

Research Article**Detection of avian influenza virus type A in broiler flocks with respiratory symptoms in some provinces of Iran****Behshad Baheshtian¹, Zahra Boroomand^{1*}, Masoud Reza Seyfi Abad Shapoori², Mansour Mayahi¹**¹*Department of livestock, poultry and aquatic animal health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran*²*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran***Key Words**

Zinc
In ovo injection
Chicken
Product health
Meat quality

Abstract

Introduction: Avian influenza is one of the most important and deadly poultry diseases all over the world and in Iran, which always causes massive losses in poultry farms. They are classified as common diseases or zoonotic. This study was designed to investigate the role of the influenza virus in causing casualties in the poultry farms of the country. Therefore, 28 flocks from four different provinces (Qazvin, Gilan, Zanjan and Khuzestan) were monitored.

Materials & Methods: Samples were taken from casualties suspected of respiratory diseases (10 chickens from each flock), and from tissues of the trachea, lungs, cecal tonsils, and kidneys. First, the presence of the influenza virus in the tissues was confirmed with the NP primers, and then the positive samples were evaluated with the specific H9 primer to check the presence of the H9N2 serotype.

Results: Out of the total of 28 flocks, 17 flocks were diagnosed positive with the NP primers, and 5 of these 17 flocks were positive with H9-specific primer.

Conclusion: According to the evaluation done in this study and the prevalence of the virus in a significant number of regions of the country, it is always recommended to follow biosecurity principles.

مقاله علمی - پژوهشی

ردیابی مولکولی ویروس آنفلوآنزا پرنده‌گان تیپ A در گله‌های گوشتی دارای عالیه تنفسی در برخی استان‌های ایران

بهشاد بهشتیان^۱، زهرا برومند^{۱*}، مسعود رضا صیفی‌آبادشاپوری^۲، منصور میاحی^۱

^۱ گروه بهداشت دام، طیور و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^۲ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

چکیده

کلمات کلیدی

مقدمه: بیماری آنفلوآنزا پرنده‌گان یکی از مهم‌ترین و کشنده‌ترین بیماری‌های طیور در سراسر جهان و ایران می‌باشد که همواره باعث تلفات گسترده در سطح مزارع پرورش طیور می‌شود. برخی از سویه‌های ویروس با عبور از سد بین گونه‌ای پرنده و انسان در گروه بیماری‌های مشترک یا زئونوز طبقه می‌شوند. این مطالعه به جهت بررسی نقش ویروس آنفلوآنزا در ایجاد تلفات در سطح مزارع پرورش طیور گوشتی کشور طراحی و انجام شده است. بدین جهت تعداد ۲۸ گله از ۴ استان مختلف (قزوین، گیلان، زنجان و خوزستان) مورد پایش قرار گرفتند.

آنفلوآنزا پرنده
H9N2
علائم تنفسی
گله‌های گوشتی
آزمون RT-PCR

مواد و روش‌ها: نمونه‌ها از تلفات مشکوک به بیماری‌های تنفسی (از هر گله ۱۰ قطعه مرغ)، و از بافت‌های نای، ریه، لوزه‌های سکومی و کلیه‌ها اخذ شدند. نمونه بافتی هر ۵ قطعه مرغ به صورت جداگانه مخلوط شده و سپس ابتدا با پرایمر NP وجود ویروس آنفلوآنزا در بافت‌ها تایید و در نهایت سروتیپ H9N2 در نمونه‌های مثبت شده با استفاده از پرایمر اختصاصی H9، ردیابی شد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول:
z.boroomand@scu.ac.ir

نتایج: از مجموع ۲۸ گله پایش شده، ژن NP ویروس آنفلوآنزا نوع A در ۱۷ گله ردیابی شد و از این ۱۷ گله، در ۵ مورد ژن H9 مثبت تشخیص داده شدند.

