JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره دوازدهم، شماره اول، ۱۳۹۵، پیاپی ۳۲: ۳۶-۲۹

تشخیص آنتی‌بادی ضدویروس آنفلوانزای A (H_1N_1، H_3N_2) در گاو و گاومیش در کشتارگاه اهواز

آریا رسولی[۱،۲،*]، محمد نوری[۳]، مسعود رضا صیفی‌آبادشاپوری[۴]، حدیث رحمت‌الهی[۵]

۱- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار گروه مدیریت بهداشت دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵- دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۲ خرداد ۱۳۹۳ *تاریخ پذیرش:۲۶ خرداد ۱۳۹۴*

چکیده: *از تعداد ۱۰۰ رأس گاو و ۱۰۰ رأس گاومیش به صورت تصادفی در کشتارگاه شهر اهواز خون‌گیری به عمل آمد. پس از ۱۰ دقیقه سانتریفوژ با دور ۳۰۰۰ در دقیقه، سرم‌ها جدا و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد ذخیره گردیدند. جهت مشخص ساختن پاسخ سرولوژیک به سروتیپ‌های H_1N_1 و H_3N_2 ویروس آنفلوانزای تیپ A، ابتدا تمام سرم‌ها با کائولین تحت درمان قرارگرفتند، سپس آزمایش مهار هماگلوتیناسیون بر روی آن‌ها انجام شد. نتایج این مطالعه نشان داد که ۸۷ درصد از گاوها (نر: ۸۳/۵٪، ماده: ۹۳/۹٪) و ۷۵ درصد از گاومیش‌ها (نر: ۶۸/۶٪، ماده: ۸۶/۱٪) از نظر سروتیپ H_3N_2 مثبت بودند. ۲۱ درصد از گاوها (نر: ۱۴/۹٪، ماده: ۳۳/۳٪) و ۲۷ درصد از گاومیش‌ها (نر: ۲۱/۸٪، ماده: ۳۶/۱٪) از نظر سروتیپ H_1N_1 مثبت بودند. همچنین مشخص شد که ۲۱ درصد از گاوها (نر: ۱۴/۹٪، ماده: ۳۳/۳٪) و ۲۷ درصد از گاومیش‌ها (نر: ۲۱/۸٪، ماده: ۳۶/۱٪) دارای آنتی‌بادی بر علیه هر دو سروتیپ H_1N_1 و H_3N_2 بودند. در مجموع ۱۳ درصد از گاوها و ۲۵ درصد از گاومیش‌ها در تست HI منفی تشخیص داده شدند. یافته‌های این مطالعه برای اولین بار مشخص ساخت که سروتیپ‌های H_1N_1 و H_3N_2 ویروس آنفلوانزا پتانسیل آلوده ساختن جمعیت گاو و گاومیش را در ایران دارا می‌باشد. لذا باید تحقیقاتی در خصوص چهره بالینی و اهمیت اقتصادی آلودگی با ویروس آنفلوانزای تیپ A در گاو و گاومیش صورت پذیرد.*

