بررسی حضور آنتی بادی‌های سرمی ضد ویروس آنفلوانزای مرغی تحت تیپ H9N2 درجمعیت انسانی منطقه اردبیل

آیدین عزیزپور*[۱]، سعید بکائی[۲]، نریمان شیخی[۳]، شهرام حبیب‌زاده[٤]

چکیده

ویروس‌های خانواده ارتومیکسوویریده (ویروس‌های آنفلونزا) عامل عمده‌ای در ایجاد بیماری و مرگ و میرناشی از بیماری تنفسی درجمعیت انسانی به شمار می روند. با توجه به این که تحت تیپ H_9N_2 عامل ایجاد 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 منطقه اردبیل نشده بود. لذا این تحقیق جهت بررسی حضور آنتی بادی‌های سرمی ضد ویروس آنفلونزای مرغی تحت تیپ H_9N_2 در گروه های 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 رده های سنی مختلف شامل ۸٦ نمونه سرم خون بیماران با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان امام خمینی(ره) ،۸۸ نمونه سرم بیماران بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارستان، ٤۱ نمونه سرم دامپزشکان و واکسیناتورهای دامپزشکی، ٤٤ نمونه سرم پرسنل بهداشتی شاغل در بیمارستان و ۵۲ نمونه سرم مرغداران و کارگران مرغداریها و کشتارگاه‌های طیور جمع آوری گردید.عیار آنتی‌بادی‌های ضد ویروس آنفلوانزای مرغی تحت تیپ H_9N_2 توسط آزمایش **HI** اندازه گیری شد. اطلاعات آماری با استفاده از نرم افزار آماری **SPSS** مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.در گروه بیماران ۳۷/۲٪ با عیار سرمی ۱۰/۷٤±۲۲/۰۳ از افراد با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان و ۲۳/۹ ٪ با عیارسرمی ۱۰/٤۱±۲۱/۸۸ از افراد بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارستان مثبت بودند .درگروه سالم ۲۹/۳٪ با عیار سرمی ۱۰/۵۹±۲۱/۱٤ از دامپزشکان و واکسیناتورها ،۱۸/۲٪ با عیار سرمی ۱۰/۰۰±۲۰/۰۰ از پرسنل بهداشتی شاغل در بیمارستان و ۱۵/٤٪ با عیار سرمی ۱۱/۳۵±۲٦/۰۲ از مرغداران و کارگران مرغداریها وکشتارگاه های طیور نسبت به تحت تیپ H_9N_2 ویروس آنفلوانزای**A** واکنش سرمی مثبت نشان دادند **(HI titers ≥1/20)** .در گروه های بیمار و سالم بیشترین فراوانی واکنش مثبت سرمی در گروه سنی زیر ۳۰ سال (۲٦/۵٪) و جنس مردان(۲۷٪) و کمترین آن درگروه سنی ٤٦-٦۰ سال (۲۲/٤٪)و جنس زنان (۲۳/٦٪) به دست آمد که از لحاظ آماری معنی‌دار نبودند($p\geq ۰/۰۵$).نتایج این مطالعه حاکی از تماس گروه های مختلف جمعیت انسانی با تحت تیپ H_9N_2 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 H_9N_2، جمعیت انسانی ، منطقه اردبیل*

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

مقدمه

ویروس‌های خانواده ارتومیکسوویریده (ویروس‌های آنفلونزا) عامل عمده‌ای در ایجاد بیماری و مرگ و میرناشی از بیماری تنفسی جمعیت انسانی به شمار می‌روند و همه‌گیری‌های آن اپیدمی جهانی ایجاد می‌کند. آنفلونزا در سطح جهان درقرن اخیر باعث مرگ میلیون‌ها شده است (۳).درهمه گیری بین سال‌های ۱۹۱۹-۱۹۱۸ حدود ۲۰ میلیون انسان در اثر بیماری آنفلونزا تلف گردیدند و به دنبال این همه گیری مطالعات روی این بیماری بیشتر و سریع‌تر شده است(۷). همچنین بیماری‌های ناشی از ویروس‌های این خانواده در سایر گونه‌ها به خصوص پرندگان از نظر اقتصادی بسیار با اهمیت بوده و علاوه بر خسارات مستقیم ناشی از خود بیماری، کنترل، پیشگیری و ریشه کنی آن بسیار پر هزینه است(٤). عامل این بیماری متعلق به خانواده ارتومیکسوویریده می‌باشد.درحال حاضر ویروس‌های این خانواده به سه تیپ C,B,A تقسیم بندی می‌شوند که این تیپ‌ها از نظر الگوهای اپیدمیولوژیک بیماری در انسان تفاوت های قابل توجهی دارند. بطوریکه می توان گفت ویروس آنفلونزای نوع A مهمترین تیپ این خانواده ازنظربیماریزایی درانسان،پرندگان و برخی از پستانداران به شمار می رود ،درحالیکه تیپ های C,B تنها از انسان جداشده اند و بیماری‌زایی آنها درانسان نسبت به تیپ A کمتر است(۱۷و ۱۵، ۱۱، ۸، ۱) .ویروس آنفلونزای تیپ A از لحاظ آنتی ژنی به شدت متغییر بوده و مسئول اکثر موارد اپیدمی‌های گسترده آنفلونزا در سراسر جهان می‌باشد. تحت