تاریخ دریافت: ۱ دی ۱۴۰۲

تاریخ داوری: ۵ بهمن ۱۴۰۲

تاریخ اصلاح: ۷ فروردین ۱۴۰۳

تاریخ پذیرش: ۹ اردیبهشت ۱۴۰۲

مقدمه

H9N2 در گله‌های طیور ایران باعث ایجاد علایم بالینی و مرگ و میر بالایی گردید (۱۴). نشانه‌های بیماری در پرنده‌گان به عوامل متعددی مانند سویه ویروس، گونه، سن، وضعیت ایمنی پرندگان، عفونت‌های همراه و عوامل محیطی بستگی دارد. بازترین علائم این بیماری شامل تلفات شدید و ناگهانی به همراه علائم تنفسی مانند عطسه، سرفه و رال‌های تنفسی است. بی‌اشتهاایی، بی‌حالی و سیانوزه شدن تاج و ریش، اسهال و قطع تخم‌گذاری از دیگر علائم ابتلا به آنفلوانزا است. علائم کالبدگشایی بسیار متغیر است و عمده‌تاً به صورت پرخونی عمومی لشه و خونریزی در امعا و احشا و پرده‌های سروزی جلب توجه می‌کند. رعایت اصول امنیت زیستی و انجام واکسیناسیون در پیشگیری اهمیت دارد (۲۰). آخرین تحقیقات نشان داده است که ویروس‌های H9N2 قادر هستند به گیرنده‌های سیالیک اسید (SA) انسانی متصل شوند (۱۰). طبق اعلام سازمان بهداشت جهانی در دسامبر ۲۰۲۰ تعداد ۶۶ مورد بروز عفونت در انسان، همراه با علایم شبیه آنفلوانزا و شناسایی H9N2 در آزمایشگاه، از سراسر جهان گزارش شده که نشانگر اهمیت بالای این سروتیپ به عنوان یک عامل زئونوز مهم می‌باشد (۱۵). تشخیص به موقع تغییرات سویه‌های در گردش برای کنترل بیماری از اهمیت بالایی برخوردار است. به همین دلیل تحقیقات مستمر جهت کسب آگاهی از وجود تغییرات در سویه‌های برای تعیین سیاست‌های مبارزه با بیماری و مصرف واکسن از امور اجتناب‌ناپذیر است. جداسازی و شناسایی ویروس، یافتن اسید نوکلیک‌های ویروس و روش‌های سروژی از موارد تشخیص آزمایشگاهی ویروس آنفلوانزایی پرنده‌گان می‌باشد. تشخیص سریع و یافتن عامل بیماری زا در کنترل روند بیماری می‌تواند نقش کلیدی ایفا کند. آزمون PCR یک فناوری نسبتاً جدید با سرعت و حساسیت بالاست که در مطالعات مختلف برای شناسایی ویروس‌های آنفلوانزا به منظور تحقیقات و بررسی همه گیری‌ها مورد استفاده قرار گرفته است (۵). Marandi و Vasfi Bozorgmehr fard در سروتیپ H9N2 A/chicken/Iran/259/1998 با نام اولین بار در ایران در سال ۱۹۹۸ معرفی شدند (۱۶). در این مطالعه، ردیابی ویروس آنفلوانزایی تیپ A و سپس سروتیپ H9N2 در کمپلکس تنفسی طیور گوشتی استان‌های قزوین، زنجان، گیلان و خوزستان به روش مولکولی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

نمونه گیری: پس از ثبت مشخصات هر گله با علایم تنفسی (رال تنفسی، عطسه، ترشحات از چشم، بینی و دهان، بی‌اشتهاایی) و پس

ویروس‌های آنفلوانزا در خانواده ارتومیکسوویریده قرار داشته و دارای ژنوم قطعه‌ای با پولاریته منفی هستند. ویروس‌های این خانواده در ۷ جنس *Isavirus*, *Betainfluenzavirus*, *Alphainfluenzavirus*, *Quaranjavirus*, *Deltainfluenzavirus*, *Gammainfluenzavirus*, *Thogotovirus* تقسیم‌بندی شده‌اند (۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲). در این میان فقط ویروس‌های جنس *Alphainfluenzavirus* که در گذشته جنس A و یا تیپ A نام داشت می‌توانند ایجاد عفونت طبیعی در پرنده‌گان نمایند. ویروس‌های این جنس دارای ۸ پروتئین ساختاری می‌باشد و بر اساس شاخص‌های آنتی‌ژنیکی پروتئین‌های سطحی خود شامل ۱۶ نوع (سروتیپ) پروتئین هماگلوتینین (HA) که در سطح ویروس به شکل گرد و سه‌وجهی و ۹ نوع (سروتیپ) پروتئین نورامینیداز (NA) که چهاروجهی و قارچی شکل هستند طبقه‌بندی می‌شوند. این ویروس‌ها هم‌چنین یک پروتئین چهاروجهی (Tetrameric) به نام (M2) در سطح خود دارند. در واقع واژه ویروس‌های آنفلوانزایی پرنده‌گان برای توضیح ویروس‌های آنفلوانزایی از جنس *Alphainfluenzavirus* استفاده می‌شود که در پرنده‌گان یافت می‌گردد. پرنده‌گان آبزی میزان طبیعی ویروس‌های جنس *Alphainfluenzavirus* هستند (۶). از نظر حدت و بیماری‌زایی در طیور اهلی، این ویروس‌ها به دو پاتوتیپ (Pathotype) تقسیم‌بندی شده‌اند. گروهی که قادر به ایجاد بیماری و تلفات شدید می‌باشند تحت عنوان ویروس‌های با بیماری‌زایی (nHPAI) Highly pathogenic avian influenza virus و گروهی زیاد که چندان بیماری‌زایی نمی‌شوند، تحت عنوان ویروس‌های با بیماری‌زایی کم Non Highly pathogenic avian influenza virus می‌شوند (۶). ویروس‌های آنفلوانزایی پرنده‌گان از جمله سروتیپ‌هایی مانند H9N2, H7N7, H5N1 و H9N2 با بیماری‌زایی کم در سراسر جهان قادر به ایجاد عفونت و بیماری در انسان نیز بوده‌اند (۱۳). سروتیپ H9N2 ویروس آنفلوانزایی پرنده‌گان با بیماری‌زایی کم در بین گونه‌های مختلف پرنده‌گان در گردش است و در نتیجه نه تنها برای صنعت طیور، بلکه برای سلامت عمومی نیز یک ژنومی قطعه‌ای که دارد توانایی ایجاد همه گیری‌های جهانی را دارد (۱۷). بیماری آنفلوانزا به دلیل خاصیت کم حدتی که در ماکیان دارد در بسیاری از کشورهای جهان در اولویت‌های اولیه از نظر بررسی و پایش نمی‌باشد. اما گزارش‌هایی از ابتلای انسان‌ها به آنفلوانزای H9N2 پرنده‌گان نگرانی‌های جدیدی را در سطح جوامع ایجاد کرده است (۱۶). این ویروس ایران را نیز سال‌هاست که مورد تهاجم خود قرار داده است. در خداداد سال ۱۳۷۷ بیماری آنفلوانزایی تحت تیپ