کلمات کلیدی: *آنفلوانزای A، H_1N_1 ، H_3N_2، گاو، گاومیش، اهواز*

**نویسنده مسئول: آریا رسولی*

آدرس: دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. تلفن: ۰۹۱۶۳۱۵۰۹۴۸

پست الکترونیک: a.rasooli@scu.ac.ir

مقدمه و هدف

آنفلوانزای انسانی حاصل از ویروس‌های جنس A یکی از مشکلات همه‌گیر و جهانی می‌باشد، چرا که آنتی‌ژن‌های ویروس مرتب در حال تغییر بوده و هر چند وقت یکبار شاهد ظهور سروتیپ‌های جدیدی از این ویروس با شدت‌های متفاوت خواهیم بود (۵). در حال حاضر ویروس‌های آنفلوانزای انسانی به دو سروتیپ H_1N_1 و H_3N_2 محدود می‌باشند (۵). در پاندمی ۱۹۶۸ هنگ‌کنگ گزارشاتی مبنی بر وجود آنتی‌بادی ضدویروس H_3N_2 آنفلوانزای A (A/Hong Kong/1/68) در خون گاوهای نقاط مختلف دنیا نظیر هندوستان (۸)، ژاپن (۱۲)، شوروی سابق (۱۴و۶) و آلمان (۲۵) منتشر گردید. در آن زمان حتی توانستند ویروس آنفلوانزای A را از خون گاوها در شوروی (۲۰و۹،۶) و مجارستان (۲۴) جدا نمایند که قرابت نزدیکی با سروتیپ A/Hong Kong/1/68 داشت (۶و۲۰). پس از این مطالعات تحقیقات کمتری در ارتباط با نقش ویروس آنفلوانزای A در گاو صورت پذیرفت. گزارشات سال‌های ۲۰۰۰ مبنی بر جدا شدن سروتیپ‌های H_5N_1، H_7N_7 و H_9N_2 ویروس آنفلوانزای جنس A با منشأ طیور از انسان (۲۳و۱۵،۱) نقش ویروس آنفلوانزای انسانی را در ارتباط با آلودگی حیوانات مزرعه به آن، از دو جنبه یکی نقش حیوانات در اپیدمیولوژی آنفلوانزای انسانی و دیگری نقش ویروس‌های انسانی در بروز بیماری حیوانی مورد توجه قراردارد.

آلودگی تجربی گاوها توسط ویروس‌های آنفلوانزای انسان باعث عفونت بدون علامت بالینی شده، اما سروتیپ H_3N_2 جدا شده از گاو به طور مشخص باعث بیماری شبه آنفلوانزا در گوساله‌ها گردیده است (۴). براون و همکاران (۱۹۹۸) و گانینگ و همکاران (۱۹۹۹) توانستند در انگلستان آنتی بادی ضدویروس آنفلوانزای جنس A انسانی را در گاوها نشان دهند (۱۱و۲). علایم کلینیکی قابل مشاهده در این گاوها شامل تب، علایم تنفسی، کاهش تولید شیر و اسهال بود. محققین در انگلستان از اواسط سال‌های ۱۹۹۰ به دنبال علت قطع ناگهانی و بدون دلیل شیر در برخی از گاوها با بررسی خون آن‌ها از نظر امراضی که سبب کاهش تولید شیر می‌شوند، مثل BVD، پاراآنفلوانزای تیپ ۳، *پاستورلا*، *هموفیلوس* و *لپتوسپیرا*، متوجه عدم ابتلاء به آن‌ها در گله‌های مورد مطالعه گردیدند ولی در همین گله‌ها به بالا بودن تیترآنتی‌بادی ضد H_1N_1 و H_3N_2 در خون درصد بالایی از مبتلایان به کاهش تولید شیر پی بردند (۱۰و۷).

از آنجا که در ایران اطلاعی از آلودگی گاوها و گاومیش‌ها به ویروس‌های آنفلوانزای انسانی در دست نیست لذا هدف از مطالعه کنونی در درجه اول آگاهی از وجود آلودگی به سروتیپ‌های H_1N_1 و H_3N_2 آنفلوانزای انسانی در گاوها و گاومیش‌های شهرستان اهواز و در مرحله بعد تعیین درصد آلودگی در این دام‌ها می‌باشد.

مواد و روش کار

در فاصله زمانی اسفند ۱۳۹۰ تا اردیبهشت ۱۳۹۱ تعداد ۱۰۰ نمونه خون گاو و ۱۰۰ نمونه خون گاومیش از کشتارگاه اهواز تهیه گردید. پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز و سانتریفوژ آن‌ها با دور ۳۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه، سرم‌ها جدا گردید و در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری تا زمان آزمایشات سرولوژیک در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