۱*. دانشگاه آزاد اسلامی واحد اردبیل، باشگاه پژوهشگران جوان ، اردبیل،ایران Aidin_azizpour@yahoo.com

۲- بخش اپیدمیولوژی و بیماریهای مشترک گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی،دانشگاه تهران ،ایران.

۳- گروه بیماریهای طیور، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی ،دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات،تهران ،ایران

٤- گروه بیماریهای عفونی، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی اردبیل ،ایران.

تیپ‌های ویروس آنفلونزای نوع A بر اساس دو گلیکو پروتئین هماگلوتینین(HA) و نورآمینیداز(NA) تعیین می شود که تاکنون ۱۶نوع HA و۹نوعNA شناسایی شده است(۲،۱۶،۱۷،۱۸،۱۹).در عفونت‌های انسانی سه تحت تیپ HA (H_1 تا H_3) و دو تحت تیپNA (N_1 و N_2) تحت تیپ هایی بودند که بیشتر جدا شده اند. تحت تیپ‌های H_5, H_7, H_9 تحت تیپ های قابل انتقال ویروس آنفلونزای پرندگان به انسان می باشد که تحت تیپ‌های H_5,H_7 دارای بیماریزایی شدید و نوع H_9دارای بیماریزایی خفیف است(۸،۱۰،۱۹). ویروس‌های 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. گزارشاتی مبنی به ابتلاء انسان به تحت تیپ H_9N_2 توسط محققین وجود دارد (۱۵و ۷). 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 می‌باشد(۱۳و ۱۲، ۱۰، ٦، ۵). با توجه به این که تحت تیپ H_9N_2عامل بیماری آنفلونزای مرغی در جمعیت طیور ایران در چند سال اخیر بوده است. تاکنون مطالعه‌ای در راستای بررسی میزان شیوع سرمی ویروس آنفلونزای مرغی درجامعه انسانی به خصوص افراد مرتبط و غیرمرتبط با صنعت طیور در منطقه اردبیل نشده بود.در این تحقیق به بررسی سرولوژیکی حضور آنتی بادی‌های ضد ویروس آنفلوانزای 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، مرغداران وکارگران مرغداری‌ها و کشتارگاه‌های طیور و همچنین دامپزشکان و واکسیناتورها در منطقه اردبیل پرداخته می‌شود.

مواد و روش کار

تعداد ۳۱۱ نمونه سرم خون انسانی از دو گروه بیمار و سالم با جنس و رده‌های سنی مختلف از اوایل آبان تا اوایل اسفند ماه سال ۱۳۸۸ جمع آوری گردید که گروه بیمار شامل ۸٦ 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 ٤١ نمونه سرم خون دامپزشکان و واکسیناتورهای دامپزشکی، ٤٤ نمونه سرم خون پرسنل بهداشتی بیمارستان امام خمینی(ره) و ۵۲ نمونه خون مرغداران و کارگران مرغداریها وکشتارگاه 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 عمدتا بدلایل 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(عمدتا پزشک، پرستار، کاردان آزمایشگاه و کمک بهیار شاغل در بخشهای ICU، داخلی زنان، اورژانس، آزمایشگاه، داخلی مردان وعفونی بودند) ،دامپزشکان و واکسیناتورها (شاغل در بخشهای دولتی و خصوصی) و مرغداران وکارگران مرغداری ها وکشتارگاه های طیور با مراجعه حضوری و پس از اخذ موافقت آنها عملیات خونگیری با همان روش قبلی صورت گرفت. نمونه‌های خونی اخذ شده از گروه‌های مختلف مورد بررسی به داخل لوله آزمایش انتقال و بلافاصله به بخش آزمایشگاه بیمارستان امام (ره) ارسال می گردید که ابتدا نمونه‌ها به مدت یک ساعت دردمای آزمایشگاه نگهداری تا درلوله ها لخته تشکیل شود و سپس لوله ها به مدت ۱۲ ساعت دریخچال ٤ 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 لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی لیتر انتقال و در فریزر منهای