شرکت سازنده کیت (شرکت تایوانی Favorgen) انجام شد. بر روی RNA استخراج شده ۵۰ میکرولیتر آب DEPC اضافه شد و در فریزر -۷۰- نگهداری گردید.

سنتز cDNA: سنتز cDNA با استفاده از کیت و طبق دستورالعمل شرکت سازنده (یکتا تجهیز آزمایشگاهی، ایران) انجام پذیرفت و در نهایت cDNA های به دست آمده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. آزمون RT-PCR: آزمون RT-PCR جهت ردیابی وجود ویروس آنفلوآنزا پرنده‌گان در دو مرحله و ابتدا با استفاده از پرایمر اختصاصی ژن NP (۲۴) و سپس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن H9 (طراحی شده در این مطالعه) ویروس آنفلوآنزا در نمونه‌های بافتی انجام شد.

از مشاهده علایم کالبدگشایی (پرخونی و ترشحات در نای و ریه همراه با وجود cast در محل دوشاخه شدن نای، پرخونی در پانکراس و لوزه‌های سکومی) در کاربرگ مخصوص، ۱۰ قطعه مرغ تلف شده از ۲۸ گله گوشتی از استان‌های قزوین، زنجان، خوزستان و گیلان (هر استان ۷ گله) انتخاب شده و از بافت‌های نای، ریه، کلیه و لوزه‌های سکومی نمونه‌گیری انجام شد. اولین نمونه‌گیری از مهرماه سال ۱۴۰۰ آغاز و روند نمونه‌گیری تا خرداد ماه سال ۱۴۰۲ ادامه داشت. همه نمونه‌های زمان انجام آزمایش در فریزر -۷۰- درجه سانتی گراد نگهداری می‌شدند.

استخراج RNA: جهت استخراج RNA ویروس، ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه بافتی را هموژن کرده و در ادامه، مراحل طبق دستورالعمل

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده و دمای انجام PCR جهت ردیابی ژن NP

زمان	توالی	چرخه	دما	زمان		
NP	F CAGRTACTGGGCHATAAGRAC	۳۵	۹۵°C	۳ دقیقه		
			۹۵°C	۳۰ ثانیه		
	R GCATTGTCTCCGAAGAAATAAG	۷۲°C	۵۰°C	۴۰ ثانیه		
			۷۲°C	۱ دقیقه		
PCR production size				۱۰ دقیقه		
				bp ۳۳۰		

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده و دمای انجام PCR جهت ردیابی ژن H9

زمان	توالی	چرخه	دما	زمان		
H9	F ATAATTGACAAGATGAAC	۳۵	۹۵°C	۳ دقیقه		
			۹۵°C	۳۰ ثانیه		
	R CGAATAAATGGTAAGAAT	۷۲°C	۴۶°C	۴۰ ثانیه		
			۷۲°C	۱ دقیقه		
PCR production size				۱۰ دقیقه		
				411 (bp)		

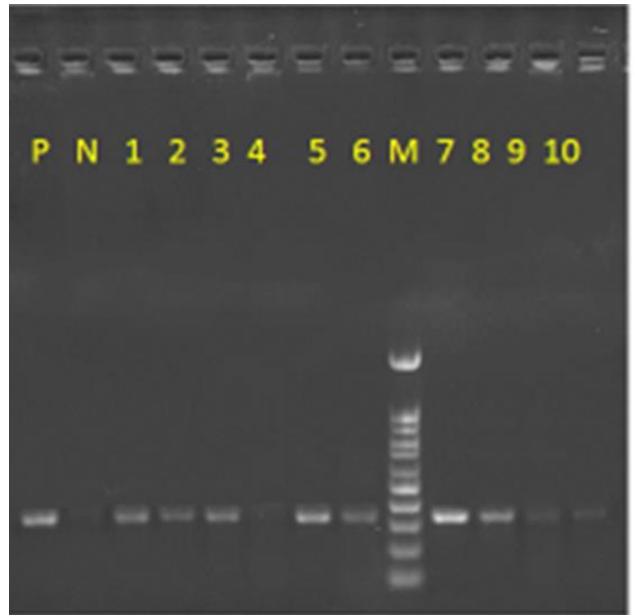
در ۷ گله، در استان خوزستان ۴ مورد NP مثبت و ۱ مورد H9 مثبت (شهرستان ایذه) در مجموع ۷ گله، در استان گیلان (شهرستان لوشان) ۲ مورد NP مثبت و ۰ مورد H9 در ۷ گله و در استان زنجان ۵ مورد NP مثبت و ۲ مورد H9 مثبت در میان ۷ گله وجود داشت.