دو سروتیپ از ویروس آنفلوانزای جنس A (H_1N_1 و H_3N_2) از انستیتو پاستور تهران تهیه و با استفاده از تخم‌مرغ جنین‌دار ۹ روزه تکثیر داده شدند. برای این منظور ۰/۲ میلی‌لیتر از هر ویروس در حفره آلانتوییک چند تخم‌مرغ جنین‌دار تلقیح گردید. تخم‌مرغ‌ها به مدت ۵ روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرارگرفته سپس به یخچال منتقل گردیدند. در طی این مدت تخم‌مرغ‌ها روزانه از نظر زنده بودن جنین بررسی می‌شدند. تلفات روز اول انکوباسیون حذف و سایر جنین‌هایی که بعد از ۲۴ ساعت اول اما قبل از پایان انکوباسیون ۵ روزه تلف می‌شدند به یخچال منتقل می‌شدند. در پایان مایع آلانتوییک تخم‌مرغ‌هایی که حداقل ۱۲ ساعت در یخچال قرارگرفته‌بودند برداشت و بعد از آزمایش از نظر توانایی هماگلوتیناسیون و سپس غیرفعال‌سازی با فرمالین ۰/۰۰۲ درصد در حجم‌های ۰/۵ میلی‌لیتری در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری‌شدند (۱۳و۱۷).

درمان نمونه‌های سرم

در این تحقیق برای حذف مهارکننده‌های غیراختصاصی هماگلوتیناسیون از فرایند درمان با کائولین استفاده شد. بدین منظور یک حجم سرم (۱۰۰ میکرولیتر) که قبلاً در دمای ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه حرارت داده‌شده‌بود با ۴ حجم (۴۰۰ میکرولیتر) کائولین ۲۵ درصد در بافر بورات (بافر بورات حاوی ۱۲۰ میلی‌مولار کلرور سدیم و ۵۰ میلی‌مول اسید بوریک بوده که pH آن با NaOH به ۹ رسیده‌است) مخلوط و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد. سپس نمونه‌ها با دور ۲۵۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ گردیدند و مایع رویی به یک میکروتیوب دیگر انتقال داده شد. در مرحله بعد ۱۰۰ میکرولیتر گلبول قرمز ۲۰ درصد مرغ در یک میکروتیوب سانتریفوژ و مایع رویی آن خارج گردید. سپس سرم درمان شده با کائولین بر روی رسوب گلبول‌های قرمز افزوده شد و رسوب به آرامی در سرم مخلوط گردید. مخلوط سرم-گلبول قرمز نیز به مدت ۲۰ دقیقه در دمای محیط نگهداری شد و میکروتیوب‌ها هر ۵ دقیقه به آرامی تکان داده شدند تا گلبول‌های قرمز رسوب نکنند. در انتها میکروتیوب حاوی سرم – گلبول قرمز به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۲۵۰۰ سانتریفوژ و مایع رویی به یک میکروتیوب دیگر منتقل شد تا در آزمایش مهار هماگلوتیناسیون مورد استفاده واقع شود (۱۸و۳۱).

آزمایش مهار هماگلوتیناسیون (HI):

در این مطالعه وجود آنتی‌بادی ضد ویروس‌های آنفلوانزای H_1N_1 و H_3N_2 در نمونه‌های سرمی گاوها و گاومیش‌های کشتار شده در کشتارگاه اهواز با آزمایش مهار هماگلوتیناسیون بررسی شد. برای انجام این آزمایش همانگونه که در بالا توضیح داده شد، ابتدا سرم‌ها تحت درمان با کائولین قرارگرفته، سپس از هر سرم در یک ستون عمودی، از یک میکروپلیت ۹۶ حفره‌ای با حفرات U شکل، رقت‌های متوالی دو تایی تهیه شد. برای تهیه این رقت‌ها ابتدا در تمام حفرات آن ستون ۲۵ میکرولیتر بافر رقیق‌کننده PBS ریخته شد. در مرحله بعد در حفره اول آن ستون ۲۵ میکرولیتر از نمونه سرم اضافه و به خوبی مخلوط شد. بدین ترتیب در حفره اول آن ستون رقت ۱/۲ از سرم درمان شده با کائولین تهیه شد. با انتقال ۲۵ میکرولیتر از این حفره به حفره دوم رقت ۱/۴ از سرم تهیه گشت. این روند تا آخرین حفره ادامه یافت و رقت‌های متوالی دوتایی از سرم تهیه شد. در آخر ۲۵ میکرولیتر از حفره هشتم برداشت و به ظرف ضدعفونی منتقل گردید. پس از

