بررسی سرولوژیکی بیماری آنفلوآنزا در مرغان بومی در مناطق مجاوردریای استان گلستان

سروش خادمیان[*]، منصور بیات[**]، علیرضا عزیزی سراجی[***]، شهروز قادری[****]، محمد علی ضیاء[*****]، **شهنازبهشتی**[******]

[1] دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاداسلامی واحدگرمسار

[2] متخصص قارچ شناسی دامپزشکی، استادیارگروه قارچ شناسی پزشکی و دامپزشکی و دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی،دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

[3] کارشناس علوم آزمایشگاهی دامپزشکی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاداسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران

[4] متخصص قارچ شناسی دامپزشکی، استادیار گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

[5] عضو هیات علمی دانشکده پرستاری دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان

نویسنده‌ی مسؤول: محمد علی ضیاء

آدرس تماس و مکاتبه با نویسنده‌ی مسؤول: محمد علی ضیاء، دفتر ارتباط با صنعت و جامعه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان، اصفهان، ایران. تلفن همراه۰۹۱۳۳۰۹٤۸۵۲ ، فاکس ۰۳۱۱۲۳۵۲۸٦٦

Email: zia.mohammadali@gmail.com

چکیده:

زمینه و اهداف :آنفلوآنزا یک بیماری تنفسی حاد وشدیداً مسری است که به وسیله ویروس RNA دار متعلق به خانواده ارتومیکسوویریده ایجاد می شود. این ویروس می تواند پرندگان و پستانداران را مبتلا کند. آنفلوآنزای مرغی یک عفونت و یا سندرمی است که توسط ویروس‌های آنفلوآنزا تیپ A ایجاد می‌شود. مخزن این بیماری پرندگان آبزی و مهاجر است و احتمال بروز این بیماری در هر منطقه وجود دارد. آنفلونزا میتواند از طریق تماس مستقیم یا از طریق فضولات یا ترشحات پرنده و یا بواسطه تماس با سطوح آلوده منتقل شود. برخی از سویه ها نظیر H9N2 آسیائی، حدت بیماریزائی نسبتاً بالائی برای ماکیان داشته و ممکن است علائم شدیدتر و مرگ ومیر بیشتری داشته باشند و موجب بروز نگهانی علائم شدید و ۱۰۰٪ مرگ در طی دو روز شوند.

لذا هدف از انجام این مطالعه، بررسی بیماری آنفلوانزا در مرغان بومی و ردیابی ویرس H9N2 در نمونه های اخذ شده از طیور به وسیله آزمایشات سرولوژیک بود.

روش بررسی : در مجموع تعداد ۳۰۸ نمونه مربوط به پرندگان با استفاده از آزمایش Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) و Alpha Acid Glycoprotein (AGP) مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته ها: در آزمایش ELISA، ۱۲۱ مورد (٦۰.۷٪) و در آزمایش AGP، ۱۵ مورد (۵.۸٪) از نمونه ها مثبت بودند.

نتیجه گیری :از آنجائی که بیماری با علائم خفیف می تواند تشخیص را مشکل سازد، لذا پیگیری انتشار آنفلوانزای مرغی، به تست های آزمایشگاهی نمونه های حاصل از پرندگان عفونی نیاز دارد.

واژه های کلیدی: آنفلوانزای مرغی، ویروس آنفلوآنزای H9N2، تشخیص سرولوژیک ، مرغان بومی

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

آنفلوانزا در سراسر جهان بصورت اپیدمی های فصلی منتشر و موجب مرگ بین ۲۵۰۰۰۰ تا ۵۰۰۰۰۰ نفر در هر سال می شود. بطور متوسط ٤١٤٠٠ نفر در هر سال در ایالات متحده آمریکا بین سال های ۱۹۷۹ تا ۲۰۰۱ در اثر آنفلوانزا فوت شده اند. سه پاندمی آنفلوانزا در قرن بیستم رخ داده و دهها میلیون نفر را کشته است، که هر سه پاندمی موجب بروز یک سویه جدید ویروس در انسان شده است. اغلب این سویه های جدید وقتی ظاهر می شوندکه ویروس از طریق سایر گونه های حیوانی به انسان انتشار یابند، یا زمانی که یک سویه انسانی موجود، ژن های جدیدی را از یک ویروسی که معمولا پرندگان یا خوک ها را مبتلا می کنند، کسب کند (۱).

