* in waterbirds of Miankaleh.

Biochemical tests	درصد مثبت	تست بيوشيميايي
Oxidase	100	اكسيداز
Catalase	100	كاتالاز
Hamolysis	0	توليد هموليز در محيط آگار خوندار
Growth in	0	رشد در محيط مك كانكي
Nitrate	100	تبديل نيترات به نيتريت
Citrate	0	سيترات
MR-VP	0	MR-VP
NC/ TSI	0	واكنش NC در محيط TSI
Urease	0	اوره‌از
Mobility	0	تحرك
SH2 production	0	توليد SH2
Indol	100	ايندول
Glucose	100	گلوكز
Xilose	100	گزيلوز
Sucrose	100	سوكروز
Sorbitol	100	سوربيتول
Manitol	100	مانيتول
Dolsitol	0	دولسيتول
Trehalose	0	تره‌هالوز
Arabinose	0	آرابينوز
Maltose	5.5	مالتوز

بحث

تالاب ميانكاله و خليج گرگان يكي از مهم‌ترين زيستگاه‌هاي ايران براي زمستان‌گذراني پرندگان مهاجر در طول فصول پاييز و زمستان است. اين تالاب هر سال تعداد بسيار زيادي از پرندگان مهاجر را در خود جاي مي‌دهد كه به دليل تجمع اين تعداد پرنده، شرايط مناسبي براي انتقال وباي پرندگان فراهم مي‌شود. گزارش‌هاي منتشر نشده متعددي مبني بر وجود تلفات در پرندگان اين تالاب به ويژه در جمعيت چنگرهاي تالاب در سالهاي قبل وجود دارد. در سال ۱۳۸۳ نيز در همان محدوده زماني سالهاي قبل يعني از اوايل آبان ماه، تلفات در پرندگان اين تالاب پديدار شد كه نتايج اين بررسي منجر به گزارش بيماري وباي پرندگان در هفت گونه مختلف پرندگان اين تالاب براي اولين بار از ايران گشت.

بر اساس وضعيت تلفات و گونه‌هاي درگير بيماري احتمال آن وجود دارد كه در سالهاي قبل نيز همين بيماري موجب بروز تلفات در پرندگان آبزي اين تالاب شده است, اما به دليل عدم انجام تحقيقات، نامكشوف مانده بود. در ميانكاله گزارش‌هاي محلي حاكي از وقوع بيماري تنها در چنگرها بود, ليكن در حين بررسي در سطح تالاب, لاشه هفت گونه مختلف از پرندگان يافت شد و باكتري *P. multocida* از تمامي آنها جدا شد. در اين بررسي زيرگونه *P. m. multocida* از پرندگان مبتلا جدا شد. در اكثر موارد واگيري‌هاي بيماري در ساير نقاط جهان نيز وضعيت مشابه بوده است (Botzler 1991) .

چنگرها از حساسيت زيادي به باكتري پاستورلا مولتوسيدا برخوردار هستند (Botzler 1991). در واگيري وباي پرندگان در تالاب ميانكاله نيز همانند گزارش‌هاي موجود از ساير نقاط جهان، بيشترين ميزان تلفات در بين راسته اردك‌سانان و چنگرهاست.

شكل ۵- ضايعات نكروتيك در كبد يكي از پرندگان مبتلا شده به وباي پرندگان در تالاب ميانكاله.

Figure 5. Necrotic lesions on the liver of one of dead birds in Miankaleh wetland.

اگرچه در بسياري از منابع ذكر شده است كه پرندگان لاشه‌خوار همانند كاكايي‌ها, كلاغ‌ها و عقاب‌هاي تالابي از جمله پرندگاني هستند كه در واگيرهاي وباي پرندگان به اين بيماري مبتلا مي‌شوند, ليكن در اين بررسي هيچ‌گونه لاشه‌اي از اين قبيل پرندگان به ويژه كاكايي بر سطح تالاب يافت نشد و هيچ گزارشي مبني بر رويت تلفات در اين گونه از پرندگان نيز وجود نداشت (علي‌رغم آنكه در بسياري از موارد آنها در حال تغذيه از لاشه ساير پرندگان تلف شده ديده مي‌شدند).

واگيري وباي پرندگان معمولاً در مناطق و تالاب‌هايي رخ مي‌دهد كه تعداد زيادي از پرندگان در يك جا جمع مي‌شوند. اين وضعيت از ويژگي‌هاي تالاب ميانكاله است. وجود خانه‌هاي روستايي در اطراف تالاب و نگهداري انواع پرندگان توسط روستائيان نيز احتمالاً از عوامل مستعد در انتقال و گسترش بيماري هستند كه نياز به بررسي بيشتر دارد.

REFERENCES

Botzler, R.G. 1991. Epizootiology of Avian cholera in wildfowl. *Journal of Wildlife Diseases* **27:** 367-395.

Friend, M. 1992. Avian cholera. *In:* Friend, M. & Franson, J.C. (eds). *Field Mannual of Wildlife Diseases: General field Procedures and Diseases of Birds*. 75-92.

Mutters, R., Ihm, D., Pohl, S., Frederiksen, W. & Mannheim, W. 1985. Reclassification of the Genus *Pasteurella* Trevisan 1887 on the basis of Deoxyribonucleic Acid homology, with proposal for the new species *Pasteurella dagmatis, Pasteurella canis, Pasteurella stomatis, Pasteurella anatis* and *Pasteurella langaa*. *International Journal of Systematic Bacteriology* **35:** 309-322.

Price, J.I. & Brand, C.J. 1984. Persistence of *Pasteurella multocida* in Nebraska Wetlands under Epizootic Conditions. *Journal of Wildlife Diseases* **20:** 90-94.

Rasadi, M. 1988. Reports of three cases of pasturellosis from broiler farms in Amol. *Journal of the faculty of veterinary medicine, university of Tehran* **44:** 37-45

Rimler, R.B., Rebers, P.A. & Philips, M. 1984. Lipopolysaccharides of Heddeston Serotypes of *Pasteurella multocida*. *American Journal of Veterinary Research* **45:** 759-763.

Samuel M.D. & Mensik, G. 2005. Avian Cholera- Research provides new insights on deadly disease. *USGS-National Wildlife Health Center Report.* http://www.nwhc.ussg.gov/research/avian_cholera/cholera_insights.html

Samuel, M.D., Shadduk, D.J., Goldberg, D.R., Baranyuk, V., Sielo, L. & Price, J.I. 1999. Antibodies against *Pasteurella multocida* in Snow Geese in Western Arctic. *Journal of Wildlife Diseases* **35:** 440-440.

Samuel M.D., Shadduk, D.J., Goldberg, D.R., Wilson, M.A., Joly, D.O. & Lehr, M.A. 2003. Characterization of *Pasteurella multocida* isolates from wetland ecosystems during 1996 to 1999. *Journal of Wildlife Diseases* **39:** 798-807.

Tavasoli, A., Sotoodehnia, A., Aarabi, I. & Vandyoosefi, J. 1984. A Case Report of Fowl Cholera Disease in North of Iran. *Archives of Razi Institute* **34:** 39-41.

Towsend, K.M., Frost, A.G., Lee, C.W., Dimitriou, J.P. & Dawskins, J.S. 1998. Development of PCR assay for species and type-specific identification of *Pasteurella multocida* isolates. *Journal of Clinical Microbiology* **36:** 1096-1100.

Wobeser, G.A. 1981. Avian Cholera. *In: Diseases of Wild Waterfowl*. Plenium Press, New York. pp 47-60.