

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

سروش خادمیان\*، منصور بیات\*\*، علیرضا عزیزی سراجی\*\*\*، شهروز قادری\*\*\*\*،  
محمد علی ضیاء\*\*\*\*\*، شهناز بهشتی\*\*\*\*\*

<sup>1</sup> دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار  
<sup>2</sup> متخصص قارچ شناسی دامپزشکی، استادیار گروه قارچ شناسی پزشکی و دامپزشکی و دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران  
<sup>3</sup> کارشناس علوم آزمایشگاهی دامپزشکی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران  
<sup>4</sup> متخصص قارچ شناسی دامپزشکی، استادیار گروه قارچ شناسی و انگل شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان  
<sup>5</sup> 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 همراه ۰۹۱۳۳۰۹۴۸۵۲، فاکس ۰۳۱۱۲۳۰۲۸۶۶  
Email: zia.mohammadali@gmail.com

### چکیده:

**زمینه و اهداف:** آنفلوآنزا یک بیماری تنفسی حاد و شدیداً مسری است که به وسیله ویروس RNA دار متعلق به خانواده ارتومیکسویریده 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 آبی 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 سویه‌ها نظیر H9N2 آسیائی، حدت بیماریزائی نسبتاً بالائی برای ماکیان داشته و ممکن است علائم شدیدتر و مرگ و میر بیشتری داشته باشند و موجب بروز نگرانی علائم شدید و ۱۰۰٪ مرگ در طی دو روز شوند. لذا هدف از انجام این مطالعه، بررسی بیماری آنفلوآنزا در مرغان بومی و ردیابی ویرس H9N2 در نمونه‌های 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. یافته‌ها: در آزمایش ELISA، ۱۲۱ مورد (۶۰.۷٪) و در آزمایش AGP، ۱۵ مورد (۵.۸٪) از نمونه‌ها مثبت بودند. نتیجه گیری: از آنجائی که بیماری با علائم خفیف می تواند تشخیص را مشکل سازد، لذا پیگیری انتشار آنفلوآنزای مرغی، به تست‌های آزمایشگاهی نمونه‌های حاصل از پرندگان عفونی نیاز دارد.  
**واژه‌های کلیدی:** آنفلوآنزای مرغی، ویروس آنفلوآنزای H9N2، تشخیص سرولوژیک، مرغان بومی

## 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 ۴۱۴۰۰ 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 شوند که 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 کند، 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 آبی و 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 پاندمیهای 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 آنفلوانزای *A* دو گلیکوپروتئین اصلی سطحی بنام همآگلوتینین (*HA*) و نورآمینیداز (*NA*) دارد و در حال حاضر ۱۶ ساب تیپ همآگلوتینین (*H1-H16*) و ۹ ساب تیپ نورآمینیداز (*N1-N9*) از ویروس شناسایی شده اند. سروتیپ هایی 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 مرگی 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 آنفلوانزای 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 آسیایی مثل پاکستان، چین، عربستان سعودی و کره بعد از شناسایی اولیه ویروس آنفلوانزای مرگی *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 ۶۰٪ در وضعیت های میدانی از ایران و همچنین برخی از کشورهای آسیایی خاور میانه مانند پاکستان گزارش شده است. بسیاری از عوامل خطر که ممکن است مسوول میزان بالای مرگ و میر توسط ویروس آنفلوانزای مرگی *H9N2* با قدرت بیماری زائی پائین باشند، شناسایی و گزارش شده اند، که این مسئله برای بهبود روش های کنترل موجود، ضروری است (۴).

ویروس های آنفلوانزای مرگی *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 مرگی می تواند در دامنه وسیعی از میزبانها، از آبیان تا پستانداران گسترش یابد (۵).