۲۰ درجه سانتیگراد تا انجام آزمایش نگهداری می شد تا تعداد آنها به حد نصاب برسد.در نهایت تمام نمونه‌های سرمی به بخش بیماریهای طیور سازمان دامپزشکی و آزمایشگاه پاستور دامپزشکی جهت جستجوی آنتی بادی ضد ویروس آنفلوانزای مرغی تحت تیپ H_9N_2 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 ٤- سرم مورد آزمایش ٤- پلیت ۵- میکروپیپت.

آماده سازی رقت سرم

جهت حذف آنتی‌بادی‌های غیر اختصاصی ابتدا یک قسمت از سرم با سه قسمت از آنزیم RDE (Receptor destroying enzyme)رقیق و به مدت ٢٤ ساعت در ۳۷°C نگهداری شد و رقت حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در ۵٦°C برای غیر فعال شدن آنزیم قرار داده شد و سپس شش قسمت سرم فیزیولوژی به آن اضافه و رقت نهای سرم (۱/۱۰) بدست آمد.

ب: روش کار

ابتدا در تمامی ۱۲ گوده (به جزءگوده 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 نهای 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.بعدا به تمامی گوده ها ۲۵ میکرولیتر محلول آنتی ژن استاندارد (٤ واحد HA) افزوده گردید.پس از این مرحله درپوش پلیت گذاشته و به مدت ۳۰ دقیقه در دمای اتاق (°C ۲۵ تا ۲۲) نگهداری شد که بعد از این زمان به تمامی گوده ها 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،۱٤).

آنالیز آماری

داده‌های جمع آوری 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 گروه های 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 آنفلوانزای مرغی تحت تیپH_9N_2 در نمونه‌های سرم اخذ شده از گروه های مختلف جمعیت انسانی شامل بیماران با عوارض تنفسی بستری در بیمارستان، بیماران بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارستان، پرسنل بهداشتی شاغل در بیمارستان و مرغداران وکارگران مرغداری‌ها و کشتارگاه‌های طیور و همچنین دامپزشکان و واکسیناتورها توسط تست HI سنجیده شد. نمونه‌های که دارای عیار HI مساوی و بالاتر از ۱/۲۰داشتند به عنوان حضور معنی‌دار آنتی بادی و واکنش مثبت سرمی در نظر گرفته شدند. نتایج حاصله در جداول ۱،۲ ۳،٤ نشان داده شده است.

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

گروه‌ها	تعداد نمونه	تعداد واکنش مثبت سرمی	درصد مثبت سرمی در هرگروه	درصد مثبت سرمی از کل نمونه‌های مثبت	درصد مثبت سرمی از کل نمونه اخذ شده	خطای معیار ± میانگین	ک ت	ب ت
بیماران	۱۷٤	۵۳	۳۰/۵	٦۵/٤	۱۷	۲۱/۸۸±۱۰/۳۸	۱/۲۰	۱/۸۰
سالم	۱۳۷	۲۸	۲۰/٤	۳٤/۵	۹	۲۲/۰۳±۱۰/٤۷	۱/۲۰	۱/٤۰
جمع	۳۱۱	۸۱	۲٦	۱۰۰	۲٦	-	-	-

ک ت: کمترین تیتر ب ت: بیشترین تیتر

از مجموع ۳۱۱ نمونه سرم خون انسانی جمع‌آوری شده،۱۷٤ نمونه مربوط به گروه بیماران و ۱۳۷ نمونه مربوط به گروه سالم‌ها بودند. گروه‌های بیمار و سالم به ترتیب ۳۰/۵ و ۲۰/٤ درصد واکنش سرمی مثبت در آزمایشHI نشان دادندکه از لحاظ آماری معنی‌دار بود (p<۰/۰۵). با توجه به توزیع آماره‌های مربوط به عیار HI بیشترین و کمترین میزان میانگین تیتر به ترتیب مربوط به گروه‌های سالم و بیمار به دست آمد. هرچند که رابطه آماری معنی‌داری بین این دو گروه وجو نداشت(p>۰/۰۵). در هر دو گروه مورد بررسی کمترین میزان عیار ۱/۲۰ و بیشترین میزان آن به ترتیب در گروه‌های بیمار و سالم ۱/۸۰ و ۱/٤۰ مشاهده گردید (جدول ۱-۱).

