

## بررسی حضور آنتی بادی‌های سرمی ضد ویروس آنفلوانزای مرغی تحت

### تیپ H9N2 در جمعیت انسانی منطقه اردبیل

آیدین عزیزپور<sup>\*</sup>، سعید بکائی<sup>۲</sup>، نریمان شیخی<sup>۳</sup>، شهرام حبیب‌زاده<sup>۴</sup>

#### مقدمه

ویروس‌های خانواده ارتومیکسوویریده (ویروس‌های آنفلونزا) عامل عمده‌ای در ایجاد بیماری و مرگ و میر ناشی از بیماری تنفسی در جمعیت انسانی به شمار می‌روند. با توجه به این که تحت تیپ H9N2 عامل ایجاد بیماری آنفلونزای مرغی در جمعیت طیور ایران در چند سال اخیر بوده است. تاکنون مطالعه‌ای در راستای بررسی میزان شیوع سرمی ویروس آنفلونزای مرغی در جامعه انسانی به خصوص افراد مرتبط و غیر مرتبط با صنعت طیور منطقه اردبیل نشده بود. لذا این تحقیق جهت بررسی حضور آنتی بادی‌های سرمی ضد ویروس آنفلونزای مرغی تحت تیپ H9N2 در گروه‌های مختلف انسانی از اوایل آبان تا اوایل اسفند ماه سال ۱۳۸۸ انجام شده است. تعداد 311 نمونه سرم خون از دو گروه بیمار و سالم با جنس و رده‌های سنی مختلف شامل ۸۶ نمونه سرم خون بیماران با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان امام خمینی (ره)، ۸۰ نمونه سرم بیماران بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارستان، ۴۱ نمونه سرم دامپزشکان و واکسیناتورهای دامپزشکی، ۴۴ نمونه سرم پرسنل بهداشتی شاغل در بیمارستان و ۵۲ نمونه سرم مرغان و کارگران مرغانها و کشتارگاه‌های طیور جمع آوری گردید. عیار آنتی بادی‌های ضد ویروس آنفلونزای مرغی تحت تیپ H9N2 توسط آزمایش HI اندازه‌گیری شد. اطلاعات آماری با استفاده از نرم افزار آماری SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در گروه بیماران ۳۷/۲٪ با عیار سرمی ۱۰/۷۴±۲۲/۰۳ از افراد با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان و ۳۳/۹٪ با عیار سرمی ۱۰/۸۱±۲۱/۸۸ از افراد بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارستان مثبت بودند. در گروه سالم ۲۹/۳٪ با عیار سرمی ۱۰/۵۹±۲۱/۱۴ از دامپزشکان و واکسیناتورها و ۱۸/۲۲٪ با عیار سرمی ۱۰/۰۰±۲۰/۰۱ پرسنل بهداشتی شاغل در بیمارستان و ۱۵/۴٪ با عیار سرمی ۱۱/۳۵±۲۶/۰۲ از مرغان و کارگران مرغانها و کشتارگاه‌های طیور نسبت به تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلونزای A واکنش سرمی مثبت نشان دادند (HI titers  $\geq 1/20$ ). در گروه‌های بیمار و سالم بیشترین فراوانی واکنش مثبت سرمی در گروه سنی زیر ۳۰ سال (۲۶/۵٪) و جنس مردان (۲۷٪) و کمترین آن در گروه سنی ۴۶-۶۰ سال (۲۲/۴٪) و جنس زنان (۳۳/۶٪) به دست آمد که از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند ( $p < 0/05$ ). نتایج این مطالعه حاکی از تماس گروه‌های مختلف جمعیت انسانی با تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلونزا بود که این عفونت در بیماران با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان بیشتر مشاهده گردید، همچنین از لحاظ شغلی نیز در گروه سالم دامپزشکان و واکسیناتورها بیشترین موارد تماس را نشان دادند.

واژگان کلیدی: آنفلونزای مرغی، تحت تیپ H9N2، جمعیت انسانی، منطقه اردبیل

تاریخ دریافت: ۹۰/۸/۱۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲

<sup>۱</sup> دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، باشگاه پژوهشگران جوان، اردبیل، ایران. Aidin\_azizpour@yahoo.com

<sup>۲</sup> بخش اپیدمیولوژی و بیماریهای مشترک گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

<sup>۳</sup> گروه بیماریهای طیور، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران، ایران.

<sup>۴</sup> گروه بیماریهای عفونی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل، اردبیل، ایران.