تهیه رقت‌های متوالی از سرم، به هر حفره ۲۵ میکرولیتر از ویروسی که دارای ۴ واحد هماگلوتیناسیون بود اضافه شد. پس از ۴۰ دقیقه انکوباسیون در دمای محیط در هر حفره ۵۰ میکرولیتر RBC ۰/۵ درصد مرغ اضافه شد. در این آزمایش چند حفره از میکروپلیت به شاهدهای RBC و ویروس اختصاص داده شد. در حفرات شاهد RBC در هر حفره ۵۰ میکرولیتر بافر PBS و ۵۰ میکرولیتر RBC ریخته شد. حفرات شاهد حاوی ۲۵ میکرولیتر PBS، ۲۵ میکرولیتر ویروس و ۵۰ میکرولیتر RBC بودند. در این آزمایش نتیجه زمانی خوانده می‌شد که در حفرات شاهد RBC ته نشینی RBC و در حفرات شاهد ویروس هماگلوتیناسیون روی داده باشد. سرم‌هایی که در آن‌ها *هماگلوتیناسیون* گلبول‌های قرمز تا رقت ۱/۱۰ و یا بیشتر مهار شده بود مثبت تلقی می‌شدند (۱۹).

در این مطالعه مقایسه فراوانی آنتی بادی ضدویروس‌های آنفلوانزا در گاو و گاومیش و دو جنس نر و ماده با استفاده از آزمون Chi square انجام پذیرفت و $p<۰/۰۵$ معیار قرار گرفت.

نتایج

نتایج حاصل از آزمایش HI نشان داد که در جمعیت‌های گاو و گاومیش به ترتیب ۲۱ و ۲۷ درصد آنتی‌بادی بر علیه سروتیپ H_1N_1 وجود دارد، که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$). همچنین وجود آنتی‌بادی برعلیه سروتیپ H_3N_2 در ۸۷ درصد از گاوها و ۷۵ درصد از گاومیش‌ها به اثبات رسید که اختلاف آنها از نظر آماری معنی‌دار نبود ($P>۰/۰۵$). احتمال وجود آنتی‌بادی بر ضد هر دو سروتیپ H_1N_1 و H_3N_2 در جمعیت‌های گاو و گاومیش به ترتیب ۲۱ و ۲۷ درصد برآورد شد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<۰/۰۵$)(جدول ۱).

مطالعه انجام شده در رابطه با نقش جنسیت دام‌ها در فراوانی وجود آنتی‌بادی بر ضدسروتیپ‌های H_1N_1 و H_3N_2 نشان داد که در جمعیت گاوهای نر و ماده به ترتیب ۱۴/۹ و ۳۳/۳ درصد و در جمعیت گاومیش‌های نر و ماده به ترتیب ۲۱/۸ و ۳۶/۱ درصد آنتی‌بادی بر ضدسروتیپ H_1N_1 وجود داشت. همچنین فراوانی وجود آنتی‌بادی بر ضد سروتیپ H_3N_2 در جمعیت گاوهای نر و ماده به ترتیب ۸۳/۵ و ۹۳/۹ درصد و در جمعیت گاومیش‌های نر و ماده به ترتیب ۶۸/۶ و ۸۶/۱ درصد تعیین گردید. بررسی آماری نشان داد که جنسیت اثر معنی‌داری بر فراوانی وجود آنتی‌بادی نداشت ($P>۰/۰۵$). نتایج به دست آمده نشان داد که احتمال وجود آنتی‌بادی بر ضد هر دو سروتیپ H_1N_1 و H_3N_2 در جمعیت گاوهای نر و ماده به ترتیب ۱۴/۹ و ۳۳/۳ درصد می‌باشد که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست ($P>۰/۰۵$)(جدول ۲).