ویروس های *H9N2* اخیرا طی ۱۹۹۴ تا ۱۹۹۹ مسوول شیوع هایی از بیماری در مرغان در سایر قسمت های دنیا شامل کشورهای اروپائی (آلمان، ایتالیا و ایرلند)،

سویه ویروس آنفلوآنزای پرندگان (H9N2) / IRAN / CHICKEN / 259 / 1998 جدا شده در بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های طیور موسسه رازی مطابق روش استاندارد به تعدادی تخم مرغ جنین‌دار ۹-۱۱ روزه از راه حفره آلتوتویک تزریق و پس از حذف تلفات جنینی ۲۴ ساعت اول، مایع آلتوتویک تلفات جنینی بالاتر از ۲۴ ساعت جمع‌آوری گردید. با افزودن اسید کلریدریک به مایع آلتوتویک حاوی ویروس، PH به حد ۴-۳/۵ تقلیل یافته و پس از سرد کردن مایع و سانتریفوژ با دور پایین به رسوب حاصل بافر گلیسین سارکوسیل اضافه شد.

#### نحوه انجام آزمون ELISA:

روش الیزای غیر مستقیم با استفاده از کیت KPL (SYNBIOTICSCORPORATION USA). انجام شد. کیت الیزا حاوی پلیت، نمونه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی مایع رقیق‌کننده (Dilution buffer)، محلول شست و شو - کونژوگه (آنتی‌گلوبین ضد جوجه متصل به آنزیم) stop solution و سوپسترا بود. طی دو مرحله ابتدا توسط بافر رقیق‌کننده 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 میکروپلیت 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 خشک‌کن استفاده شد.

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

کشورهای خاور میانه (ایران، پاکستان و عربستان سعودی)، ایالات متحده و آفریقای جنوبی بوده اند (۶).

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، می‌توان 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 مجاور دریا و تالاب‌های 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 نمونه‌ها تحت آزمون ELISA و سپس جهت تعیین تیپ، تحت آزمون AGP قرار گرفتند.

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

گرفت. در این مرحله سعی شد در کوتاه‌ترین زمان ممکن سوسترها به پلیپ اضافه شود. به منظور توقف واکنش، ۱۰۰ میکرولیتر اسید سولفوریک ۲.۵ مولار (محلول متوقف کننده) به هر چاهک اضافه گردید و میزان جذب نوری (OD) در طول موج ۴۰۵ نانومتر خوانده و نتایج ثبت شد. محاسبه میزان SP و عیار نمونه ها با استفاده از فرمول‌های زیر در رایانه گردید.

(میانگین جذب نوری کنترل منفی) - (میانگین جذب نوری نمونه) = SP

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

$$\text{Titer} = \text{Anti log } A = \text{عیار نمونه}$$

### نحوه انجام آزمون AGP

ابتدا ژل آگارز دیفیوژن تهیه گردید به این ترتیب که ۰.۱ گرم آزید سدیم (NaN<sub>3</sub>) به همراه ۸ گرم NaCl و ۱ گرم آگار نوبل را در ۱۰۰ 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 ۲۴ نمونه بود. پس از بسته شدن آگار با کمک قالب فلزی (Punch)، یک گوده مرکزی و ۶ گوده

محیطی با قطر ۵ میلی متر و فاصله ۳ میلی متر از یکدیگر در اطراف آن ایجاد شد. در گوده مرکزی ۵۰ میکرولیتر آنتی ژن 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 ۱۸-۲۴ ساعت خط رسوبی در حد فاصل گوده‌های آنتی ژن و آنتی بادی 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 می‌گردد.

در بررسی صورت گرفته از کل ۳۰۸ نمونه، ۱۲۱ مورد (۳۹/۳٪) از لحاظ تیپ A در آزمون الیزا مثبت و ۱۸۷ مورد (۶۰/۷٪) از لحاظ تیپ A منفی شدند. ضمناً در آزمون AGP، ۱۸ مورد (۵/۸٪) از لحاظ تیپ A مثبت و ۲۹۰ مورد (۹۴/۲٪) از لحاظ تیپ A منفی شدند.