سال ۱۳۸۸ جمع آوری گردید که گروه بیمار شامل ۸۶ نمونه سرم خون بیماران بستری در بیمارستان با عوارض تنفسی و ۸۸ نمونه سرم خون بیماران بستری در بیمارستان بدون عوارض تنفسی بودند. گروه سالم از جمعیت انسانی مرتبط و غیر مرتبط با صنعت طیور انتخاب گردید که شامل ۴۱ نمونه سرم خون دامپزشکان و واکسیناتورهای دامپزشکی، ۴۴ نمونه سرم خون پرسنل بهداشتی بیمارستان امام خمینی (ره) و ۵۲ نمونه خون مرغان و کارگران مرغانریها و کشتارگاه های طیور منطقه اردبیل بود. در مورد بیماران بستری در بیمارستان با مراجعه به بخشهای داخلی زنان، داخلی مردان و عفونی بیمارستان و پس از مطالعه پرونده های بیماران بستری شده در بیمارستان امام خمینی (ره) بیماران با عوارض تنفسی (که عمدتاً بدلائل پنومونی، تنگی نفس و COPD بستری شده بودند) و همچنین بیماران بدون عوارض تنفسی مشخص و پس از اخذ موافقت از بیماران به میزان ۳ سی سی از ورید بازویی آنها خونگیری به عمل آمد و در مورد سه گروه دیگر جمعیت انسانی یعنی پرسنل بهداشتی (عمدتاً پزشک، پرستار، کاردان آزمایشگاه و کمک بهیار شاغل در بخشهای ICU، داخلی زنان، اورژانس، آزمایشگاه، داخلی مردان و عفونی بودند)، دامپزشکان و واکسیناتورها (شاغل در بخشهای دولتی و خصوصی) و مرغان و کارگران مرغانریها و کشتارگاه های طیور با مراجعه حضوری و پس از اخذ موافقت آنها عملیات خونگیری با همان روش قبلی صورت گرفت. نمونه های خونی اخذ شده از گروه های مختلف مورد بررسی به داخل لوله آزمایش انتقال و بلافاصله به بخش آزمایشگاه بیمارستان امام (ره) ارسال می گردید که ابتدا نمونه ها به مدت یک ساعت دردمای آزمایشگاه نگهداری تا در لوله ها لخته تشکیل شود و سپس لوله ها به مدت ۱۲ ساعت در یخچال ۴ درجه سانتیگراد نگهداری و لخته نیز به کمک میله شیشه ای از جدار لوله جدا و با سرعت ۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می شدند و پس از جداسازی سرم حدود یک میلی لیتر از نمونه سرم افراد مورد نظر به لوله های اپندورف ۱/۵ میلی لیتر انتقال و در فریزر منهای

تیپ های ویروس آنفلونزای نوع A بر اساس دو گلیکو پروتئین همآگلوتینین (HA) و نورآمینیداز (NA) تعیین می شود که تاکنون ۱۶ نوع HA و ۹ نوع NA شناسایی شده است (۱۹، ۱۸، ۱۷، ۱۶، ۲). در عفونت های انسانی سه تحت تیپ HA ( $H_1$  تا  $H_3$ ) و دو تحت تیپ NA ( $N_1$  و  $N_2$ ) تحت تیپ هایی بودند که بیشتر جدا شده اند. تحت تیپ های  $H_9$ ،  $H_7$ ،  $H_5$  تحت تیپ های قابل انتقال ویروس آنفلونزای پرندگان به انسان می باشد که تحت تیپ های  $H_7$ ،  $H_5$  دارای بیماریزایی شدید و نوع  $H_9$  دارای بیماریزایی خفیف است (۸، ۱۰، ۱۹). ویروس های  $H_9N_2$  علاوه بر ایران از کشورهای دیگر جهان از جمله آمریکا، آلمان، ایتالیا، کره و چین از ماکیان و بوقلمون جدا شده است. گزارشات میبنی به ابتلاء انسان به تحت تیپ  $H_9N_2$  توسط محققین وجود دارد (۷ و ۱۵). برخی مطالعات انجام شده در نقاط مختلف جهان حاکی از آلودگی سرمی انسان به خصوص افراد مرتبط با طیور درگیر به ویروس آنفلونزای طیور تحت تیپ  $H_9N_2$  می باشد (۱۳، ۱۲، ۱۰، ۶، ۵). با توجه به این که تحت تیپ  $H_9N_2$  عامل بیماری آنفلونزای مرغی در جمعیت طیور ایران در چند سال اخیر بوده است. تاکنون مطالعه ای در راستای بررسی میزان شیوع سرمی ویروس آنفلونزای مرغی در جامعه انسانی به خصوص افراد مرتبط و غیر مرتبط با صنعت طیور در منطقه اردبیل نشده بود. در این تحقیق به بررسی سرولوژیکی حضور آنتی بادی های ضد ویروس آنفلونزای مرغی تحت تیپ  $H_9N_2$  در پنج گروه جمعیت انسانی شامل بیماران با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان، بیماران بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارستان، پرسنل بهداشتی شاغل در بیمارستان، مرغان و کارگران مرغانریها و کشتارگاه های طیور و همچنین دامپزشکان و واکسیناتورها در منطقه اردبیل پرداخته می شود.

## مواد و روش کار

تعداد ۳۱۱ نمونه سرم خون انسانی از دو گروه بیمار و سالم با جنس و رده های سنی مختلف از اوایل آبان تا اوایل اسفند ماه

۲۰ درجه سانتیگراد تا انجام آزمایش نگهداری می‌شد تا تعداد آنها به حد نصاب برسد. در نهایت تمام نمونه‌های سرمی به بخش بیماری‌های طیور سازمان دامپزشکی و آزمایشگاه پاستور دامپزشکی جهت جستجوی آنتی‌بادی ضد ویروس آنفلوآنزای مرغی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> به روش HI منتقل شدند.

#### تست HI

#### الف: وسایل مورد نیاز

۱- فسفات بافر سالین (PBS) ۲- گلبول قرمز آماده شده (سوسپانسیون ۰,۵٪) ۳- آنتی ژن ۴- سرم مورد آزمایش ۴- پلیت ۵- میکروپیپت.