ویروس های آنفلوانزا از ویروس های RNA دار هستند که سه جنس از پنج جنس خانواده اورتومیکسوویریده را تشکیل می دهند و مهمترین جنس آن Influenza A می باشد و پرندگان آبزی وحشی میزبان های طبیعی برای انواع زیادی از این ویروس هستند. معمولا ویروس ها به سایر گونه ها منتقل می شوند و ممکن است موجب شیوع های ویران کننده در مرغان بومی شده و یا پاندمیهائی را در انسان ایجاد کنند. تیپ ویروس های A بیماری زاترین پاتوژن های انسانی در بین سه تیپ آنفلوانزا بوده و بیماری های شدیدتری ایجاد می کنند. ویروس آنفلوانزای A می تواند بر اساس پاسخ آنتی بادی به این ویروس ها به سروتیپ های مختلفی تقسیم شود(۲).

ویروس آنفلوانزایA دو گلیکوپروتئین اصلی سطحی بنام هماگلوتینین (HA) و نورآمینیداز (NA) دارد و در حال حاضر ١٦ ساب تیپ هماگلوتینین (H1-H16) و ۹ ساب تیپ نورآمینیداز (N1-N9) از ویروس شناسائی شده اند. سروتیپ هائی که در انسان تایید شده اند بر اساس ترتیب مرگ های پاندمیک شناخته شده در انسان عبارتند از:

H1N1, H2N2, H3N2, H5N1, H7N7, H1N2, H9N2, H7N2, H7N3, H10N7

یک سویه مرغی بنام H5N1 بعد از پدیدار شدن در آسیا در دهه ۱۹۹۰، موجب بروز یک پاندمی جدید از آنفلوانزا شد، اما هنوز شکلی از ویروس که به راحتی بتواند بین مردم انتشار یابد را ایجاد نکرده است(۱).

در آوریل ۲۰۰۹ یک سویه آنفلوانزای جدید که ژن های ترکیبی از آنفلوانزای انسان، خوک و پرنده داشت و بنام آنفلونزای خوکی (Swine flu) و نیز بنام آنفلوانزای A/H1N1 نامیده شد، در مکزیک، ایالات متحده آمریکا و چند کشور دیگر بروز کرد(۳).

در ایران نظیر بسیاری از دیگر کشورهای آسیائی مثل پاکستان، چین، عربستان سعودی و کره بعد از شناسائی اولیه ویروس آنفلوانزای مرغی H9N2 در سال ۱۹۹۸، ویروس در کشور بصورت اندمیک در آمد. ایزوله های این ویروس در مزارع ماکیان تقریبا در تمام کشور شیوع داشته و تمام ویروس های ساب تیپ H9N2 از جوجه های واکسینه شده و نشده، جدا گردیده است. ویروس H9N2 به عنوان یک ویروس با قدرت بیماری زائی پائین در شرایط تجربی مشخص گردیده است، اگرچه مرگ و میر بالای ٦٠٪ در وضعیت های میدانی از ایران و همچنین برخی از کشورهای آسیائی خاور میانه مانند پاکستان گزارش شده است. بسیاری از عوامل خطر که ممکن است مسوول میزان بالای مرگ ومیر توسط ویروس آنفلوانزای مرغی H9N2 با قدرت بیماری زائی پائین باشند، شناسائی و گزارش شده اند، که این مسئله برای بهبود روش های کنترل موجود، ضروری است (٤).

ویروس‌های آنفلوانزای مرغی H9N2 به طور گسترده ای در مرغان در کشورهای آسیا اروپائی از اوایل دهه ۱۹۹۰ پیشگیری شده اند. اگر چه ویروس ها عمدتا فقط بیماری خفیف تا متوسط ایجاد می کنند، اما می توانند در نتیجه همراهی عفونت با سایر پاتوژن ها، باعث ابتلا و مرگ و میر بالا شوند، این یافته مشخص می کند که ویروس آنفلوانزای مرغی می تواند در دامنه وسیعی از میزبانها، ار آبزیان تا پستانداران گسترش یابد(۵).

ویروس های H9N2 اخیرا طی ١٩٩٤ تا ۱۹۹۹ مسووءل شیوع هائی از بیماری در مرغان در سایر قسمت های دنیا شامل کشورهای اروپائی(آلمان، ایتالیا و ایرلند)،

Archive of SID

www.SID.ir

کشورهای خاور میانه(ایران، پاکستان و عربستان سعودی)، ایالات متحده و آفریقای جنوبی بوده اند(٦).