### جدول ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی پرندگان بومی به تیپ A آنفلوآنزا

برحسب نتایج ELISA و محل نمونه برداری

نتیجه الیزا						نام روستا یا شهر
جمع		منفی		مثبت و مشکوک		
۱۰۰٪	۶۰	۴۵٪	۲۷	۵۵٪	۳۳	شهر گالیکش
۱۰۰٪	۲۵	۴۸٪	۱۲	۵۲٪	۱۳	شهر گمیشان
۱۰۰٪	۳۷	۵۱/۴٪	۱۹	۴۸/۶٪	۱۸	روستای باغو کناره
۱۰۰٪	۱۶	۴۳/۸٪	۷	۵۶/۳٪	۹	شهر بندر گز
۱۰۰٪	۲۸	۶۷/۱٪	۱۹	۳۲/۱٪	۹	شهر بندر ترکمن
۱۰۰٪	۸۵	۷۲/۹٪	۶۲	۲۷/۱٪	۲۳	شهر گلوگاه
۱۰۰٪	۵۷	۷۱/۹٪	۴۱	۲۸/۱٪	۱۶	روستای گز
۱۰۰٪	۳۰۸	۶۰/۷٪	۱۸۷	۳۹/۳٪	۱۲۱	جمع

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی آلودگی پرندگان بومی به تیپ A آنفلوآنزا بر حسب نتایج AGP و محل نمونه برداری

نتیجه AGP						نام روستا یا شهر
جمع		منفی		مثبت		
٪۱۰۰	۶۰	٪۹۳/۳	۵۶	٪۶/۷	۴	شهرگالیکش
٪۱۰۰	۲۵	٪۹۶	۲۴	٪۴	۱	شهر گمیشان
٪۱۰۰	۳۷	٪۸۱/۱	۳۰	٪۱۸/۹	۷	روستای باغو کناره
٪۱۰۰	۱۶	٪۹۳/۸	۱۵	٪۶/۳	۱	شهر بندر گز
٪۱۰۰	۲۸	٪۱۰۰	۲۸	۰	۰	شهر بندر ترکمن
٪۱۰۰	۸۵	٪۹۵/۳	۸۱	٪۴/۷	۴	شهر گلوگاه
٪۱۰۰	۵۷	٪۹۸/۲	۵۶	٪۱/۸	۱	روستای گز
٪۱۰۰	۳۰۸	٪۹۴/۲	۲۹۰	٪۵/۸	۱۸	جمع

## بحث:

آنفلوآنزای مرغی و پیشرفت ضایعات و حتی مرگ پرندگان عفونی شد (۹).

توانایی 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 احتمالاً یک سویه جدید پاندمیک باشد. ویروسی با توانایی 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 آنفلوآنزای 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

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

در دهه اخیر شیوع مکرر ویروس آنفلوآنزای 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 و شدت 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

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 ۱۹۶۶ در ایالات متحده آمریکا و سپس در آمریکای شمالی بود که عمدتاً 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 مجدداً در سال ۲۰۰۳ در هنگ کنگ گزارش شد. بعلاوه حداقل دو مورد از عفونت خوکها با H9N2 در سال ۱۹۹۸ و ۲۰۰۴ رخ داد. به طور قابل توجه، برخی از سویه های H9N2 منتشره رایج، ویژگی مشابه با گیرنده های انسانی را کسب نموده و اخیراً مشخص شده است که لوسین در موقعیت ۲۲۶ در محل اتصال گیرنده ویروس های H9N2، به این ویروس ها اجازه می دهد فنوتیپی مشابه ویروس آنفلوانزا در سلولهای هوایی اپی تلیال را در انسان نمایش دهند. تا به امروز مکانیسم تطابق و انتقال داخل گونه ای ویروس های H9N2 به طور ناچیزی شناسایی 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. قبلاً 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 آبی 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. ویروس های آنفلوانزای A از