جدول۱- فراوانی وجود آنتی‌بادی بر علیه سویه‌های H_1N_1 و H_3N_2 آنفلوانزای A در گاو و گاومیش

نوع دام	H1N1	H3N2	H3N2 H1N1	منفی	کل
گاو	۲۱(٪۲۱)*	۸۷(٪۸۷)	۲۱(٪۲۱)*	۱۳(٪۱۳)	۱۰۰(٪۱۰۰)
گاومیش	۲۷(٪۲۷)	۷۵(٪۷۵)	۲۷(٪۲۷)	۲۵(٪۲۵)	۱۰۰(٪۱۰۰)

* نشاندهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار در جمعیت است.

جدول۲-فراوانی وجود آنتی‌بادی بر علیه سویه‌های H_1N_1 و H_3N_2 آنفلوانزای A در دو جنس نر و ماده در گاو و گاومیش

نوع دام		H1N1	H3N2	H3N2 H1N1	منفی	کل
گاو	نر	۱۰(٪۱۴/۹)	۵۶(٪۸۳/۵)	۱۰(٪۱۴/۹)	۱۱(٪۱۶/۴)	۶۷(٪۱۰۰)
	ماده	۱۱(٪۳۳/۳)	۳۱(٪۹۳/۹)	۱۱(٪۳۳/۳)	۲(٪۶)	۳۳(٪۱۰۰)
گاومیش	نر	۱۴(٪۲۱/۸)	۴۴(٪۶۸/۶)	۱۴(٪۲۱/۸)	۲۰(٪۳۱/۲)	۶۴(٪۱۰۰)
	ماده	۱۳(٪۳۶/۱)	۳۱(٪۸۶/۱)	۱۳(٪۳۶/۱)	۵(٪۱۳/۹)	۳۶(٪۱۰۰)

بحث

در این مطالعه مشاهده گردید که به ترتیب در گاوها و گاومیش‌های مورد تحقیق ۲۱ و ۲۷ درصد بر علیه سروتیپ H_1N_1 و ۸۷ و ۷۵ درصد بر علیه سروتیپ H_3N_2 آنتی‌بادی ویروسی وجود دارد. این یافته‌ها شباهت زیادی به مطالعات براون و همکاران (۱۹۹۸) و گانینگ و همکاران (۱۹۹۹) که سروتیپ‌های فوق را در گاو مورد تحقیق قرار داده بودند دارد (۱۱و۲). آلودگی به سروتیپ H_3N_2 در گاو بیشتر از H_1N_1 می‌باشد (۷). اگر چه عده‌ای از محققین واکنش‌های متقاطع وسیعی را با سروتیپ‌های H_1N_1 و H_3N_2 در گاوها گزارش نموده‌اند (۲). در سال ۱۹۹۸/۱۹۹۹ و ۱۹۹۹/۲۰۰۰ سازمان جهانی بهداشت از سروتیپ‌های H_1N_1 و H_3N_2 جهت واکسن‌های انسانی استفاده نمود (این واکسن‌ها کشته میباشند و قابل انتقال نیستند) (۲۹و۲۷). در این سال‌ها همزمان با واکسیناسیون انسان بر علیه سروتیپ‌های فوق تیتر خونی فوق‌العاده بالایی بر علیه H_3N_2 در خون گاوها مشاهده گردید که این می‌تواند مطرح کننده احتمال وجود چرخه‌ی انسانی-گاوی ویروس آنفلوانزا (human-bovine cycle) باشد. اگر چه برای اثبات این قضیه باید ویروس از گاوها جدا گردد ولی بالا بودن تیترآنتی‌بادی ضدویروس H_3N_2 در خون گاوها و آلودگی انسان به این سروتیپ در سرتاسر اروپا و نواحی مختلفی از جهان تئوری فوق را قوت می‌بخشد (۳۰و۲۸،۲۶).