جدول ۱-۲- مقایسه موارد مثبت سرمی و عیار تست HI در گروه های بیمار

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
RD	۸٦	۳۲	۳۷/۲	٦۰/٤	۱۸/٤	۲۲/۰۳±۱۰/۷٤	۱/۲۰	۱/٤۰
NRD	۸۸	۲۱	۲۳/۹	۳۹/٦	۱۲/۱	۲۱/۸۸±۱۰/٤۱	۱/۲۰	۱/۸۰
جمع کل	۱۷٤	۵۳	۳۰/۵	۱۰۰	۳۰/۵	-	-	-

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

آنالیز آماری نشان می‌دهد بین عوارض تنفسی بیماران با حضور معنی دار آنتی بادی، ارتباط مثبت و معنی داری وجود دارد (p<۰/۰۵).یعنی در این تحقیق می توان گفت که هرچه افراد مشکلات تنفسی داشته باشند،احتمال بروز بیماری بیشتر می شود. در بیماران با عوارض تنفسی در مقایسه با بیماران بدون عوارض تنفسی بیشترین میزان میانگین عیار HI مشاهده گردید، هر چند که این اختلاف از لحاظ آماری معنی دار نبود(۰/۰۵ <p). در هر دو گروه بیماران کمترین میزان عیار ۱/۲۰ و بیشترین میزان آن به ترتیب در بیماران بدون عوارض تنفسی و با عوارض تنفسی ۱/۸۰ و ۱/٤۰ به دست آمد (جدول ۱-۲).

جدول ۱-۳ـ مقایسه موارد مثبت سرمی و عیار تست HI در گروه‌های 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
VET	٤۱	۱۲	۲۹/۳	٤۲/۸	۸/۸	۲۱/۱٤±۱۰/۵۹	۱/۲۰	۱/٤۰
PH	٤٤	۸	۱۸/۲	۲۸/٦	۵/۸	۲۰/۰۰±۱۰/۰۰	۱/۲۰	۱/۲۰
PW	۵۲	۸	۱۵/٤	۲۸/٦	۵/۸	۲٦/۰۲±۱۱/۳۵	۱/۲۰	۱/٤۰
جمع کل	۱۳۷	۲۸	-	۱۰۰	۲۰/٤	-	-	-

VET : دامپزشکان و واکسیناتورها PH :پرسنل بهداشتی بیمارستان PW :مرغداران وکارگران مرغداری‌ها

با توجه به جدول ۱-۳ توزیع فراوانی واکنش مثبت سرمی در گروه دامپزشکان و واکسیناتورها ۲۹/۳ درصد، پرسنل بهداشتی بیمارستان ۱۸/۲ درصد و مرغداران و کارگران مرغداریها و کشتارگاه‌های طیور ۱۵/٤ درصد تعیین گردید که از لحاظ آماری دارای اختلاف معنی‌داری نیستند (p>۰/۰۵). با توجه به تجزیه و تحلیل آماری بیشترین و

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>۰/۰۵) در گروه‌های سالم کمترین میزان عیار ۱/۲۰ و بیشترین میزان آن به ترتیب در گروه‌های دامپزشکان و واکسیناتورها،مرغداران وکارگران مرغداریها و پرسنل بهداشتی بیمارستان ۱/٤۰، ۱/٤۰ و ۱/۲۰ بود.

جدول ۲-۱. مقایسه وضعیت تیترهای مثبت سرمی در بین ٤ رده سنی گروه های بیمار و سالم.