#### آماده سازی رقت سرم

جهت حذف آنتی‌بادی‌های غیر اختصاصی ابتدا یک قسمت از سرم با سه قسمت از آنزیم (Receptor destroying RDE enzyme) دقیق و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷°C نگهداری شد و رقت حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در ۵۶°C برای غیر فعال شدن آنزیم قرار داده شد و سپس شش قسمت سرم فیزیولوژی به آن اضافه و رقت نهایی سرم (۱/۱۰) بدست آمد.

#### ب: روش کار

ابتدا در تمامی ۱۲ گوده (به جزء گوده اول) یک ردیف افقی پلیت با استفاده از میکروپیپت، مقدار ۲۵ میکرولیتر فسفات بافر سالین (PBS) با pH=7/6 ریخته شد. در مرحله بعد به اولین گوده ردیف فوق مقدار ۵۰ میکرولیتر از رقت نهایی سرم (۱/۱۰) ریخته و در ادامه ۲۵ میکرولیتر از محلول گوده اول به گوده دوم منتقل و به خوبی مخلوط گردید و پس از آن، عمل رقیق سازی از گوده دوم به سوم تا آخرین گوده صورت گرفت و در نهایت ۲۵ میکرولیتر از محلول گوده آخر دور ریخته

شد. بعداً به تمامی گوده‌ها ۲۵ میکرولیتر محلول آنتی ژن استاندارد (۴ واحد HA) افزوده گردید. پس از این مرحله در پوش پلیت گذاشته و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (°C) ۲۵ تا ۲۲) نگهداری شد که بعد از این زمان به تمامی گوده‌ها ۵۰ میکرولیتر سوسپانسیون آماده شده گلبول قرمز اسب اضافه شد و پس از ۳۰ دقیقه قرار دادن پلیت در دمای اتاق، نسبت به قرائت نتایج آن اقدام گردید (۱۳، ۱۴).

#### آنالیز آماری

داده‌های جمع‌آوری شده از گروه‌های مختلف با استفاده از نرم‌افزار SPSS و آزمون Chi-square با هم مقایسه شدند. جهت تجزیه و تحلیل آماری عیار HI بین گروه‌های بیمار از آزمون T-Test و گروه‌های سالم از آزمون ANOVA و Tukey' Test استفاده گردید. سطح معنی‌داری در این آزمون‌ها ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

#### نتایج

عیار آنتی‌بادی‌های ضد ویروس آنفلوآنزای مرغی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> در نمونه‌های سرم اخذ شده از گروه‌های مختلف جمعیت انسانی شامل بیماران با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان، بیماران بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارستان، پرسنل بهداشتی شاغل در بیمارستان و مرگداران و کارگران مرگداری‌ها و کشتارگاه‌های طیور و همچنین دامپزشکان و اکسیناتورها توسط تست HI سنجیده شد. نمونه‌های که دارای عیار HI مساوی و بالاتر از ۱/۲۰ داشتند به عنوان حضور معنی‌دار آنتی‌بادی و واکنش مثبت سرمی در نظر گرفته شدند. نتایج حاصله در جداول ۲، ۱، ۳، ۴ نشان داده شده است.

جدول ۱-۱- مقایسه موارد مثبت سرمی و عیار تست HI در گروه‌های بیمار و سالم

گروه‌ها	تعداد نمونه	تعداد واکنش مثبت سرمی	درصد مثبت سرمی در هر گروه	درصد مثبت سرمی از کل نمونه‌های مثبت	درصد مثبت سرمی از کل نمونه اخذ شده	خطای معیار ± میانگین	ک ت	ب ت
بیماران	۱۷۴	۵۳	۳۰/۵	۶۵/۴	۱۷	۲۱/۸۸±۱۰/۳۸	۱/۲۰	۱/۸۰
سالم	۱۳۷	۲۸	۲۰/۴	۳۴/۵	۹	۲۲/۰۳±۱۰/۴۷	۱/۲۰	۱/۴۰
جمع	۳۱۱	۸۱	۲۶	۱۰۰	۲۶	-	-	-

ک ت: کمترین تیتراژ ب ت: بیشترین تیتراژ

تیتر بہ ترتیب مربوط بہ گروہ‌های سالم و بیمار بہ دست آمد. ہرچند کہ رابطہ آماری معنی‌داری بین این دو گروہ وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). در ہر دو گروہ مورد بررسی کمترین میزان عیار  $1/20$  و بیشترین میزان آن بہ ترتیب در گروہ‌های بیمار و سالم  $1/80$  و  $1/40$  مشاہدہ گردید (جدول ۱-۱).

از مجموع ۳۱۱ نمونہ سرم خون انسانی جمع‌آوری شدہ، ۱۷۴ نمونہ مربوط بہ گروہ بیماران و ۱۳۷ نمونہ مربوط بہ گروہ سالم‌ها بودند. گروہ‌های بیمار و سالم بہ ترتیب  $30/5$  و  $20/4$  درصد واکنش سرمی مثبت در آزمایش HI نشان دادند کہ از لحاظ آماری معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ). با توجہ بہ توزیع آمارہ‌های مربوط بہ عیار HI بیشترین و کمترین میزان میانگین