اگر چه تیتر بالایی از آنتی‌بادی بر علیه ویروس‌های انسانی در گاو گزارش شده است ولی نمی‌توان به طور قاطع علائم تنفسی گزارش شده در گاوهای مختلف را به ویروس آنفلوانزا مربوط دانست چرا که اولاً همزمان با تیتر بالای سرمی بر علیه آنفلوانزای انسانی تیتر بالایی بر علیه سایر ویروس‌های تنفسی در گاوها مشاهده گردید، ثانیاً همانگونه که در مورد سایر ویروس‌های تنفسی نیز صادق است این امکان وجود دارد که آلودگی به ویروس آنفلوانزای جنس A در گاوها یک امر تحت کلینیکی باشد و افزایش تیتر خونی الزاماً دلیل بر ابتلاء به بیماری نباشد (۳). برای اینکه نشان داده شود که ویروس آنفلوانزای جنس A می‌تواند عامل بیماری در گاوها باشد به مطالعات بیشتری احتیاج است. با این وجود نشان داده شده است که آلودگی تجربی گوساله‌ها به سروتیپ‌های گاوی (۲۲و۴) و خوکی (۱۶) با بروز علائم کلینیکی همراه بوده که می‌تواند بیانگر بیماری‌زا بودن این ویروس برای گاوها باشد. در روسیه بروز آنفلوانزای A گاوی را همزمان با شیوع بیماری در انسان و شروع فصل ابتلاء به آنفلوانزا در نیمکره شمالی گزارش کرده‌اند (۲۱). ویروس آنفلوانزای جنس A علاوه بر ایجاد علائم کلینیکی در گاوها می‌تواند با سقوط تولید شیر در آن‌ها برای یک دوره کوتاه همراه باشد که از نظر اقتصادی با خسارت بالایی همراه است.

محققین انگلیسی از سال ۱۹۹۰ به بعد متوجه شدند که کاهش دوره‌ای تولید شیر در گاوداری‌های آن کشور متداول است که هیچکدام در ارتباط با بیماری‌های رایج کاهنده شیر شامل BVD، IBR، لپتوسپیروز، سالمونلوز و ... نمی‌باشد (۱۰). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۲ در انگلستان در ۵ گله بر روی ۴۰ رأس گاو با سابقه افت دوره‌ای تولید شیر صورت پذیرفت مشاهده گردید تیتر خون ۶۰ درصد گاوان مورد مطالعه برای آنفلوانزای جنسA سروتیپ H_1N_1 و ۶۵ درصد برای H_3N_2 روندی صعودی داشت (۱۰). تیتر مثبت خونی برای آنفلوانزای جنس A به همراه افت تولید شیر و تیتر منفی برای سایر بیماری‌های کاهنده تولید شیر در این دسته از گاوها این تئوری را مبنی بر نقش این ویروس در کاهش تولید شیر قوت می‌بخشد. یافته‌های این