گروهها	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی زیر ۳۰ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی۳۱ -٤۵ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی ٤٦-٦۰ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی بالای ٦۰ سال
بیماران	۷(۳۸/۹٪)	۱۱(٤۰/۷٪)	۱۲(۲٤٪)	۲۳(۲۹/۱٪)
سالم	۱۹(۲۳/۸٪)	۸(۱٦/۳٪)	۱(۱۲/۵٪)	-
جمع	۲٦(۲٦/۵٪)	۱۹(۲۵٪)	۱۳(۲۲/٤٪)	۲۳(۲۹/۱٪)

جدول ۲-۲. مقایسه وضعیت تیترهای مثبت سرمی در بین ٤ رده سنی گروه های بیمار.

گروه‌ها	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی زیر ۳۰ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی ۳۱-٤۵ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی ٤٦-٦۰ سال	تعداد و درصد موارد مثبت سرمی در گروه سنی بالای ٦۰ سال
بیماران با عوارض تنفسی	٤(٦٦/۷٪)	۳ (۳۳٪)	۸(۳۳/۳٪)	۱۷(۳٦/۲٪)
بیماران بدون عوارض تنفسی	۳(۲۵٪)	۸(٤٤/٤٪)	٤(۱۵/٤٪)	٦(۱۸/۸٪)
جمع	۷(۳۸/۹٪)	۱۱(٤۰/۷٪)	۱۲(۲٤٪)	۲۳(۲۹/۱٪)

ارتباط بین سنین مختلف با حضور معنی‌دار آنتی بادی در گروه های حاضر مورد بررسی قرار گرفت . بطوریکه در هر دو گروه کمترین میزان واکنش مثبت سرمی درگروه سنی ٤٦-٦۰ و بیشترین میزان آن در گروه های بیمار و سالم به ترتیب گروه های سنی ۳۱-٤۵ و زیر ۳۰ سال بوده است. البته لازم بذکر است که در گروه سنی ۳۱-٤۵ سال بین دو گروه بیمار و سالم اختلاف معنی دار مشاهده گردید (p<۰/۰۵) درحالیکه در سایر گروه های سنی تفاوت معنی دار وجود نداشت(جدول ۲-۱).

در بیماران با عوارض تنفسی کمترین میزان حضور معنی دار آنتی بادی در گروه سنی ۳۱-٤۵ (۳۳٪) و بیشترین میزان آن در گروه سنی زیر ۳۰ سال(٦٦/۷٪) مشاهده گردید. در حالیکه در بیماران بدون عوارض تنفسی بیشترین میزان واکنش سرمی در گروه سنی ۳۱-٤۵ (٤٤/٤٪) و کمترین میزان آن در گروه سنی ٤٦-٦۰ سال(۱۵/٤٪) بدست آمد، با توجه به تجزیه و تحلیلی آماری بین گروه های بیمار در چهار رده سنی تفاوت معنی دار مشاهده نگردید(p>۰/۰۵)(جدول ۲-۲).

جدول ۲-۳- مقایسه وضعیت تیترهای مثبت سرمی در بین ۳رده سنی گروه‌های 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 ٤٦-٦٠ سال
دامپزشکان و واکسیناتورها	۸(٪٤۲/۱)	٤ (٪۱۹)	-
پرسنل بهداشتی بیمارستان	٦(٪۱۹/٤)	۲(٪۱٦/۷)	-
مرغداران وکارگران مرغداریها	٥(٪۱٦/۷)	۲(٪۱۲/٥)	۱(٪۱٦/۷)
جمع کل	۱۹(٪۲۳/۸)	۸(٪۱٦/۳)	۱(٪۱۲/٥)

با توجه به جدول ۲-۳ در گروه‌های مرتبط و غیر مرتبط با صنعت طیور بیشترین میزان حضور معنی‌دار آنتی‌بادی در گروه سنی زیر ۳۰ و کمترین میزان آن در گروه سنی ٤٦-٦۰ سال بوده است.به عبارت دیگر به موازات افزایش سن در گروه های سالم، میزان واکنش مثبت سرمی کاهش می‌یابد، هرچند که از لحاظ آماری معنی‌دار نیستند(p>۰/۰٥).

جدول ۳-۱- مقایسه موارد مثبت سرمی در گروه های بیمار و سالم بر اساس جنس.