جدول ۱-۲- مقایسہ موارد مثبت سرمی و عیار تست HI در گروہ‌های بیمار

گروہ‌ها	تعداد نمونہ	تعداد واکنش مثبت سرمی	درصد مثبت سرمی در ہر گروہ	درصد مثبت سرمی از کل نمونہ‌های مثبت	درصد مثبت سرمی از کل نمونہ اخذ شدہ	خطای معیار $\pm$ میانگین	ک ت	ب ت
RD	۸۶	۳۲	۳۷/۲	۶۰/۴	۱۸/۴	$22/03 \pm 10/74$	۱/۲۰	۱/۴۰
NRD	۸۸	۲۸	۳۱/۹	۳۹/۶	۱۲/۷	$21/88 \pm 10/41$	۱/۲۰	۱/۸۰
جمع کل	۱۷۴	۵۳	۳۰/۵	۱۰۰	۳۰/۵	-	-	-

RD: بیماران با عوارض تنفسی NRD: بیماران بدون عوارض تنفسی

عوارض تنفسی بیشترین میزان میانگین عیار HI مشاہدہ گردید، ہر چند کہ این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ). در ہر دو گروہ بیماران کمترین میزان عیار  $1/20$  و بیشترین میزان آن بہ ترتیب در بیماران بدون عوارض تنفسی و با عوارض تنفسی  $1/80$  و  $1/40$  بہ دست آمد (جدول ۱-۲).

آنالیز آماری نشان می‌دہد بین عوارض تنفسی بیماران با حضور معنی‌دار آنتی بادی، ارتباط مثبت و معنی‌داری وجود دارد ( $p < 0.05$ ). یعنی در این تحقیق می‌توان گفت کہ ہرچہ افراد مشکلات تنفسی داشتہ باشند، احتمال بروز بیماری بیشتر می‌شود. در بیماران با عوارض تنفسی در مقایسہ با بیماران بدون

جدول ۱-۳- مقایسہ موارد مثبت سرمی و عیار تست HI در گروہ‌های سالم

گروہ‌ها	تعداد نمونہ	تعداد واکنش مثبت سرمی	درصد مثبت سرمی در ہر گروہ	درصد مثبت سرمی از کل نمونہ‌های مثبت	درصد مثبت سرمی از کل نمونہ اخذ شدہ	خطای معیار $\pm$ میانگین	ک ت	ب ت
VET	۴۱	۱۲	۲۹/۳	۴۲/۸	۸/۸	$21/14 \pm 10/59$	۱/۲۰	۱/۴۰
PH	۴۴	۸	۱۸/۲	۲۸/۶	۵/۸	$20/00 \pm 10/00$	۱/۲۰	۱/۲۰
PW	۵۲	۸	۱۵/۴	۲۸/۶	۵/۸	$26/02 \pm 11/35$	۱/۲۰	۱/۴۰
جمع کل	۱۳۷	۲۸	-	۱۰۰	۲۰/۴	-	-	-

VET: دامپزشکان و واکسیناتورہا PH: پرسنل بهداشتی بیمارستان PW: مرغداریان و کارگران مرغداری‌ها

مرغداریہا و کشتارگاہ‌های طیور  $15/4$  درصد تعیین گردید کہ از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری نیستند ( $p > 0.05$ ). با توجہ بہ تجزیہ و تحلیل آماری بیشترین و

با توجہ بہ جدول ۱-۳ توزیع فراوانی واکنش مثبت سرمی در گروہ دامپزشکان و واکسیناتورہا  $29/3$  درصد، پرسنل بهداشتی بیمارستان  $18/2$  درصد و مرغداریان و کارگران

کمترین میانگین عیار HI به ترتیب در گروه‌های مرغداران و کارگران مرغداری‌ها و پرسنل بهداشتی بیمارستان مشاهده گردید، اما این اختلاف از لحاظ آماری معنی‌دار نبود ( $p > 0.05$ ) در گروه‌های سالم کمترین میزان عیار  $1/20$  و بیشترین میزان آن به ترتیب در گروه‌های دامپزشکان و واکسیناتورها، مرغداران و کارگران مرغداری‌ها و پرسنل بهداشتی بیمارستان  $1/40$ ،  $1/40$  و  $1/20$  بود.

جدول ۱-۲. مقایسه وضعیت تیتراهای مثبت سرمی در بین ۴ رده سنی گروه‌های بیمار و سالم.

گروه‌ها	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی زیر ۳۰ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی ۳۱-۴۵ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی ۴۶-۶۰ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی بالای ۶۰ سال
بیماران	۷ (۳۸/۹٪)	۱۱ (۴۰/۷٪)	۱۲ (۲۴/۵٪)	۲۳ (۲۹/۱٪)
سالم	۱۹ (۲۳/۸٪)	۸ (۱۶/۳٪)	۱ (۱۲/۵٪)	-
جمع	۲۶ (۲۶/۵٪)	۱۹ (۲۵/۵٪)	۱۳ (۲۲/۴٪)	۲۳ (۲۹/۱٪)

جدول ۲-۲. مقایسه وضعیت تیتراهای مثبت سرمی در بین ۴ رده سنی گروه‌های بیمار.

گروه‌ها	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی زیر ۳۰ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی ۳۱-۴۵ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی ۴۶-۶۰ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی بالای ۶۰ سال
بیماران با عوارض تنفسی	۴ (۶۶/۷٪)	۳ (۳۳/۳٪)	۸ (۳۳/۳٪)	۱۷ (۳۶/۲٪)
بیماران بدون عوارض تنفسی	۳ (۲۵/۳٪)	۸ (۴۴/۴٪)	۴ (۱۵/۴٪)	۶ (۱۸/۸٪)
جمع	۷ (۳۸/۹٪)	۱۱ (۴۰/۷٪)	۱۲ (۲۴/۵٪)	۲۳ (۲۹/۱٪)

ارتباط بین سنین مختلف با حضور معنی‌دار آنتی‌بادی در گروه‌های حاضر مورد بررسی قرار گرفت. بطوریکه در هر دو گروه کمترین میزان واکنش مثبت سرمی در گروه سنی  $60-46$  و بیشترین میزان آن در گروه‌های بیمار و سالم به ترتیب گروه‌های سنی  $45-31$  و زیر  $30$  سال بوده است. البته لازم بذکر است که در گروه سنی  $45-31$  سال بین دو گروه بیمار و سالم اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید ( $p < 0.05$ ) در حالیکه در سایر گروه‌های سنی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۱-۲).