جدول ۳: سن و نتایج ردیابی مولکولی ویروس آنفلوآنزا در گله‌های گوشتی تحت مطالعه استان‌ها

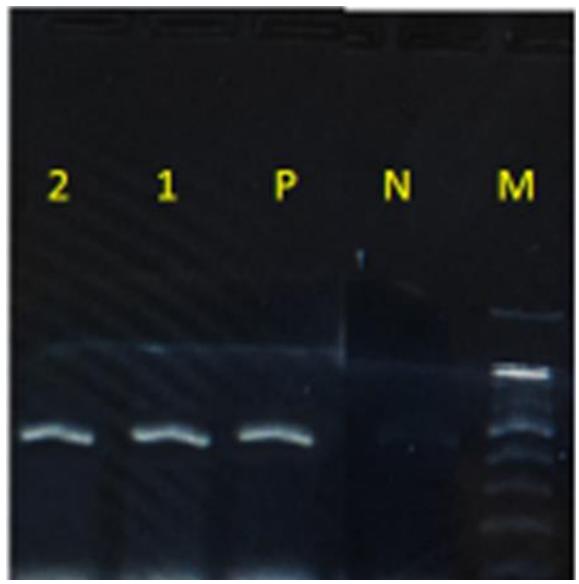
در نهایت محصولات PCR در کنار نرده بان ژنی 100 bp (سیناژن، ایران) در ژل آگاراز ۱ درصد حاوی رنگ ایمن (سیناژن، ایران) در ولتاژ ۹۰ به مدت ۲۰ دقیقه الکتروفورز شده و تحت تابش نور UV در دستگاه ترانس ایلومیناتور (Uvitec، انگلستان) مورد مشاهده قرار گرفتند.

نتایج نمونه‌ها ابتدا با پرایمر NP و سپس با پرایمر مخصوص H9 بررسی شدند که نتایج حاصل شده به شرح زیر می‌باشد. از مجموع ۱۷ نمونه‌های بافتی اخذ شده از ۲۸ گله و بعد از انجام RT-PCR، گله توسط پرایمر NP، آنفلوآنزا مثبت (شکل ۱) و ۵ گله از میان همین ۱۷ گله، در ردیابی ژن با پرایمر اختصاصی H9 مثبت شناسایی شدند (شکل ۲). در استان قزوین ۶ مورد NP مثبت و ۲ مورد H9 مثبت