گروه‌ها	تعداد نمونه	تعداد واکنش مثبت سرمی	درصد موارد مثبت سرمی در هر گروه	درصد واکنش مثبت سرمی از نمونه‌های مثبت براساس جنس	درصدمثبت سرمی از کل نمونه اخذ شده
بیمار مرد	۱۰۸	۳٥	۳۲/٤	٥۸/۳	۱۱/۲
سالم مرد	۱۱٤	۲٥	۲۱/۹	٤۱/۷	۸
بیمار زن	٦٦	۱۸	۲۷/۳	۸٥/۷	٥/۸
سالم زن	۲۳	۳	۱۳	۱٤/۳	۱
جمع مرد	۲۲۲	٦۰	۲۷	-	۱۹/۳
جمع زن	۸۹	۲۱	۲۳/٦	-	٦/۷
جمع کل	۳۱۱	۸۱	-	-	۲٦

رابطه بین جنس و میزان واکنش مثبت سرمی در گروه‌های مورد بررسی در جدول ۳-۱ نشان داده شده است.تجزیه و تحلیل آماری نشان می‌دهد که در هر دو گروه بیمار و سالم بیشترین توزیع فراوانی حضور معنی‌دار آنتی بادی در جنس مرد و کمترین توزیع فراوانی آن در جنس زن وجو دارد. هرچند که رابطه آماری معنی‌داری بین دو گروه بیمار و سالم از لحاظ جنس مرد و زن مشاهده نشد (p>۰/۰٥).

جدول ۳-۲- مقایسه موارد مثبت سرمی در گروه های بیمار بر اساس جنس

گروه‌ها	تعداد نمونه	تعداد واکنش مثبت سرمی	درصد موارد مثبت سرمی در هر گروه	درصد مثبت سرمی از نمونه‌های مثبت بر اساس جنس	درصدمثبت سرمی از کل نمونه اخذ شده
بیماران مرد با عوارض تنفسی	٥۸	۲۲	۳۷/۹	٦۲/۸	۱۲/٦
بیماران مرد بدون عوارض تنفسی	٥۰	۱۳	۲٦	۳۷/۲	۷/٥
بیماران زن با عوارض تنفسی	۲۸	۱۰	۳٥/۷	٥٥/٦	٥/۷
بیماران زن بدون عوارض تنفسی	۳۸	۸	۲۱/۱	٤٤/٤	٤/٦
جمع بیماران مرد	۱۰۸	۳٥	۳۲/٤	-	۲۰/۱
جمع بیماران زن	٦٦	۱۸	۲۷/۳	-	۱۰/۳
جمع کل	۱۷٤	٥۳	-	-	۳۰/٤

با توجه به آنالیز آماری بین نوع جنس و داشتن یـا نداشـتن عوارض تنفسی با حضور معنی دار آنتی بادی ارتباط آمـاری معنی‌داری مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). هر چند که از لحـاظ جنس مرد و زن بیـشترین میـزان واکـنش مثبـت سـرمی در بیماران با عوارض تنفـسی و کمتـرین میـزان آن در بیمـاران بدون عوارض تنفسی بوده است(جدول۳-۲).

جدول ۳-۳ـ مقایسه موارد مثبت سرمی در گروه های 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	درصدمثبت سرمی از کل نمونه اخذ شده
مرد دامپزشکان و واکسیناتورها	٤١	١٢	٢٩/٣	٤٨	٨/٨
مرد پرسنل بهداشتی بیمارستان	٢١	٥	٢٣/٨	٢٠	٣/٦
مرد مرغداران وکارگران مرغداری‌ها	٥٢	٨	١٥/٤	٣٢	٥/٨
*زن پرسنل بهداشتی بیمارستان	٢٣	٣	١٣	١٠٠	٢/٢
جمع مرد	١١٤	٢٥	٢١/٩	–	١٨/٢
جمع زن	٢٣	٣	١٣	–	٢/٢
جمع کل	١٣٧	٢٨	–	–	٢٠/٤

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

با توجه به جدول ۳-۳ بیشترین توزیع فراوانی حضور معنی‌دار آنتی بادی در جنس مرد گروه دامپزشکان و واکسیناتورها (۲۹/۳٪) و کمترین آن در مرغداران وکارگران مرغداری‌ها و کشتارگاه‌های طیور (۱۵/٤ درصد) تعیین گردید. هر چند که رابطه آماری معنی‌داری بین سه گروه مشاهده نشد (p>۰/۰۵).