در بیماران با عوارض تنفسی کمترین میزان حضور معنی‌دار آنتی‌بادی در گروه سنی  $45-31$  ( $33/3$ ) و بیشترین میزان آن در گروه سنی زیر  $30$  سال ( $66/7$ ) مشاهده گردید. در حالیکه در بیماران بدون عوارض تنفسی بیشترین میزان واکنش سرمی در گروه سنی  $45-31$  ( $44/4$ ) و کمترین میزان آن در گروه سنی  $60-46$  سال ( $15/4$ ) بدست آمد، با توجه به تجزیه و تحلیلی آماری بین گروه‌های بیمار در چهار رده سنی تفاوت معنی‌دار مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ) (جدول ۲-۲).

در بیماران با عوارض تنفسی کمترین میزان حضور معنی‌دار آنتی‌بادی در گروه سنی  $45-31$  ( $33/3$ ) و بیشترین میزان آن در گروه سنی زیر  $30$  سال ( $66/7$ ) مشاهده گردید. در حالیکه در سایر گروه‌های سنی تفاوت معنی‌دار وجود نداشت (جدول ۱-۲).

جدول ۲-۳- مقایسہ وضعیت تیتراہی مثبت سرمی در بین ۳ اردہ سنی گروہہای سالم

گروہہا	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروہ سنی زیر ۳۰ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروہ سنی ۳۱-۴۵ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروہ سنی ۴۶-۶۰ سال
دامپزشکان و واکسیناتورها	۸ (۴۲/۱٪)	۴ (۱۹٪)	-
پرسنل بهداشتی بیمارستان	۶ (۱۹/۴٪)	۲ (۱۶/۷٪)	-
مرغداران و کارگران مرغداریہا	۵ (۱۶/۷٪)	۲ (۱۲/۵٪)	۱ (۱۶/۷٪)
جمع کل	۱۹ (۲۳/۸٪)	۸ (۱۶/۳٪)	۱ (۱۲/۵٪)

با توجه به جدول ۲-۳ در گروہہای مرتبط و غیر مرتبط با صنعت طیور بیشترین میزان حضور معنی دار آنتی بادی در گروہ سنی زیر ۳۰ و کمترین میزان آن در گروہ سنی ۴۶-۶۰ سال بوده است. به عبارت دیگر به موازات افزایش سن در گروہ ہای سالم، میزان واکنش مثبت سرمی کاهش می یابد، هر چند که از لحاظ آماری معنی دار نیستند ( $p > 0.05$ ).

جدول ۳-۱- مقایسہ موارد مثبت سرمی در گروہ ہای بیمار و سالم بر اساس جنس.

گروہہا	تعداد نمونه	تعداد واکنش مثبت سرمی	درصد موارد مثبت سرمی در هر گروہ	درصد واکنش مثبت سرمی از نمونه های مثبت بر اساس جنس	درصد مثبت سرمی از کل نمونه اخذ شدہ
بیمار مرد	۱۰۸	۳۵	۳۲/۴	۵۸/۳	۱۱/۲
سالم مرد	۱۱۴	۲۵	۲۱/۹	۴۱/۷	۸
بیمار زن	۶۶	۱۸	۲۷/۳	۸۵/۷	۵/۸
سالم زن	۲۳	۳	۱۳	۱۴/۳	۱
جمع مرد	۲۲۲	۶۰	۲۷	-	۱۹/۳
جمع زن	۸۹	۲۱	۲۳/۶	-	۶/۷
جمع کل	۳۱۱	۸۱	-	-	۲۶

رابطه بین جنس و میزان واکنش مثبت سرمی در گروہہای مورد بررسی در جدول ۳-۱ نشان داده شده است. تجزیہ و تحلیل آماری نشان می دهد که در هر دو گروہ بیمار و سالم بیشترین توزیع فراوانی حضور معنی دار آنتی بادی در جنس مرد و کمترین توزیع فراوانی آن در جنس زن وجود دارد. هر چند که رابطه آماری معنی داری بین دو گروہ بیمار و سالم از لحاظ جنس مرد و زن مشاهده نشد ( $p > 0.05$ ).