برای هر دوره همه‌گیری آنفلوآنزای طیور در گونه‌های اهلی ، میزان مستند و دقیق شیوع قابل تعیین است، ولی بهرحال شیوع و انتشار غیر قابل پیش‌بینی است. در پرندگان مهاجر ویروس در بدن آنها ذخیره می‌شود و تکثیر در داخل روده بوده و انتقال آن به دیگر انواع پرندگان یکی از راههای مهم انتقال محسوب می‌شود. از میزان شیوع و پخش این بیماری ، می توان به گستردگی انتشار و میزبانان آن اشاره کرد. در تمام دنیا پرندگان اهلی و وحشی شامل بوقلمون، مرغ، اردک، غاز، بلدرچین، قرقاول، مرغ گینه، کبک خاکستری و در گونه‌های وحشی اردک و غازوحشی، مرغ مهاجر ساحلی، چلچله دریائی، قو، پرندگان دریائی پرواز کننده نزدیک امواج ، حواصیل، مرغ دریائی از خانواده پنگوئن و مرغ نوروزی درگیر این ویروس می‌باشند. ویروس آنفلوآنزا از پرندگان زینتی شامل مینا، طوطی کوچک دم دراز طوطی ،کاکل سفید، فنچ، شاهین و مرغ جولا نیز جدا شده است. در میان این پرندگان در گنجشک‌ها ویروس آنفلوآنزا نسبتاً بیشتر دیده می‌شود و در گزارشاتی انتقال ویروس از پرندگان ضعیف و بیمار به گنجشک آورده شده است(۷). در این مطالعه، هدف بررسی سرولوژیکی بیماری آنفلوآنزا در مرغان بومی مناطق مجاوردریا و تالاب های استان گلستان ،تعیین میزان گسترش این نوع آنفلوآنزا بود.

مواد و روش کار

تعداد ۳۰۸ نمونه صورت سوآپ کلوآک، نای و نمونه خونی گرفته شد. نمونه‌گیری از گلوگاه، بندر گز، گز، باغو کناره، بندر ترکمن، دهنه ۲، گمیشان و روستای قره شور گالیکش صورت گرفت. ابتدا تمام نمونه ها تحت آزمون ELISA و سپس جهت تعیین تیپ، تحت آزمون AGP قرار گرفتند.

نحوه تهیه آنتی‌ژن آنفلوآنزای تیپ A جهت آزمون AGP و ELISA:

سویه ویروس آنفلوآنزای پرندگان (H9N2) /IRAN A / CHICKEN / 259 / 1998 جدا شده در بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های طیور موسسه رازی مطابق روش استاندارد به تعدادی تخم مرغ جنین‌دار ۱۱-۹ روزه از راه حفره آلانتوئیک تزریق و پس از حذف تلفات جنینی ٢٤ ساعت اول ، مایع آلانتوئیک تلفات جنینی بالاتر از ٢٤ ساعت جمع آوری گردید. با افزودن اسید کلریدریک به مایع آلانتوئیک حاوی ویروس ، PH به حد ٤-٣/٥ تقلیل یافته و پس از سرد کردن مایع و سانتریوفوژ با دور پایین به رسوب حاصل بافرگلیسین سارکوسیل اضافه شد.

نحوه انجام آزمون ELAISA:

روش الیزای غیر مستقیم با استفاده از کیت KPL (SYNBIOTICSCORPORATION .USA) انجام شد. کیت الیزا حاوی پلیت ، نمونه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی مایع رقیق کننده (Dilution buffer)، محلول شست و شو – کونژوگه (آنتی‌گلوبین ضد جوجه متصل به آنزیم) stop solution و سوبسترا بود.

طی دو مرحله ابتدا توسط بافر رقیق کننده از سرم‌های مورد آزمایش، رقت یک درصد تهیه و سپس بر اساس مدل نمونه‌های مشکوک، کنترل‌های مثبت و کنترل‌های منفی ۸ کاناله در کوتاه‌ترین زمان با میکروپیپت اضافه و سپس در شرایط آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شدند.

محتویات چاهک‌ها بدون مخلوط شدن آنها با یکدیگر تخلیه و سپس تمامی چاهک‌ها با ۳۰۰ میکرولیتر بافر شست و شو به ازاء هر چاهک ۳ مرتبه و هر بار به مدت ۳ دقیقه ، پر و خالی شدند . برای خشک کردن میکروپلیت‌ها چندین بار از یک کاغذ خشک کن استفاده شد.

مرحله بعد کونژوگه که علیه IgG مرغ در بز تهیه شده بود به نسبت یک هزارم در بافر رقیق کننده رقیق و به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به چاهک‌ها افزوده شد ، سپس به مدت ۳۰ دقیقه میکروپلیت در دمای آزمایشگاه قرار گرفت. درمرحله چهارم تخلیه، شست و شو و خشک کردن میکروپلیت همانند مرحله دوم انجام شد. سپس به میزان ۱۰۰ میکرولیتر سوبسترا به هر چاهک اضافه شد و میکروپلیت به مدت ۱۵ دقیقه در حرارت آزمایشگاه و در تاریکی قرار

Archive of SID

www.SID.ir

گرفت . در این مرحله سعی شد در کوتاه‌ترین زمان ممکن سوبسترا به پلیپ اضافه شـود . **به منظور توقف واکـنش،** ۱۰۰ میکرولیتر اسید سولفوریک۲.۵ مولار(محلول متوقـف کننده) به هر چاهک اضافه گردیـد و میـزان جـذب نـوری (OD) در طول موج ٤٠٥ نانومتر خوانده و نتایج ثبت شد.