بحث

بررسی تیتر آنتی بادی‌ها بر علیه ویروس آنفلـونزای مرغـی تحت تیپ H_9N_2 در نقاط مختلف جهان بین گونه‌های متعدد موجـودات توسـط محققـین صـورت گرفتـه اسـت. Vasfi Marandi و همکاران در سال ۱۹۹۸ به دنبال شیوع بیمـاری آنفلـونزای مرغـی در ایـران آنتـی‌بـادی‌هـای ضـد ویـروس آنفلـونزای مرغـی تحـت تیـپ H_9N_2 را در سـرم خـون جوجه‌های گوشتی ،تخمگذار و مادر به روش‌های HI و NI شناسایی کردند(۱۸). Eick و همکاران در سـال ۱۹۹۷ تیتـر آنتی‌بادی‌های ضدویروس آنفلونزای مرغی تحت تیپ H_9N_2 را در سرم خون تعدای از کـارگران مرغـداری‌هـا در هنـک کنـگ بـه روش خنثـی‌سـازی میکـرو سـنجیدند کـه ٤٩٪ (٢٤٩نفر) از افراد مورد آزمایش از نظر واکنش به این تحـت تیپ مثبت گزارش شدند(٦). در مطالعه ای که توسط Guo و همکاران در سال ۱۹۹۹ بر روی جمعیـت انـسانی، طیـور و خوک‌ها انجام گرفت .حضور معنی دار آنتی‌بادی‌های سرمی بر علیه ویـروس آنفلـونزای مرغـی تحـت تیـپ H_9N_2را در جمعیت انسانی به روش HI تقریبا ۱۹٪ تخمین زدند(۸). در بررسی که توسط Guoو همکاران د ر سـال ۲۰۰۰ صـورت گرفت،تیتر HI سرم بهبود یافتگـان و تیتـر نورآمینیـداز آنهـا مساوی یا بـالاتر از ۱/۲۰ بودنـد . تیتـر HI در سـرم مـادران بیماران انسانی نیز مشاهده شده بود. این احتمال وجود دارد کـه آلودگی مادران از طریق تماس با پرندگان به ویژه ماکیـان آلـوده

بـه ویـروس H_9N_2 صـورت گرفتـه و ذرات ویروسـی بطـور مستقیما از طریق هوا منتقل شده باشد(۹). با توجه به تحقیقـات انجام شده توسط Cheng و همکـاران در سـال ۲۰۰۲ در مـورد چگونگی توزیع ویروس H_9N_2در منطقه شنژن هنـگ کنـگ بـر روی ماکیان و جمعیت انسانی به روش تست HI (بـه صـورت میکروهماگلوتیناسیون) مشخص گردیـد کـه تقریبـا ۲٦ درصـد سرم افراد انسانی و ۷ درصد سرم ماکیان حاوی آنتی‌بـادی‌هـای ضد ویروس آنفلونزا تحـت تیـپH_9N_2 بودنـد(۵).در بررسـی سرولوژیکی که Li و همکاران در سال ۲۰۰٤ در منطقه گـوانژو چین بر روی ماکیان و انسان‌هـای مـرتبط شـغلی ماننـدکارگران فارم و کشتارگاه‌های طیور به روش ممانعت از هماگلوتیناسـیون انجام دادنـد. پـادتن ضـد ویـروس H_9N_2 در ماکیـان ۱۲/۸٪ و کـارگران ۵/۱٪ تـشخیص داده شـد(۱۲). در اکثـر مطالعـات محققین ویروس از نمونه‌های که عیار سرمی مساوی و بالاتر از ۱/۲۰داشت با روش‌های مولکولی نیز جداسازی گردید. مـا نیـز در این تحقیق عیار های مـساوی و بـالاتر از ۱/۲۰را بـه عنـوان واکنش مثبت سرمی نسبت به ویروس در نظر گرفتیم.