جدول ۳-۲- مقایسہ موارد مثبت سرمی در گروہ ہای بیمار بر اساس جنس

گروہہا	تعداد نمونه	تعداد واکنش مثبت سرمی	درصد موارد مثبت سرمی در هر گروہ	درصد مثبت سرمی از نمونه های مثبت بر اساس جنس	درصد مثبت سرمی از کل نمونه اخذ شدہ
بیماران مرد با عوارض تنفسی	۵۸	۲۲	۳۷/۹	۶۲/۸	۱۲/۶
بیماران مرد بدون عوارض تنفسی	۵۰	۱۳	۲۶	۳۷/۲	۷/۵
بیماران زن با عوارض تنفسی	۲۸	۱۰	۳۵/۷	۵۵/۶	۵/۷
بیماران زن بدون عوارض تنفسی	۳۸	۸	۲۱/۱	۴۴/۴	۴/۶
جمع بیماران مرد	۱۰۸	۳۵	۳۲/۴	-	۲۰/۱
جمع بیماران زن	۶۶	۱۸	۲۷/۳	-	۱۰/۳
جمع کل	۱۷۴	۵۳	-	-	۳۰/۴

با توجه به آنالیز آماری بین نوع جنس و داشتن یا نداشتن عوارض تنفسی با حضور معنی دار آنتی بادی ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نگردید ( $p > 0/05$ ). هر چند که از لحاظ جنس مرد و زن بیشترین میزان واکنش مثبت سرمی در بیماران با عوارض تنفسی و کمترین میزان آن در بیماران بدون عوارض تنفسی بوده است (جدول ۳-۲).

جدول ۳-۳. مقایسه موارد مثبت سرمی در گروه‌های سالم بر اساس جنس

گروهها	تعداد نمونه	تعداد واکنش مثبت سرمی	درصد موارد مثبت سرمی در هر گروه	درصد مثبت سرمی از نمونه‌های مثبت براساس جنس	درصد مثبت سرمی از کل نمونه اخذ شده
مرد دامپزشکان و واکسیناتورها	۴۱	۱۲	۲۹/۳	۴۸	۸/۸
مرد پرسنل بهداشتی بیمارستان	۲۱	۵	۲۳/۸	۲۰	۳/۶
مرد مرغان و کارگران مرغداری‌ها	۵۲	۸	۱۵/۴	۳۲	۵/۸
نرسن بهداشتی بیمارستان	۲۳	۳	۱۳	۱۰۰	۲/۲
جمع مرد	۱۱۴	۲۵	۲۱/۹	-	۱۸/۲
جمع زن	۲۳	۳	۱۳	-	۲/۲
جمع کل	۱۳۷	۲۸	-	-	۲۰/۴

\*گروه‌های دامپزشکی و مرغداری همگی مرد بودند و از لحاظ جنس زن در مقایسه آماری لحاظ نشدند.

شناسایی کردند (۱۸). Eick و همکاران در سال ۱۹۹۷ تیتراژ آنتی‌بادی‌های ضد ویروس آنفلوآنزای مرغی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> را در سرم خون تعدادی از کارگران مرغداری‌ها در هنگ کنگ به روش خنثی‌سازی میکرو سنجیدند که ۴۹٪ (۲۴۹ نفر) از افراد مورد آزمایش از نظر واکنش به این تحت تیپ مثبت گزارش شدند (۶). در مطالعه ای که توسط Guo و همکاران در سال ۱۹۹۹ بر روی جمعیت انسانی، طیور و خوک‌ها انجام گرفت. حضور معنی دار آنتی‌بادی‌های سرمی بر علیه ویروس آنفلوآنزای مرغی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> را در جمعیت انسانی به روش HI تقریباً ۱۹٪ تخمین زدند (۸). در بررسی که توسط Guo و همکاران در سال ۲۰۰۰ صورت گرفت، تیتراژ HI سرم بهبود یافتگان و تیتراژ نورآمینیداز آنها مساوی یا بالاتر از ۱/۲۰ بودند. تیتراژ HI در سرم مادران بیماران انسانی نیز مشاهده شده بود. این احتمال وجود دارد که آلودگی مادران از طریق تماس با پرندگان به ویژه مایگان آلوده

با توجه به جدول ۳-۳ بیشترین توزیع فراوانی حضور معنی دار آنتی بادی در جنس مرد گروه دامپزشکان و واکسیناتورها (۲۹/۳٪) و کمترین آن در مرغان و کارگران مرغداری‌ها و کشتارگاه‌های طیور (۱۵/۴ درصد) تعیین گردید. هر چند که رابطه آماری معنی‌داری بین سه گروه مشاهده نشد ( $p > 0/05$ ).

## بحث

بررسی تیتراژ آنتی بادی‌ها بر علیه ویروس آنفلوآنزای مرغی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> در نقاط مختلف جهان بین گونه‌های متعدد موجودات توسط محققین صورت گرفته است. Vasfi Marandi و همکاران در سال ۱۹۹۸ به دنبال شیوع بیماری آنفلوآنزای مرغی در ایران آنتی‌بادی‌های ضد ویروس آنفلوآنزای مرغی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> را در سرم خون جوجه‌های گوشتی، تخمگذار و مادر به روش‌های HI و NI

با شغل دامپزشکی، بیماران با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان و بیماران بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارستان به ترتیب ۳۰/۸٪، ۱۷/۸٪، ۱۱/۵٪، گزارش کردند (۳). در مطالعه دیگری که توسط Hadipour در سال ۲۰۱۱ انجام شد، حضور معنی دار آنتی‌بادها بر ضد ویروس آنفلوآنزای مرغی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> در سرم پنج گروه از جمعیت انسانی در استان بوشهر تشخیص داده شد. بطوریکه واکنش مثبت سرمی در سه گروه از افراد مرتبط با صنعت طیور از قبیل کارگران مرغداری‌ها، کارگران کشتارگاه‌های طیور و دامپزشکان در مقایسه با دو گروه دیگر بیماران با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان و افراد معمولی جامعه بطور معنی دار بیشتر مشاهده گردید (۱۰).