توزیع شده است. علاوه بر این، گوشت مرغ و تخم مرغ مهم‌ترین منبع پروتئین برای خانواده‌های ایرانی محسوب می‌شود. ویروس آنفلوانزای H9N2 کاندیدای مهمی برای بروز پاندمی در انسان‌ها می‌باشد. این ویروس از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زا در طیور به شمار می‌رود. بیماری آنفلوانزای پرنده‌گان توسط ویروس‌های آنفلوانزای نوع A متعلق به خانواده Orthomyxoviridae ایجاد می‌شود.^{۱۶} زیرگروه HA و NA ۹ برای ویروس‌های آنفلوانزا پرنده‌گان وجود دارد و در میان آن‌ها، سه زیرگروه (H9N2, H7, H5) به دلیل پاتوژنی و اثرات آن‌ها بر سلامت و اقتصاد عمومی در طیور اهمیت بیشتری دارند (^۶). تنها ویروس‌های آنفلوانزای تیپ A باعث ایجاد عفونت‌های طبیعی در پرنده‌گان می‌شوند، اما همه ویروس‌های زیرگروه A آنفلوانزا در اکثر گونه‌های پرنده‌گان جدا شده‌اند. از سال ۱۹۵۹، اولین گزارش از شیوع HPAI در طیور ۱۷ بار (۸ بار از سال ۱۹۹۰)، ۵ مورد در بوقلمون و ۱۲ مورد در مرغ گزارش شده است. ویروس‌های HPAI به ندرت از پرنده‌گان وحشی جدا می‌شوند، اما میزان جداسازی بسیار بالایی از ویروس‌های با حدت کم برای طیور در مطالعات ثبت شده است که ارقام کلی حدود ۱۵ درصد برای اردک‌ها و غازها و حدود ۲ درصد برای همه گونه‌های دیگر را نشان می‌دهد. نشان داده شده است که ویروس آنفلوانزا همه انواع پرنده‌گان اهلی را در تمام مناطق جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد، اما فراوانی بروز عفونت‌های اولیه در هر نوع پرنده به میزان تماس با پرنده‌گان وحشی بستگی دارد. احتمالاً انتقال مدفوع عفونی از پرنده‌گان آلوده به پرنده‌گان حساس توسط انسان، عامل گسترش ثانویه ویروس می‌باشد (^۱). در این مطالعه از مجموع ۲۸ گله مرغ گوشتی دارای علایم تنفسی در ۴ استان کشور، در ۱۷ گله ویروس آنفلوانزای تیپ A ردیابی شد که از این تعداد موارد مثبت آنفلوانزا، در ۵ مورد ژن H9 ردیابی شد. این نتیجه بیانگر این است که اغلب سروتیپ‌های در گردش آنفلوانزا در گله‌های طیور گوشتی H9 نبودند. با این حال با توجه به جهش پذیری بالای ژنوم ویروس‌های آنفلوانزا، احتمال عدم تناسب پرایمرهای انتخاب شده برای شناسایی ژن H9 در برخی از جایه‌های ویروس نیز ممکن است در این موضع موثر بوده باشد. درک کنونی از اکولوژی ویروس‌های آنفلوانزا پرنده‌گان این است که مخازن بزرگی از این ویروس‌ها وجود دارد که همه‌ゼرگونه‌های شناخته شده در پرنده‌گان وحشی، به ویژه اردک‌ها و غازها را پوشش می‌دهد. به نظر می‌رسد شیوع هر دو HPAI و LPAI در ماکیان نتیجه مواجه ماکیان اهلی با پرنده‌گان وحشی باشد. آنفلوانزای پرنده‌گان بسیار بیماری‌زا (HPAI) که توسط زیرگروه‌های خاصی از ویروس آنفلوانزا A در جمعیت‌های حیوانی، به ویژه پرنده‌گان ایجاد می‌شود، یک خطر مداوم برای سلامت عمومی انسان در جهان است. از سال ۲۰۰۲، بروز HPAI در طیور اهلی به طور قابل توجهی افزایش یافته است، در حالی که



شکل ۱: الکتروفورز محصول RT-PCR ژن NP اندازه باند ۳۳۰ جفت باز، P نمونه مثبت، N نمونه منفی، M مارکر ۱۰۰ جفت باز، شماره‌های ۱ تا ۱۰ نمونه‌های آزمایش شده



شکل ۲: الکتروفورز محصول RT-PCR ژن H9 اندازه باند ۴۱۱ جفت باز، P نمونه مثبت، N نمونه منفی، M مارکر ۱۰۰ جفت باز، شماره‌های ۱ و ۲ نمونه‌های آزمایش شده

بحث

پرورش طیور در ایران از نظر اقتصادی، اجتماعی و امنیت غذایی از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. از آن جا که شرایط جغرافیایی ایران مناسب پرورش طیور است، این صنعت در اکثر بخش‌های کشور