محاسـبه میـزان SP و عیـار نمونـه هـا بـا اسـتفاده از فرمول‌های زیر در رایانه گردید.

(میانگین جذب نوری کنترل منفـی) – (میـانگین جـذب نـــــــوری نمونـــــــــه ســـــــــرمی) = SP

$$A = \log 10^{titer} = (1.494 \times \log 10^{sp}) + 3.197$$

Titer = Anti log A = عیار نمونه

نحوه انجام آزمون AGP

ابتدا ژل آگارز دیفیوژن تهیه گردید به این ترتیب که 0.1 گرم آزید سدیم (NaN_3) به همراه ۸ گرم NaCl و ۱ گرم آگار نوبل را در 100 میلی لیتر آب مقطر مخلوط و ۱۵ دقیقه در ۱۲۰ درجه سانتیگراد و فشار ۱۵ پوند در اتوکلاو استریل گردید، سپس با سود ۰.۱ نرمال، PH آن تنظیم و در ۵ پتری دیش تقسیم گردید. هر پتری دیش برای حدود ۲٤ نمونه بود. پس از بسته شدن آگار با کمک قالب فلزی (Punch) ، یک گوده مرکزی و ٦ گوده محیطی با قطر ۵ میلی متر و فاصله ۳ میلی متر از یکدیگر در اطراف آن ایجاد شد . در گوده مرکزی ۵۰ میکرولیتر آنتی‌ژن و در گودههای محیطی اطراف، سرم‌های مشکوک به آنفلوآنزای تیپ A و نیز نمونه کنترل به میزان ۵۰ میکرولیتر ریخته و پلیت‌ها در دمای اتاق در محفظه مرطوب نگهداری شدند. در صورت مثبت بودن پس از ۲٤–۱۸ ساعت خط رسوبی در حد فاصل گودههای آنتی‌ژن و آنتی‌بادی مشاهده می‌گردید. برای عدم از بین رفتن خط های رسوبی بر روی پلیت ها PBS ریخته شد.

نتایج:

نتایج حاصل از پژوهش در جداول ۱ و ۲ مشاهده می گردد.

در بررسی صورت گرفته از کل ۳۰۸ نمونه ، ۱۲۱ مورد (۳۹/۳٪) از لحاظ تیپ A در آزمون الیزا مثبت و ۱۸۷ مورد(٦۰/۷٪) از لحاظ تیپ A منفی شدند. ضمنا در آزمون AGP، ۱۸ مورد (۵/۸٪) از لحاظ تیپ A مثبت و ۲۹۰ مورد (۹٤/۲٪) از لحاظ تیپ A منفی شدند.

جدول ۱– توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی پرندگان بومی به تیپ A آنفلوانزا برحسب نتایج ELISA و محل نمونه برداری

نام روستا یا شهر	نتیجه الیزا					
	مثبت و مشکوک		منفی		جمع	
شهرگالیکش	۳۳	٪۵۵	۲۷	٪٤۵	٦۰	٪۱۰۰
شهر گمیشان	۱۳	٪۵۲	۱۲	٪٤۸	۲۵	٪۱۰۰
روستای باغو کناره	۱۸	٪٤۸/٦	۱۹	٪۵۱/٤	۳۷	٪۱۰۰
شهر بندر گز	۹	٪۵٦/۳	۷	٪٤۳/۸	۱٦	٪۱۰۰
شهر بندر ترکمن	۹	٪۳۲/۱	۱۹	٪٦۷/۱	۲۸	٪۱۰۰
شهر گلوگاه	۲۳	٪۲۷/۱	٦۲	٪۷۲/۹	۸۵	٪۱۰۰
روستای گز	۱٦	٪۲۸/۱	٤۱	٪۷۱/۹	۵۷	٪۱۰۰
جمع	۱۲۱	٪۳۹/۳	۱۸۷	٪٦۰/۷	۳۰۸	٪۱۰۰

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی پرندگان بومی به تیپ A آنفلوانزا برحسب نتایج AGP و محل نمونه برداری