در مطالعه حاضر میزان واکنش مثبت سرمی در گروه بیماران در مقایسه با گروه سالم‌ها بطور معنی دار بیشتر بود و در گروه بیماران میانگین عیار آنتی‌بادی‌ها بر علیه ویروس آنفلوآنزای نوع A (تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>) در افراد با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان بیشتر از افراد بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارستان مشاهده گردید. شاید علت این اختلاف را به توان چنین توجیه کرد که این احتمال وجود دارد افراد با عوارض تنفسی از طریق تماس با پرندگان به ویژه ماکیان آلوده به ویروس H<sub>9</sub>N<sub>2</sub>، ذرات ویروسی مستقیماً از طریق هوا منتقل شده باشد و در نتیجه سبب افزایش واکنش مثبت سرمی و نیز عیار آنتی‌بادی‌های ضد ویروس آنفلوآنزای مرغی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> در آنها شده است. در این مطالعه ارتباط بین مشاغل مختلف با میزان حضور معنی دار آنتی‌بادی‌ها در گروه‌های سالم مورد بررسی قرار گرفت. بطوریکه دامپزشکان و واکنش‌تورها نسبت به دیگر گروه‌ها بیشترین واکنش مثبت سرمی را نسبت به آنفلوآنزا داشتند که علت این امر شاید برخورد و رویارویی بیشتر این گروه شغلی با جمعیت طیور آلوده به این ویروس باشد که باعث افزایش حضور معنی دار آنتی‌بادی‌ها نسبت به

به ویروس H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> صورت گرفته و ذرات ویروسی بطور مستقیماً از طریق هوا منتقل شده باشد (۹). با توجه به تحقیقات انجام شده توسط Cheng و همکاران در سال ۲۰۰۲ در مورد چگونگی توزیع ویروس H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> در منطقه شنژن هنگ کنگ بر روی ماکیان و جمعیت انسانی به روش تست HI (به صورت میکروهماگلوآگوتیناسیون) مشخص گردید که تقریباً ۲۶ درصد سرم افراد انسانی و ۷ درصد سرم ماکیان حاوی آنتی‌بادی‌های ضد ویروس آنفلوآنزا تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> بودند (۵). در بررسی سرولوژیکی که Li و همکاران در سال ۲۰۰۴ در منطقه گوانژو چین بر روی ماکیان و انسان‌های مرتبط شغلی مانند کارگران فارم و کشتارگاه‌های طیور به روش ممانعت از هماگلوآگوتیناسیون انجام دادند، پادتن ضد ویروس H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> در ماکیان ۱۲/۸٪ و کارگران ۵/۱٪ تشخیص داده شد (۱۲). در اکثر مطالعات محققین ویروس از نمونه‌های که عیار سرمی مساوی و بالاتر از ۲۰/۱ داشت با روش‌های مولکولی نیز جداسازی گردید. ما نیز در این تحقیق عیار‌های مساوی و بالاتر از ۲۰/۱ را به عنوان واکنش مثبت سرمی نسبت به ویروس در نظر گرفتیم. در ایران نیز با توجه به این که تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> عامل بیماری آنفلوآنزای مرغی در جمعیت طیور کشور در چند سال اخیر بوده است، مطالعه‌ای در جهت بررسی پادتن ضد ویروس H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> در جامعه انسانی به خصوص افراد مرتبط و غیرمرتبط با صنعت طیور در مناطق مختلف کشور صورت گرفته است. مطالعات انجام شده توسط پذیرا و همکاران در سال ۸۷ حاکی از آلودگی سرولوژیکی جمعیت انسانی منطقه شیراز با ویروس آنفلوآنزای مرغی تحت تیپ H<sub>9</sub>N<sub>2</sub> بود. بطوریکه میانگین تیتراژ آنتی‌بادی‌ها در گروه دامپزشکان در مقایسه با گروه مرغداران و کارگران مرغداری‌ها و گروهی که از لحاظ حرفه‌ای در تماس با صنعت طیور نبودند، بیشتر مشاهده گردید (۲). زمانی مقدم و همکاران در سال ۸۸ در منطقه شهرکرد به روش تست HI درصد واکنش مثبت سرمی نسبت به این ویروس را در چهار گروه مرغداران و کارگران مرغداری‌ها، کارورزان رشته دامپزشکی و افراد مرتبط