انسان، خوک، اسب و انواع پستانداران دریایی و طیف وسیعی از پرندگان اهلی و وحشی شامل اردک، غاز، چلچله، پرندۀ دریایی، مرغ نوروزی، بوقلمون، ماکیان، بلدرچین و قرقاول جدا شده است. ویروس های جدا شده از پرندگان مهاجر آبی بخصوص اردکها از بوقلمون های سفید اهلی و جوجه ها بیشتر است. ویروس های آنفلوانزا همچنین از پرندگان داخل قفس از جمله: مینا، طوطی دم دراز، طوطی کاکل دار، مرغ بافنده، سهره، قوش (بازشکاری) جدا شده است. این پرندۀها اغلب در قرنطینه نگهداری می شوند و عفونت های مهم در این پرندگان هنوز واضح نیست. تعیین میزان شیوع نیز تحت تأثیر برخی از همین عوامل قرار می گیرد. لذا تعیین ارزیابی دقیق شیوع مشکل است زیرا سیستم های نظارتی و تولیدکننده ها با هم متفاوتند. در هر همه گیری آنفلوانزای طیور در یک گونه اهلی شیوع آن را می توان 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، توانایی 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 پرندۀ زنده در هنگ کنگ را نشان داد (۱۲).

به نظر می رسد که ممکن است ویروس ها در گله اردک های 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 می شود. مطالعات اخیر روی پرندگان ساحلی مانند بلوه و مرغ نوروزی نشان داده که آنها یک مخزن مهم ویروس هستند. درگیری پرندگان

بنابراین میزان هم خوانی و همبستگی دو آزمایش AGP و ELISA (۵۶/۸٪) 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 (۴۳/۲٪) 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 و میر 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 آنفلوآنزا در مرغان بومی و نیز انسان و سایر میزبان های مرتبط الزامی می باشد. عدم کنترل دقیق بر قرنطینه های استانی، عدم همکاری بعضی افراد در معدوم سازی پرندگان و اقدام به پنهان نمودن آنها، بی برنامه گی در معدوم سازی پرندگان در مواقع خطر، عدم حمایت لازم و هزینه نکردن از سوی دولت و برخی مسئولان، بی توجهی افراد به هشدارهای ادارات و سازمان های ذیربط در مورد صید و فروش پرندگان زنده و مهاجر مبین رعایت قوانین دقیق و قاطعانه تری نسبت به کنترل آنفلوآنزا و برخورد شدید با متخلفین می باشد و به نظر می رسد که سیاست کشتار و معدوم سازی پرندگان آلوده و در معرض خطر جهت ناپود کردن کانون بیماری ضروری ترین و بهترین راه می باشد. بررسی ها 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 ۸۴ در رود ارس در پرندگان مهاجر داشتیم گمان بر این بود که آنفلوآنزای حاد مرغی عامل این تلفات سنگین باشد که پس از آزمایشات مشخص شد که عامل تلفات،

وحشی بخصوص پرندگان آبی با ویروس های آنفلوآنزا لزوم توجه تولیدکننده های پرندگان اهلی تجاری در جداسازی بین پرندگان اهلی وحشی را نشان می دهند.

در ایران سال ۱۳۳۲ بیماری بسیار واگیر در مرغداری های اطراف تهران بروز کرد که به علت 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 ویروس های جدا شده از نمونه های بافت های 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 می تواند با همکاری سایر باکتری های بیماریزای طیور نظیر کلی باسیل، ORT و مایکوپلاسماها و ابتلا گله به سایر بیماری های با منشأ ویروسی که تمایل به دستگاه تنفسی داشته باشند به طور کمپلکس ایجاد کاهش تولید و تلفات کنند (۱۴، ۱۳). بیماری ابتدا در استان های تهران، قم، قزوین و سپس خراسان و اصفهان شایع شد و در سال دوم بیشتر استان های کشور را در بر گرفت. سال ۱۳۸۰ عابدینی و همکاران گزارش نمودند که جهت بررسی وضعیت آنفلوآنزا در استان آذربایجان غربی از ۴۸۵ 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 مرغداری هایی 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 (۱۴). 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.

## تشکر و قدردانی

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

بوتولسم 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.

## فهرست منابع :

۷- بخشی نژاد شمسانی 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, Shoostari 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.

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\\_20090611/en/index.html](http://www.who.int/mediacentre/news/statements/2009/h1n1_pandemic_phase6_20090611/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.



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.

۱۴- پورغفور لنگرودی پ. بررسی آنفلوآنزای 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