نام روستا یا شهر	نتیجه AGP					
	مثبت		منفی		جمع	
شهرگالیکش	٤	٪٦/٧	٥٦	٪٩٣/٣	٦٠	٪ ١٠٠
شهر گمیشان	١	٪٤	٢٤	٪٩٦	٢٥	٪ ١٠٠
روستای باغو کناره	٧	٪١٨/٩	٣٠	٪٨١/١	٣٧	٪١٠٠
شهر بندر گز	١	٪٦/٣	١٥	٪٩٣/٨	١٦	٪١٠٠
شهر بندر ترکمن	٠	٠	٢٨	٪١٠٠	٢٨	٪ ١٠٠
شهر گلوگاه	٤	٪٤/٧	٨١	٪٩٥/٣	٨٥	٪١٠٠
روستای گز	١	٪١/٨	٥٦	٪٩٨/٢	٥٧	٪١٠٠
جمع	١٨	٪٥/٨	٢٩٠	٪٩٤/٢	٣٠٨	٪١٠٠

بحث:

بیماری های عفونی نوپدید یکی از عوامل اصلی مرگ و میر در سراسر جهان هستند. شیوع اخیر ویروس های آنفلوانزا یکی از مسائل مورد توجه جهانی بواسطه افزایش تعدادمرگ ومیرها در بین ماکیان و نیز افزایش موارد انسانی است(۸).

در دهه اخیر شیوع مکرر ویروس آنفلوانزای مرغی H9N2 موجب مرگ و میر بالای جوجه های گوشتی در ایران و برخی دیگر از کشورهای آسیائی و در نتیجه خسارات بزرگ اقتصادی شده است و هیچ توضیح مشخصی در مورد دلیل اختلاف مرگ و میر وشدت تظاهرات بالینی بین القاء بیماری در شرایط میدانی و تجربی وجود ندارد، یکی از توصیف های احتمالی می تواند بواسطه ایجاد عفونت مختلط ویروس H9N2 با دیگر عوامل بیماری زای تنفسی باشد. به طوری که در مطالعات حقیقت جهرمی و همکاران عفونت هم زمان ویروس (H9N2 AIV) و واکسن زنده برونشیت عفونی (IBLV, Infectious Bronchitis Live Vaccine)مشاهده گردید که منجر به تشدید علائم بالینی آنفلوانزای مرغی و پیشرفت ضایعات و حتی مرگ پرندگان عفونی شد(۹).

توانائی ویروس های H5N1 و H9N2 برای عفونت مستقیم در انسان به اثبات رسیده است. برخلاف ویروس های H5N1، ویروس های H9N2 به طور گسترده در ماکیان بومی حضور داشته و بنابراین می تواند یک منبع بالقوه عفونت انسانی و احتمالا یک سویه جدید پاندمیک باشد. ویروسی با توانائی انتقال بین انسان ممکن است ناشی از موتاسیون ژنوم ویروس H9N2 و یا بواسطه تعامل مکرر ویروس بین انسان و ماکیان باشد(۱۰).

با توجه به اهمیت فوق العاده موضوع از نظر وجود بیماری در مرغان بومی و نیز خطر انتقال بیماری به انسان و عوارض فراوان ناشی از ابتلا اعم از عوارض جسمی، روانی، اجتماعی، اقتصادی و حتی سیاسی بر آن شدیم تا بررسی سرولوژیکی از وضعیت ویروس آنفلوانزای مرغی H9N2 در مرغان بومی استان گلستان انجام دهیم.

نتایج حاصل نشان می دهد که در آزمایش الیزا، ۱۲۱ نمونه (۳۹.۳٪) از نظر وجود ویروس مثبت بودند که می تواند

Archive of SID

www.SID.ir

نشانگر اهمیت بررسی راهکارهای دقیق تر و تعیین استراتژی های به منظور جلوگیری از انتقال و شیوع بیماری باشد.

اولین جداسازی ساب تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزای مرغی در سال ۱۹٦٦ در ایالات متحده آمریکا و سپس در آمریکای شمالی بود که عمدتا در پرستوها و مرغابی های وحشی پیدا شد. بر خلاف آن، در آسیا ویروس های H9N2 آندمیک بوده و از مرغان بومی در بسیاری از کشورها جدا شده است. اهمیت بیشتر ویروس های H9N2 به دلیل امکان انتقال از مرغان زمینی به پستانداران از جمله انسان می باشد. بیماری خفیف تنفسی در انسان در سال ۱۹۹۹ در هنگ کنگ و چین و مجددا در سال ۲۰۰۳ در هنگ کنگ گزارش شد. بعلاوه حداقل دو مورد از عفونت خوکها با H9N2 در سال ۱۹۹۸ و ۲۰۰٤ رخ داد. به طور قابل توجه، برخی از سویه های H9N2 منتشره رایج، ویژگی مشابه با گیرنده های انسانی را کسب نموده و اخیرا مشخص شده است که لوسین در موقعیت ۲۲٦ در محل اتصال گیرنده ویروس های H9N2، به این ویروس ها اجازه می دهد فنوتیپی مشابه ویروس آنفلوانزا در سلولهای هوائی اپی تلیال را در انسان نمایش دهند. تا به امروز مکانیسم تطابق و انتقال داخل گونه ای ویروس های H9N2 به طور ناچیزی شناسائی شده است و اطلاعات کسب شده، نشان می دهد که در بین مرغان زمینی، بلدرچین نقش بسیار مهمی را در ژنزیس ویروس های آنفلوانزا بازی می کند. قبلا مشخص شده که بلدرچین محیطی را ایجاد می کند که اغلب ساب تیپ های آنفلوانزا به ویژه در دستگاه تنفس، قابل تکثیرند. همچنین ویروس های آنفلوانزای مرغی و انسانی در بلدرچین توزیع گسترده ای داشته و لذا بلدرچین نقش مهمی را به عنوان میزبان واسط بازی کرده و اجازه تطابق ویروس های آنفلوانزا را از پرندگان آبزی وحشی و تولید ویروس های متغیر که می توانند به دیگر گونه ها نظیر جوجه، خوک یا انسان منتقل شوند را می دهد(۱۱)