بررسی مولکولی ویروس‌های H9N2 جدا شده از مرغداری‌های صنعتی به منظور ردیابی مقاومت به داروهای مسدود کننده کانال یونی M2 و مهارکننده‌های نورآمینیداز، پس از انجام RT-PCR در سال ۲۰۱۶ دریافتند که ویروس تحت تیپ H9N2 در نمونه‌های دارای خاصیت هماگلوتیناسیون وجود دارد (۲۲). Fallah Mehrabadi و همکاران با انجام دو سال پایش بر روی طغيان‌های ویروس آنفلوانزا H9N2 در جوجه‌های بومی روستایی به روش آزمایش RT-PCR بر روی بافت‌های نای و ریه دریافتند که تلفات ناشی از عفونت آنفلوانزا H9N2 با نرخ ۵۴ مورد از ۱۲۱ مورد طغيان، بسيار قابل توجه می‌باشد (۲۱). Mayahi و همکاران بر روی بيش از ۱۰۰ کبوتر صید شده در اهواز، جهت ردیابی آنفلوانزا جنس A مطالعه جامعی را انجام دادند. آن‌ها روش RT-PCR را برای پایش خود انتخاب نمودند که در نهایت هیچ مورد مثبتی در ردیابی ژن M یافت نکردند، آن‌ها اين گونه استنباط کردند که يا تحت تیپ‌های حاد ویروس آنفلوانزا در اين منطقه وجود ندارند و يا كبوتر احتمالاً نقشی در انتشار ویروس آنفلوانزا پرنده‌گان ندارد (۲۳). Boroomand و همکاران به بررسی نقش گنجشک‌های خانگی در انتشار ویروس آنفلوانزا پرنده‌گان سروتیپ H9N2 در منطقه اهواز پرداختند و حضور ژن‌های M و سپس H9 را در روده و نای گنجشک‌ها ردیابی کردند نتایج آن‌ها نشان داد که ۱۱ نمونه از ۲۰۰ نمونه برای دو ژن M و H9 مثبت بودند. بر اساس یافته‌های پژوهش آن‌ها، گنجشک‌های خانگی آلوود به H9N2 بوده و خطری برای طیور تجاری محسوب می‌شوند. اين پرنده‌گان ممکن است نقش مهمی در انتقال AIV بین حیات وحش و حیوانات اهلی داشته باشند. بنابراین، اين موضوع در موضع گيري‌های پيشگيرانه مهم است (۳). با توجه به ارزیابی انجام شده در اين مطالعه و شیوع ویروس در تعداد قابل توجهی از مناطق کشور همواره رعایت اصول بیوسکیوریتی، توجه به حرکت طیور داخلی، بررسی و اصلاح ساختار مرغداری‌های صنعتی، آموزش روستاییان، کشاورزان، دامپزشکان و اصناف مرتبط و کارکنان آن‌ها، ضدغوفونی صحیح و اصولی واحدها، افزایش نظارت بر پرنده‌گان مهاجر، افزایش نظارت بالینی فعال در مزارع صنعتی، افزایش آگاهی مسئولین درخصوص اهمیت آلوودگی و تامین اعتبارات و امکانات موردنیاز توصیه می‌گردد. تهیه نهاده‌های با کیفیت که عاری از هرگونه عوامل تضعیف کننده سیستم ایمنی باشد در کنار موارد ذکر شده در بالا توصیه می‌شود. بالا نگه داشتن سطح ایمنی پرنده در طول دوره با ترکیبات مختلف ویتامینی و گیاهی مانند ویتامین‌های A، E و B در کنار مصرف ترکیبات مفید گیاهی مانند اسطوخودوس که بیان ژن موسین را در جوجه‌های گوشتی افزایش می‌دهد (۲۴) می‌تواند از اقدامات مفید در سطح فارم‌های گوشتی کشور باشد. با توجه به طیف گسترده و اکسن‌های تزریقی استفاده شده برعلیه ویروس آنفلوانزا باز هم شاهد شیوع قدرتمند این

سروتیپ‌های با بیماری زایی کم، مانند H9N2، در اروپا و آسیا اندمیک شده‌اند. سروتیپ‌های متعدد AIV در نمونه‌های جمع‌آوری شده از بازار پرنده‌گان زنده، اردک‌ها، پرنده‌گان آبزی و محیط زیست ردیابی شده‌اند (۴). شیوع آنفلوانزا فوق حاد پرنده‌گان H5N8 در مزارع صنعتی ایران در سال ۲۰۱۶ نشان دهنده ضعف و انفعال در مراقبت و گزارش بیماری بود. تشخیص و اکتشاف سریع موثرترین اقدامات برای پیشگیری و کنترل آنفلوانزا فوق حاد پرنده‌گان است و اگر به خوبی انجام شود، این اقدامات گسترش سریع عفونت را تحت کنترل قرار می‌دهد. این شیوع در ایران در مناطقی با بیشترین تراکم پرورش طیور رخ داد و خسارات مستقیم و غیرمستقیم و هم‌چنین اثرات اجتماعی را به همراه داشت. تشخیص اولین طغيان در يك مزرعه صنعتی و تشخیص چندین طغيان در مدت زمان کوتاه نشان دهنده تاخیر در شناسایی بیماری و عدم موفقیت در تشخیص زودهنگام بیماری‌ها در طیور خانگی است. منبع عفونت در اولین مزارع مشخص نشد. اما طیور بومی به‌ویژه اردک و غاز در روستاها نزدیک به این مزارع و نزدیک به استان مازندران به فروش می‌رسید و از آن‌جا مقداری اردک بومی به نقاط دیگر عرضه می‌شد. بنابراین محتمل ترین منبع این ویروس در استان مازندران بوده است (۷). Ghazi Marashi در سال ۱۴۰۱ با هدف یافتن ویروس‌های آنفلوانزا فوق حاد پرنده‌گان در جمعیت‌های حیات وحش، ویروس‌های آنفلوانزا تیپ A را با استفاده از روش مولکولی مورد بررسی قرارداد و نتیجه گرفت که هیچ مورد مثبتی در میان پرنده‌گان زنده به ظاهر سالم وجود نداشت. با این حال ویروس‌های فوق حاد آنفلوانزا پرنده‌گان نظیر H5N1-H5N2-H5N6-H5N8 در پرنده‌گانی که به صورت تکی یا دسته‌جمعی تلف شده بودند یافت گردید (۲۵). در طی مطالعه‌ای که بین سال‌های ۲۰۱۰ و ۲۰۱۱ توسط Kariminejad و Mehrabanpour انجام گردید، آن‌ها با انجام آزمایشات سرمی (الایزا و HI) و مولکولی سعی در تشخیص آلوودگی گله‌های مرغ گوشته با علائم تنفسی در استان فارس نمودند که در آزمایش RT-PCR، ۲۴ گله از نظر آنفلوانزا پرنده‌گان H9N2 مثبت بودند (۹). Boroomand و نیوکاسل، آنفلوانزا (H9N2) و برونشیت عفونی در بیماری‌های تنفسی ماکیان بومی منطقه اهواز ۲۰۱۵ تا ۲۰۱۴، از تعداد ۱۰۰ مرغ بومی با نشانه‌های تنفسی و تلفات، با تهیه نمونه خون و نیز سوآب از نای و کلوآک، میزان ویروس آنفلوانزا را بررسی نمودند که در نهایت وجود این ویروس به میزان ۳۴ درصد گزارش داد (۱۹). Naguib و همکاران در مطالعه خود در مصر، وجود ویروس آنفلوانزا پرنده‌گان با بیماری زایی زیاد تحت تیپ (H5N1) و گردش همزمان ویروس آنفلوانزا پرنده‌گان با بیماری زایی کم، تحت تیپ (H9N2) را به صورت اندمیک گزارش کردند (۱۱). Malekan و همکاران با انجام مطالعه‌ای درخصوص