## فهرست منابع

۱. بزرگمهری فرد. م. ح.، فتوتی. ع.، نیک نفس. ف.، شفقی. ح. ر.، شجاع‌دوست. ب. (۱۳۷۷): بیماری‌های طیور، چاپ اول، انتشارات واحد آموزش و پژوهش معاونت کشاورزی سازمان اقتصادی کوثر، تهران، ایران: ۲۶۱-۲۴۸.
۲. پذیرا. س.، کشتکاس. س.، هادی پور، م. (۱۳۷۸): بررسی تیتراژ آنتی‌بادی ویروس آنفلوانزا سویه (H9N2) در نمونه‌های سرمی انسانی شهر شیراز. چهارمین سمپوزیوم ملی بهداشت و بیماری‌های طیور، شهرکرد، ایران: ۶۰۴-۶۰۱.
۳. زمانی مقدم. ع.، امراء. ب.، شیروانی. ا. (۱۳۸۸): بررسی سرولوژیکی آلودگی ویروس آنفلوانزای مرغی تحت تیپ H9N2 در جمعیت انسانی منطقه شهرکرد، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۶۴ (۴): ۳۰۷-۳۱۰.
۴. وصفی مرندی. م.، بزرگمهری فرد. م. ح.، طباطبائی. س. م. (۱۳۸۰): مطالعه سرواپیدمیولوژیک بیماری آنفلوانزای طیور (H9N2) در ایران، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، ۸: ۲۳-۳۳.
5. Cheng, X., Lio, J., He, J., Shan, F. (2002): Virological and serological surveys for H9N2 subtype of influenza A virus in chicken and men in Shenzhen city. Chin. J. Exp. Clin Virol. 16(4):319-321.
6. Eick, A. (2000): Seroprevalence of antibody to H9N2 viruses in poultry workers of Hongkong. International Conference on Emerging Infectious Diseases. P: 323-326.
7. Goldman, L. (2004): Cecil Text Book of Medicine 22th edition. Saunders. Philadelphia. P: 363-416.
8. Guo, Y. (1999): Discovery of man infected by influenza virus. Chin. J. Exp. Clin Virol. 13:105-108.
9. Guo, Y., Xie, J., Wang, M. (2000): A strain of influenza A H9N2 virus repeatedly isolated from human population in China. Chin. J. Exp. Clin. Virol. 14:209-212.

سایرین شده است. نتایج مشابهی در مشاغل مرتبط با صنعت طیور توسط زمانی مقدم و همکاران، پذیرا و همکاران و Hadipour گزارش شده است. در مطالعه حاضر ارتباط بین سنین مختلف با میزان واکنش مثبت سرمی در گروه‌های حاضر نیز مورد بررسی قرار گرفت و مشخص گردید که با کاهش سن افراد فراوانی نسبی شیوع سرمی افزایش می‌یابد، بطوریکه در گروه بیماران با عوارض تنفسی و گروه‌های سالم بیشترین میزان حضور معنی‌دار آنتی‌بادی در گروه سنی زیر ۳۰ مشاهده گردید. با توجه به یافته‌های حاصل از این مطالعه در گروه‌های بیمار و سالم بیشترین توزیع فراوانی شیوع سرمی در جنس مردان و کمترین توزیع فراوانی آن در زنان بدست آمد.

به طور کلی نتایج این مطالعه حاکی از تماس گروه‌های مختلف جمعیت انسانی با تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلونزا بود که این عفونت در بیماران با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان بیشتر مشاهده گردید، همچنین از لحاظ شغلی نیز در گروه سالم، دامپزشکان و واکسیناتورها بیشترین موارد تماس را نشان دادند. با توجه به اهمیت بیماری آنفلوانزا در جوامع انسانی پیشنهاد می‌شود محققین محترم در تحقیقات آینده جهت گسترش مطالعه حاضر همراه با تست‌های سرولوژیک از روش‌های مولکولی و جداسازی ویروس نیز استفاده نمایند.

## تشکر و سپاسگزاری

این پژوهش با استفاده از اعتبارات طرح مصوب باشگاه پژوهشگران جوان دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل و کمک و همکاری‌های معاونت محترم بهداشتی و پیشگیری سازمان دامپزشکی و مسئولین محترم بخش‌های آزمایشگاه و عفونی بیمارستان امام خمینی (ره) دانشگاه علوم پزشکی اردبیل و آزمایشگاه پاستور دامپزشکی تهران و همچنین همکاران محترم دامپزشک شاغل در بخش‌های دولتی و خصوصی استان اردبیل انجام گرفته است. لذا از تمامی آنها تشکر و قدردانی می‌گردد.

10. Hadipour, M.M. (2011): Seroprevalence of H5 avian influenza virus in human population in boushehr province, Iran. *Asian J. Anim. Vete. Advan.* 6:196-200.
11. Juikuneh, I., Gison, J., Shen, F. (1985): Enzyme immunoassay, complement fixation and hemagglutination tests in the diagnosis of influenza A and B viral infection. *J. Virol. meth.* 10:75-84.
12. Li, C., Zhou, X., Li, M. (2004): Discoveries of avian influenza A (H9N2) virus in chicken and men infected by H9N2 virus in Guangzhou area. *Chin. J. Exp. Clin. Virol.* 18(3):213-214.
13. Lin, Y.P., Show, M., Cameron, K., Cox, N., Hay, A. (2000): Avian to human transmission of H9N2 subtype influenza A viruses: relationship between H9N2 human isolates. *P.N.A.S.* 97: 9654-9658.
14. Meijer, A., Bosman, A., Burd, M. (2006): Measurement of antibodies to avian influenza virus A (H7N7) in humans by hemagglutination inhibition test. *J. Virol. meth.* 132:113-120.
15. Nicholson, K.G., Wood, J.M., Zambon, M. (2003): Influenza, *Lancet* . 362: 1733-1745.
16. Profeta, M.C., Palladino, G. (1986): Serological evidence of human infections with avian influenza viruses. *Arch. Virol.* 90:355-360.
17. Sasterday, B.C., Beard, C.W. (2008): Infectious influenza. In: *Disease of poultry* 12th edition, (Saif, Y.M., Barres, H.J., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Swayne, D.E.), Iowa State Press. Ames. P: 117-165.
18. Vasfi Marandi, M., Bozorgmehri Fard, M. H. (2002): Isolation of H9N2 subtype of avian influenza viruses during outbreak in chickens in Iran. *Iran. Bio. J.* 6:13-17.
19. Potter, C.W. (2006): A history of influenza. *J. Appli. Microb.* 91:572-579.