در هفت شهر یا روستای مورد آزمایش میزان مثبت بودن آزمایش، به لحاظ تعداد متفاوت نمونه ها، شرایط نگهداری و سایر موارد متفاوت بود . ویروس‌های آنفلوآنزای A از انسان، خوک، اسب و انواع پستانداران دریایی و طیف وسیعی از پرندگان اهلی و وحشی شامل اردک، غاز، چلچله، پرنده دریایی، مرغ نوروزی، بوقلمون ، ماکیان، بلدرچین و قرقاول جدا شده است. ویروس‌های جدا شده از پرندگان مهاجر آبزی بخصوص اردک‌ها از بوقلمون‌های سفید اهلی و جوجه‌ها بیشتر است. ویروس‌های آنفلوآنزا همچنین از پرندگان داخل قفس از جمله : مینا، طوطی دم دراز، طوطی کاکل‌دار، مرغ بافنده، سهره، قوش (بازشکاری) جدا شده است. این پرنده‌ها اغلب در قرنطینه نگهداری می‌شوند و عفونت‌های مهم در این پرندگان هنوز واضح نیست. تعیین میزان شیوع نیز تحت تأثیر برخی از همین عوامل قرار می‌گیرد. لذا تعیین ارزیابی دقیق شیوع مشکل است زیرا سیستم‌های نظارتی و تولیدکننده‌ها با هم متفاوتند. در هر همه‌گیری آنفلوآنزای طیور در یک گونه اهلی شیوع آن را می‌توان به طور تئوری ارزیابی کرد، لیکن شیوع و پراکندگی واقعی آن قابل پیشگیری نیست.

شیوع آنفلوانزای در سال ۱۹۹۷ در هنگ کنگ که به وسیله ویروس های آنفلوانزای مرغی H5N1 ایجاد شد، مشخص کرد که ویروس های آنفلوانزای منتشر در مرغان، توانائی تبدیل به ویروس های جان گیر در انسان را دارند. این فرضیه موقعی تقویت شد که موارد اخیر عفونت انسان به وسیله ویروس های H9N2 در ایالت گوانگ چین و در هنگ کنگ مشاهده گردید. بررسی مشخصات ژنتیک ویروس جدا شده از انسان در هنگ کنگ، ارتباط نزدیکی بین این ایزوله و ویروس های مرغی H9N2 جدا شده از بازارهای فروش پرنده زنده در هنگ کنگ را نشان داد(۱۲).

به نظر می‌رسد که ممکن است ویروس‌ها در گله اردک‌های وحشی بوسیله پاساژ در پرندگان حساس حتی در یک سطح پایین در تمام مدت سال تا فصل تولیدمثل بعضاً خود را حفظ نموده تا در موقع مناسب در یک گروه حساس جوان ظاهر شود. در اثر دفع مقادیر بالای ویروس از مدفوع، آب دریاچه یا حوضچه به شدت آلوده شده و امکان انتقال به سهولت فراهم می‌شود. مطالعات اخیر روی پرندگان ساحلی مانند بلوه و مرغ نوروزی نشان داده که آنها یک مخزن مهم ویروس هستند. درگیری پرندگان

Archive of SID

www.SID.ir

وحشی بخصوص پرندگان آبزی با ویروس‌های آنفلوآنزا لزوم توجه تولیدکننده‌های پرندگان اهلی تجاری در جداسازی بین پرندگان اهلی وحشی را نشان می‌دهند.