- Egypt. Infect Genet Evol. 34: 278-291. doi: 10.1016/j.meegid.2015.06.004
- 12.** **Raynard, R.S., Murray, A.G. and Gregory, A., 2001.** Infectious salmon anemia virus in wild fish from Scotland. Dis Aquat Organ. 46(2): 93-100. doi: 10.3354/dao046093
- 13.** **Sun, J., Han, Z., Shao, Y., Cao, Z., Kong, X. and Liu, S., 2014.** Comparative proteome analysis of tracheal tissues in response to infectious bronchitis coronavirus, Newcastle disease virus, and avian influenza virus H9 subtype virus infection. Proteomics. 14(11): 1403-1423. doi: 10.1002/pmic.201300404
- 14.** **Vasfi-Marandi, M. and Bozorgmehr fard, M., 1999.** An outbreak of non-highly pathogenic avian Influenza in chicken in Iran. 61st Meeting of the World Veterinary Association. Lyon, France.
- 15.** **Monthly Risk Assessment Summary. WHO, 2020.** Available from: https://www.who.int/influenza/human_animal_interface/HAI_Risk_Assessment/en.
- 16.** **Yan, W., Cui, H., Engelsma, M., Beerens, N., Van Oers, M.M., de Jong, M.C.M., Li, X., Liu, Q., Yang, J., Teng, Q. and Li, Z., 2022.** Molecular and Antigenic Characterization of Avian H9N2 Viruses in Southern China. Microbiol Spectr. 10(1): e008221. doi: 10.1128/spectrum.00822-21
- 17.** **Zaker, S.R., Nili, H. and Asasi, K., 2022.** Apoptosis in field and experimental cases of avian influenza H9N2 infection in broiler chickens in Iran. Vet Res Forum. 13(3): 439-441. doi: 10.30466/vrf.2020.119136.2818
- 18.** **Lee, M.S., Chang, P.C., Shien, J.H., Cheng, M.C. and Shieh, H.K., 2001.** Identification and subtyping of avian influenza viruses by reverse transcription-PCR. J Virol Methods. 97(1-2): 13-22. doi: 10.1016/s0166-0934(01)00301-9.
- 19.** **Boroomand, Z., Jafari, R.A. and Mayahi, M., 2018.** Detection of Newcastle disease, H9N2 Avian Influenza, and Infectious Bronchitis Viruses in Respiratory Diseases in Backyard Chickens in Ahvaz, Iran, in 2014-2015. Archives of Razi Institute. 73(1): 19-25. (In Persian)
- 20.** **Arab, M., Ahangaran G., Jafarian, M. and Dehkordi, M., 2017.** The molecular study of co-incidence of Avian Influenza (H9N2 subtype) and Metapneumovirus in Broiler chickens with respiratory syndrome in Isfahan province. Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences. 10(2): 3-11. (In Persian)
- 21.** **Fallah Mehrabadi, M.H., Ghalyanchilangeroudi, A., Ghafouri, S.A., Hosseini, H., Zabihi Petroudi, M.T., Modiri Hamadan, A., Rezaee, H., Motamed Chaboki, P., Vatandour, S. and Shayeganmehr, A., 2020.** Comparison of autogenous and commercial H9N2 avian influenza vaccines in a challenge with recent dominant virus. Iranian Journal of Veterinary Research. 21(2): 109-114. doi: 10.22099/ijvr.2019.33162.4937 (In Persian)
- 22.** **Malekan, M., VasfiMarandi, M., Barin, A., Mokhtari azad, T., Ranjbar, M.M. and Bashashati, M., 2016.** Molecular evaluation of M2 protein of Iranian avian influenza viruses of H9N2 subtype in order to find mutations of adamantane drug resistance. Iranian Journal of Veterinary Medicine. 10(4): 253-262. doi: 10.22059/ijvm.2016.5971 (In Persian)
- 23.** **Mayahi, M., Boroomand, Z. and Ghorniani, M., 2018.** Detection of genus A avian influenza viruses in the wild pigeons around Ahwaz, southwest of Iran, by RT-PCR. Veterinary Research & Biological Products. 31(4): 57-62. doi: 10.22092/vrj.2018.122074.1462 (In Persian)
- 24.** **Pahlavan Afshari, K. and Sanaan, H., 2022.** Effect of dietary levels of lavender oil on Muc2 gene expression in broiler chickens. Journal of Animal Environment. 14(2): 113-122. doi: 10.22034/AEJ.2022.340130.2797 (In Persian)
- 25.** **Ghazi Marashi, S.M., 2022.** Study of Ecology and Epidemiology of Avian Influenza Viruses Type A by molecular methods. Journal of Animal Environment. doi:10.22034/aej.2021.255425.2398 (In Persian)