در ایران نیز با توجه به این که تحت تیـپ H_9N_2عامـل بیمـاری آنفلونزای مرغی در جمعیت طیور کشور در چند سال اخیر بوده است، مطالعه‌ای در جهت بررسی پادتن ضد ویـروس H_9N_2 در جامعه انسانی به خصوص افراد مرتبط و غیرمـرتبط بـا صـنعت طیور در مناطق مختلف کشور صـورت گرفتـه اسـت.مطالعـات انجام شده توسط پذیرا و همکاران در سال۸۷ حاکی از آلـودگی سرولوژیکی جمعیت انسانی منطقه شیراز با ویروس آنفلـوانزای مرغی تحت تیپH_9N_2 بود.بطوریکه میانگین تیتر آنتی‌بادی‌ها در گـروه دامپزشـکان در مقایـسه بـا گـروه مرغـداران و کـارگران مرغداری‌ها و گروهی که از لحاظ حرفه ای در تماس با صنعت طیور نبودند، بیشتر مشاهده گردید(۲).زمـانی مقـدم و همکـاران در سال۸۸ در منطقه شهرکرد به روش تست HI درصد واکـنش مثبت سرمی نسبت به این ویروس را در چهـارگروه مرغـداران و کارگران مرغداری‌ها، کارورزان رشته دامپزشکی و افراد مرتبط با شـغل دامپزشـکی ،بیمـاران بـا عـوارض تنفـسی بـستری در بیمارستان و بیماران بدون عوارض تنفسی بستری در بیمارسـتان بـــه ترتیـــب ٥٤/٨٪، ۳۰/۸ ٪، ۱۷/۸٪ و۱۱/۵ ٪ گـــزارش کردند(۳).در مطالعه دیگری که توسط Hadipour در سال ۲۰۱۱ انجام شد.حضور معنی دار آنتی بادها بر ضد ویروس آنفلوانزای مرغی تحت تیپH_9N_2درسرم پنج گروه از جمعیـت انـسانی در استان بوشهر تشخیص داده شد. بطوریکه واکنش مثبـت سـرمی در سه گروه از افراد مرتبط بـا صـنعت طیـور از قبیـل کـارگران مرغداری‌ها، کـارگران کـشتارگاه هـای طیـور و دامپزشـکان در مقایسه با دو گروه دیگر بیماران با عـوارض تنفـسی بـستری در بیمارستان و افراد معمولی جامعه بطور معنی دار بیـشتر مـشاهده گردید(۱۰).

در مطالعه حاضر میزان واکنش مثبت سرمی در گـروه بیمـاران در مقایسه با گروه سالم ها بطور معنی دار بیشتر بود و در گـروه بیماران میانگین عیار آنتی‌بـادی‌هـا برعلیـه ویـروس آنفلـوانزای نوعA (تحت تیپ H_9N_2)در افراد با عوارض تنفـسی بـستری در بیمارسـتان بیـشتر از افـراد بـدون عـوارض تنفـسی بـستری در بیمارستان مشاهده گردید. شاید علت این اخـتلاف را بـه تـوان چنین توجیه کرد که این احتمال وجـود دارد افـراد بـا عـوارض تنفسی از طریق تماس بـا پرنـدگان بـه ویـژه ماکیـان آلـوده بـه ویروس H_9N_2 ،ذرات ویروسی مستقیما از طریق هوا منتقل شده باشد ودر نتیجه سبب افزایش واکنش مثبت سـرمی و نیـز عیـار آنتی‌بادی‌های ضد ویروس آنفلونزای مرغی تحت تیپH_9N_2 در آنها شده است. در این مطالعه ارتباط بـین مـشاغل مختلـف بـا میزان حضور معنی دار آنتی‌بادی‌هـا در گـروه‌هـای سـالم مـورد بررسی قرار گرفت. بطوریکه دامپزشکان و واکسیناتورها نـسبت به دیگر گروه‌ها بیشترین واکـنش مثبـت سـرمی را نـسبت بـه انفلوآنزا داشتند که علت ایـن امـر شـاید برخـورد و رویـارویی بیشتر این گروه شغلی با جمعیت طیور آلوده بـه ایـن ویـروس باشد که باعث افزایش حضور معنی دار آنتی‌بادی‌ها نـسبت بـه

سایرین شده است .نتایج مشابهی در مشاغل مرتبط با صنعت طیور توسط زمانی‌مقدم 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 یافته های 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 می شود 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 بخش های 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.

فهرست منابع

۱. بزرگمهری‌فرد .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.، کشتکا.س.، هادی پور، م.(۱۳۷۸):بررسی تیتر 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 درجمعیت 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 (H_9N_2) در ایران،مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، ۸: ۲۳-۳۳.

5. Cheng, X., Lio, J., He, J., Shan, F. (2002): Viroogical 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 H_9N_2 virus repeatedly isolated from human population in China. Chin. J. Exp. Clin. Virol. 14:209–212.

10. Hadipour, M.M. (2011): Seroprevalence of H5 avain influenza virus in human population in boushehr province,Iran.Asian J. Anim .Vete. Advan.6:196-200.
11. Juikuneh, I., Glson,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 hemagglutinaion 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 poultry12th 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 subtybe 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.