در ایران سال ۱۳۳۲ بیماری بسیار واگیر در مرغداری‌های اطراف تهران بروز کرد که به‌علت عدم امکانات آزمایشگاهی و با توجه به روند بیماری و کالبد گشایی طاعون مرغی تشخیص داده شد. شناسایی بیماری در اوایل تیرماه سال ۱۳۷۷ انجام گردید. تشخیص نهایی بر مبنای شناسایی ویروس‌های جدا شده از نمونه‌های بافت‌های آسیب دیده طیور مبتلا توسط مرکز تشخیص C.V.L واقع در دانشگاه Weybrige در کشور انگلستان صورت پذیرفت. ویروس جدا شده از تیپ A ویروس های آنفلوآنزا و تحت تیپ H9N2 تشخیص داده شد. تحت تیپ H9N2 جدا شده از ایران در آزمایشات تعیین حدت، با بیماریزایی نه چندان زیاد شناخته شده است، ولی در عین حال این ویروس می‌تواند با همکاری سایر باکتری‌های بیماریزای طیور نظیر کلی باسیل ، ORT و مایکوپلاسماها و ابتلا گله به سایر بیماری‌های با منشأ ویروسی که تمایل به دستگاه تنفسی داشته باشند به طور کمپلکس ایجاد کاهش تولید و تلفات کنند (۱۳،۱٤). بیماری ابتدا در استان‌های تهران، قم، قزوین و سپس خراسان و اصفهان شایع شد و در سال دوم بیشتر استان های کشور را در برگرفت. سال ۱۳۸۰ عابدینی و همکاران گزارش نمودند که جهت بررسی وضعیت آنفلوآنزا در استان آذربایجان غربی از ٤۸۵ نمونه مربوط به طیور تخمگذار، آزمایش HI بعمل آوردند که همگی منفی بودند. در کلینیک دامپزشکی دانشگاه کرمان در سال ۱۳۸۰ گزارش نمودند که با استفاده از آزمایش HI به این نتیجه دست یافتند که ۳۳ درصد مشکلات مرغداری‌هایی که نمونه به کلینیک آوردند، مربوط به درگیری قطعی ویروس آنفلوآنزا بودند. بهفر و همکاران سال ۱۳۸۰ از ۲۱ واحد مرغ گوشتی در چهار فصل مختلف در خوی خونگیری نمودند که با آزمایش HI همگی منفی بودند (۱٤). در بررسی مقایسه نتایج دو آزمایش AGP و ELISA ،همانگونه که مشاهده می گردد تنها تعداد ۳ نمونه (۱٪) در دو آزمایش مثبت و تعداد ۱۷۲ نمونه (۵۵/۸٪) منفی بودند. بنابراین میزان هم خوانی و همبستگی دو آزمایش AGP و ELISA (۵٦/۸٪) محاسبه گردید. تعداد ۱۵ نمونه در آزمایش AGP مثبت و در آزمایش ELISA منفی بودند. در حالی که تعداد ۱۱۸ نمونه در آزمایش ELISA مثبت و مشکوک بودند، که در آزمایش AGP منفی بودند. بنابراین بین نتایج بدست آمده از دو آزمایش فوق ۱۳۳ نمونه (٤۳/۲٪) هم خوانی وجود نداشت.

ساب تیپ H9N2 در مرغان بومی بسیاری از کشورهای آسیائی و خاورمیانه از اواخر دهه ۱۹۹۰ پیشگیری شده اند و علیرغم پائین بودن قدرت بیماری زائی ویروس های H9N2، این ویروس ها می توانند بیماری شدید تنفسی، میزان بالای ابتلا و مرگ ومیر و نیز کاهش مشخص در تولید تخم را به همراه داشته باشند(۱۵).

نتیجه گیری :

با توجه به توانائی بالقوه این ویروس ها در ایجاد بیماری شدید و افزایش میزان مرگ و میر و نیز بروز خسارات اقتصادی، جداسازی و تشخیص دقیق ویروس های آنفلوانزا در مرغان بومی و نیز انسان و سایر میزبان های مرتیط الزامی می باشد. عدم‌کنترل دقیق بر قرنطینه‌های استانی، عدم همکاری بعضی افراد در معدوم‌سازی پرندگان و اقدام به پنهان نمودن آنها ، بی‌برنامگی در معدوم‌سازی پرندگان در مواقع خطر، عدم حمایت لازم و هزینه نکردن از سوی دولت و برخی مسئولان، بی‌توجهی افراد به هشدارهای ادارات و سازمان‌های ذیربط در مورد صید و فروش پرندگان زنده و مهاجر مبین رعایت قوانین دقیق و قاطعانه‌تری نسبت به کنترل آنفلوآنزا و برخورد شدید با متخلفین می‌باشد و به نظر می‌رسد که سیاست کشتار و معدوم‌سازی پرندگان آلوده و در معرض خطر جهت نابود کردن کانون بیماری ضروری‌ترین و بهترین راه می‌باشد. بررسی‌ها نشان داد که در کشور ما سویه آنفلوآنزای حاد مرغی وارد شده ولی هنوز تلفات و خسارات سنگین ناشی از بیماری هنوز گزارش نشده است. در تلفات سنگینی که سال ۸٤ در رود ارس در پرندگان مهاجر داشتیم گمان بر این بود که آنفلوانزای حاد مرغی عامل این تلفات سنگین باشد که پس از آزمایشات مشخص شد که عامل تلفات،