ویروس در کشور و متعاقب آن ایجاد تلفات در سطح واحدها هستیم که ادامه پایش ها و مطالعات بر کارایی واکسن های موجود و همچنین تعیین سویه های در حال گردش در سطح کشور توصیه می شود.

تشکر و قدردانی

نویسندهای از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز برای حمایت مالی از این اثر تشکر و قدردانی می کنند.

منابع

- Alexander, D.J., 2000.** A review of avian influenza in different bird species. Vet Microbiol. 74(1-2): 3-13. doi: 10.1016/s0378-1135(00)00160-7
- Banakar, A., Sadeghi, M. and Shushtari, A., 2016.** An intelligent device for diagnosing avian diseases: Newcastle, infectious bronchitis, avian influenza. Comput Electron Agric. 127: 744-753. doi: 10.1016/j.compag.2016.08.006
- Boroomand, Z., Mayahi, M., Hosseini, H. and Valadbeigi, S., 2019.** Detection and Isolation of H9N2 Subtype of Avian Influenza Virus in House Sparrows (*Passer domesticus*) of Ahvaz, Iran. Archives of Razi Institute. 74(4): 439-444. doi: 10.22092/ari.2019.122504.1223
- Chaharaein, B., Omar, A.R., Aini, I., Yusoff, K. and Hassan, S.S., 2009.** Detection of H5, H7 and H9 subtypes of avian influenza viruses by multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction. Microbiological Research. 164(2): 174-179. doi: 10.1016/j.micres.2007.01.001
- Cherian, T., Bobo, L., Steinhoff, M.C., Karron, R.A. and Yolken, R.H., 1994.** Use of PCR-enzyme immunoassay for identification of influenza A virus matrix RNA in clinical samples negative for cultivable virus. J Clin Microbiol. 32(3): 623-628. doi: 10.1128/jcm.32.3.623-628.1994
- Swayne, D.E., Suarez, D.L., Sims, D. L., Influenza, I., Swayne, D.E., Boulianne, M., Logue, C.M., McDougald, L.R., Nair, V. and Suarez, D.L., 2020.** Editors. Diseases of Poultry. 111 River Street, Hoboken, NJ 07030, USA. 14th Edition. 219-235
- 7.** **Fallah Mehrabadi, M.H., Tehrani, F., Shoushtari, A., Bahonar, A.R., Rabiee, M.H., Ghalyanchilangeroudi, A., Ghafouri, S.A. and Amirhajloo, S., 2021.** Outbreak Investigation of Officially Reported and Highly Pathogenic Avian Influenza (H5N8 Subtype) in Iran During 2016. Archives of Razi Institute. 76(1): 17-29. doi: 10.22092/ari.2019.124904.1291
- 8.** **Jones, L.D. and Nuttall, P.A., 1989.** Non-viraemic transmission of Thogoto virus: influence of time and distance. Trans R Soc Trop Med Hyg. 83(5): 712-714. doi: 10.1016/0035-9203(89)90405-7
- 9.** **Karimnejjad, E. and Mehrabanpour, J., 2012.** Serological and Molecular Assays for Detection of Avian Influenza Virus in Broiler Chickens Flocks of Fars Province-Iran. Int J Anim Vet Adv. 4: 125-129.
- 10.** **Li, F., Liu, J. and Yang, J., 2021.** H9N2 virus-derived M1 protein promotes H5N6 virus release in mammalian cells: Mechanism of avian influenza virus inter-species infection in humans. Plos Pathogens. 17(12): e1010098. doi: 10.1371/journal.ppat.1010098
- 11.** **Naguib, M.M., Arafa, A.S., El-Kady, M.F., Selim, A.A., Gunalan, V., Maurer-Stroh, S., Goller, K.V., Hassan, M.K., Beer, M., Abdelwhab, E.M. and Harder, T.C., 2015.** Evolutionary trajectories and diagnostic challenges of potentially zoonotic avian influenza viruses H5N1 and H9N2 co-circulating in