مطالعه برای اولین بار مشخص ساخت که سروتیپ‌های H_1N_1 و H_3N_2 ویروس آنفلوانزا پتانسیل آلوده ساختن جمعیت گاو و گاومیش را در ایران دارا می‌باشد.در مطالعه کنونی اگر چه تیتر بالای آنتی‌بادی ویروس آنفلوانزا در درصد بالایی از گاوها و گاومیش‌های شهرستان اهواز نشان داده شد ولی اینکه بر روی تولید شیر آن‌ها تأثیر داشته باشد مورد توجه قرار نگرفت که می‌تواند زمینه‌ای برای مطالعه‌ی بعدی باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز که هزینه اجرای این تحقیق را را فراهم نمودند، قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. Banks, J., Speidel, E., Alexander, D.J. (1998). Characterisation of an avian influenza A virus isolated from a human- is an intermediate host necessary for the emergence of pandemic influenza viruses. *Archives of Virology* **143**: 781-7.
2. Brown, I.H., Crawshaw, T.R., Harris, P.A., Alexander, D.J. (1998). Detection of antibodies to influenza A virus in cattle in association with respiratory disease and reduced milk yield. *Veterinary Record* **143**: 637-8.
3. Caldow, G.L., Edwards, S., Peters, A.R., Nixon, P., Ibata G., Sayers, R. (1993). Associations between viral infections and respiratory disease in artificially reared calves. *Veterinary Record* **133**: 85-9.
4. Campbell, C.H., Easterday, B.C., Webster, R.G. (1977). Strains of Hong Kong influenza virus in calves. *Journal of Infectious Diseases* **135**: 678-80.
5. Claas, E.C.J. (2000). Pandemic influenza is a zoonosis, as it requires introduction of avian-like gene sequences in the human population. *Veterinary Microbiology* **74**:133-9.
6. Fatkhuddinova, M.F., Kiryanova, A.I., Isachenko, V.A., Sakstel'skaya, L.Y.A. (1973). Excretion and identification of influenza virus type A/Hong Kong in cattle with respiratory disease. *Voprosy Virusologii* **4**:474-8.
7. Graham, D.A., Calvert, V., Mclaren, I.E. (2002). Retrospective analysis of serum and nasal mucus from cattle in Northern Ireland for evidence of infection with influenza A virus. *Veterinary Record* **150**: 201-4.
8. Graves, I.L., Pyakural, S., Sousa V. (1974). Susceptibility of a yak to influenza A viruses and presence of H_3N_2 antibodies in animals in Nepal and India. *Bulletin of the World Health Organization* **51**: 173-7.
9. Gunenkov, V.V. (1979). Isolation and properties of influenza virus type A from cattle. *Sbornik Nauchnykh Trudov Moskovskaya Veterinarnaya Akademiya***106**: 74-6.
10. Gunning, R.F. (2002). Sporadic milk drop in dairy cows: a new causal agent to consider? *In Practice* 24: 469-70.
11. Gunning, R.F., Brown, I.H., Crawshaw, T.R. (1999). Evidence of influenza A virus infection in dairy cows with sporadic milk drop syndrome. *Veterinary Record* **145**: 556-7.
12. Itagaki, K., Nakao, T., Okada, M., Iwasaki, A. (1983). Studies on influenza type A virus. A survey of antibody for human type A influenza virus in various animals. *Yamaguchi Journal of Veterinary Medicine* **10**: 47-52.
13. Jonges, M., Liu, W.M., Van der Vries, E., Jacobi, R., Pronk, I., Boog, C., Koopmans, M., Meijer, A., Soethout, E. (2010). Influenza virus inactivation for studies of antigenicity and phenotypic neuraminidase inhibitor resistance profiling. *Journal of Clinical Microbiology* **48**:928-40.
14. Kyazimova, A.A., Rakhmani, P.A., Babaeva, L.I., Kagramanov, T.B., Isachenko, V.A. (1975). A serological survey of the distribution of influenza viruses in cattle, (buffalo and swine) in the Azerbaidzhanskaya SSR. *Ekologiya Virusov* **3**: 98-101.
15. Lin, Y.P., Shaw, M., Gregory, V., Cameron, K., Lim, W., Klimov, A., Subbarao, K., Guan, Y., Krauss, S., Shortridge, K., Webster, R., Cox, N., Hay, A. (2000). Avian-to-human transmission of H_9N_2 subtype influenza viruses:

relationship between H_9N_2 and H_5N_1 human isolates. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **97**: 9654-8.
16. Lopez, J.W., Woods, G.T. (1987). Responses of calves to exposure with swine influenza virus. *American Journal of Veterinary Research* **48**: 1264-8.
17. OIE- World organization for animal health (2012). Equine Influenza. *Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals*. Chapter 2, 5, 7.
18. Ratvi, V., Desai, A., Madhusdana, S.N. (2011). *Virology Manual of the Department of Neurovirology*, NIMHANS, Bangalore, 560029.
19. Selleck, P.W., Kirkland, P.D. (2012). Avian influenza in Australia and New Zealand Standard Diagnostic Procedures, http://www.scahls.org.au/Procedures/Pages/ANZSDPs.aspx
20. Smetanin, M.A. (1982a). Clinical manifestations of influenza in cattle. *Veterinariya* **9**: 39.
21. Smetanin, M.A. (1982b). The course of influenza among cattle in the Central Volga region of the USSR. *Sbornik Nauchnykh Trudov, Kazanskii Veterinarnyi Institut* 45-7.
22. Smetanin, M.A., Gaffarov, Kh.Z. (1983). Experimental influenza in calves. *Sbornik Nauchnykh Trudov, Kazanskii Veterinarnyi Institut* 26-9.
23. Suarez, D.L., Perdue, M.L., Cox, N., Rowe, T., Bender, C., Huang, J., Swayne, D.E. (1998). Comparisons of highly virulent H_5N_1 influenza A viruses isolated from humans and chickens from Hong Kong. *Journal of Virology* **72**: 6678-88.
24. Tanyi, J., Romvary, J., Aldasy, P., Mathe, Z. (1974). Isolation of type A influenza virus from cattle (preliminary report). *Magyar Allatorvosok Lapja* **29**: 373-4.
25. Weisser, H. (1979). Occurrence of influenza A virus in wild birds and some domestic animals. PhD thesis, Fachbereich Tiermedizin, Munich.
26. WHO (1998a). Influenza in the World: October 1, 1996 to September 30, 1997. *Weekly Epidemiological Record* **73**: 41-6.
27. WHO (1998b). Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 1998-1999 season. *Weekly Epidemiological Record* **73**: 56-61.
28. WHO (1999a). Influenza in the World: October 1, 1997 to September 30, 1998. *Weekly Epidemiological Record* **74**: 41-5.
29. WHO (1999b). Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 1999-2000 season. *Weekly Epidemiological Record* **74**: 57-61.
30. WHO (2000). Influenza in the World: October 1, 1998 to September 30, 1999. *Weekly Epidemiological Record* **75**: 49-52.
31. Yang, D.K., Kweon, C.H., Hankim, B., Park, J.K., So, B.J., Song, J.Y. (2007). Serological survey of bovine Cronavirus in horse. *Journal of Bacteriology and Virology* **37**:105-9.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 12, Issue 1, 2016

Detection of Antibodies to Influenza a Viruses (H_1N_1 , H_3N_2) in Cattle and Buffaloes in Ahvaz Abattoir

Rasooli, A.[1,2*], Nouri, M.[3], Seyfi Abad Shapouri, M.R.[4], Rahmatollahi, H.[5]

1. Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Department of Animal Health Management, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran
3. Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
4. Department of Pathobiology, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
5. Graduated student, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received Date: 2 June 2014 *Accepted Date: 16 June 2015*

Abstract: *Blood samples were collected randomly from 100 cattle and 100 buffaloes slaughtered at Ahvaz municipal abattoir. The sera were separated after centrifugation (3000 rpm for 10 min.) and stored at -20°C till assayed. For detecting serologic response to H_1N_1 and H_3N_2 influenza viruses, all samples were treated with kaolin, then hemagglutination inhibition (HI) test was performed. The results of this study showed that, in cattle 87 percent (males: 83.5% , females: 93.9%) and in buffaloes 75 percent (males: 68.6% , females: 86.1%) were positive for H_3N_2. In cattle 21 percent (males: 14.9% , females: 33.3%) and in buffaloes 27 percent (males: 21.8% , females: 36.1%) were positive for H_1N_1, and 21 percent of cattle (males: 14.9% , females: 33.3%) and 27 percent of buffaloes (males: 21.8% , females: 36.1%) were positive for both H_1N_1 and H_3N_2 viruses. Totally 13% of cattle and 25% of buffaloes were negative. Our findings showed that H_1N_1 and H_3N_2 strains of influenza virus have potential to infect cattle and buffaloes in this region. Therefore, further researches should be focused on clinical feature and economic importance of influenza A infection in cattle and buffaloes.*

Keywords: *Influenza A; H_1N_1, H_3N_2, Cattle; Buffalo; Ahvaz*

**Corresponding author: Rasooli, A.*
Address: Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. Tel: 09163150948
Email: a.rasooli@scu.ac.ir