Archive of SID

www.SID.ir

بوتولیسم بوده است. فرضیه دیگری که اینجا شکل گرفته احتمال حضور تحت تیپ یا تحت تیپ‌های دیگر در کشور و منطقه می‌باشد که هنوز دلیل قاطعی بر قبول و یا رد این فرضیه وجود ندارد و نیازمند تحقیقات جهت اثبات این فرضیه می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از کمک وحمایت سازمان دامپزشکی و اداره کل دامپزشکی استان گلستان و موسسه سرم و واکسن سازی رازی کمال تقدیر و تشکر دارد.

فهرست منابع :

1-Dushoff J, Plotkin JB, Viboud C, Earn DJ, Simonsen L. "Mortality due to Influenza in the United States - An Annualized Regression Approach Using Multiple-Cause Mortality Data". *American Journal of Epidemiology* 2006; **163** (2): 181–7.

2-Hay A, Gregory V, Douglas A, Lin Y. The evolution of human influenza viruses". *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2001; **356** (1416): 1861–70.

3-World Health Organization. World now at the start of 2009 influenza pandemic.
http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_pandemic_phase6_20090 611/en/index.html.

4-Karimi-Madab M, Ansari-Lari M, Asasi K, Nili H. Risk factors for detection of bronchial casts, most frequently seen in endemic H9N2 avian influenza infection, in poultry flocks in Iran. *Preventive veterinary medicine* 2010; **95**(3-4): 275-80.

5-Deng G, Bi J, Kong F, Li X, Xu Q, Zhao L, *et al.* Acute respiratory distress syndrome induced by H9N2 virus in mice. *Archives of virology* 2010; **155**(2): 187-95.

6-Cameron KR, Gregory V, Banks J, Brown IH, Alexander DJ, Hay AJ, *et al.* H9N2 subtype influenza A viruses in poultry in Pakistan are closely related to the H9N2 viruses responsible for human infection in Hong King. *Virology* 2000; **278**(1): 36-41.

۷- بخشی نژاد شمسائی ز. ارزیابی تست های سرولوژیکی مختلف در تشخیص آنفلوانزای طیور. یازدهمین کنگره دامپزشکی ایران 1380.

8-Rajik M, Jahanshiri F, Omar AR, Ideris A, Hassan SS, Yusoff K. Identification and characterisation of a novel anti-viral peptide against avian influenza virus H9N2. *Virology Journal* 2009; 6: 74.

9-Haghighat-Jahromi M, Asasi K, Nili H, Dadras H, Shooshtari AH. Coinfection of avian influenza virus (H9N2 subtype) with infectious bronchitis live vaccine. *Archives of Virology* 2008; **153**(4): 651-55.

10-Lu X, Renshaw M, Tumpey TM, Kelly GD, Hu-Primmer J, Katz JM. Immunity to Influenza A H9N2 Viruses Induced by Infection and Vaccination. *J Virol* 2001; **75**(10): 4896–4901.

11-Hossain MJ, Hickman D, Perez D. Evidence of expanded host range and mammalian- associated genetic changes in a Duck H9N2 influenza virus following adaptation in Quail and Chickens. *PloS ONE* 2008; **3**(9):e3170.

12-Motrosovich M, Krauss S, Webster RG. H9N2 influenza viruses from poultry in Asia have human virus receptor specificity. *Virology* 2000; **281**(2):156-62.

۱۳-گودرزی ح ، بنائی م ، حسن زاده م ، پوربخش س ع. بررسی سرولوژیکی بیماری آنفلوانزا در مرغداری های گوشتی استان تهران. یازدهمین کنگره دامپزشکی 1380.

Archive of SID

www.SID.ir

۱٤- پورغفور لنگرودی پ. بررسی آنفلوانزای طیور در مرغداری های تجاری استان گلستان. سازمان تحقیقات و آموزش کشاورزی.۱۳۸۳. صص ، ۲ تا ۱۲.

15-Iqbal M, Yaqub T, Reddy K, McCauli JW. Novel genotypes of H9N2 influenza A viruses isolated from poultry in Pakistan containing NS gene similar to highly pathogenic H7N3 and H5N1 viruses. *PloS ONE* 2009; **4**(6):e5788.

Archive of SID

www.SID.ir