مجله تخصصی اپیدمیولوژی ایران؛ زمستان 1399، دوره 16، شماره 4: صفحات 334-325.

مقاله پژوهشی

شناسایی مؤلفه‌های مؤثر بر آلودگی مزارع طیور گوشتی استان قزوین به ویروس آنفلوانزای پرندگان (تحت تیپ H9N2) طی سال‌های 96 - 1395: یک مطالعه کوهورت

کامران میرزائی[1]، عبدالحمید شوشتری[2]، سعید بکائی[3]، محمدحسین فلاح مهرآبادی[2]، سید مصطفی پیغمبری[4]

[1]متخصص اپیدمیولوژی، دفتر بهداشت و مدیریت بیماری های طیور، سازمان دامپزشکی کشور، تهران، ایران

[2]استادیار پژوهش بخش تحقیقات بیماری‌های طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

[3]استاد، بخش بهداشت و کنترل کیفیت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

[4]استاد، بخش بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

نویسنده رابط: سعید بکایی، نشانی: تهران، خیابان آزادی، نبش خیابان دکتر قریب، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تلفن: 61117000، پست الکترونیک: sbokaie@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: 98/9/21؛ پذیرش: 99/03/03

مقدمه و اهداف: تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزای طیور در ایران بومی بوده و گردش این ویروس در مقیاس وسیع در طیور صنعتی اثرات مخربی را در کشور ایجاد می‌نماید. هدف از انجام این مطالعه، تعیین مؤثرترین مؤلفه‌ها بر بروز آلودگی در مزارع گوشتی است.

روش کار: در این راستا یک مطالعه کوهورت از تیرماه سال 1395 تا آذرماه سال 1396 در مزارع پرورش طیور گوشتی در استان قزوین به انجام رسید و طی آن از 34 مزرعه طیور گوشتی استان قزوین به‌صورت تصادفی نمونه‌گیری به عمل آمد و یافته‌های مربوطه مورد تجزیه‌وتحلیل‌های آماری قرار گرفتند

یافته‌ها: از بین 34 مزرعه واردشده در این مطالعه، نمونه‌های اخذشده از 16 مزرعه در آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) مثبت بودند. در تحلیل‌های تک متغیره، اثر متغیرهای کیفی "نوع حصار اطراف واحد"، "امنیت زیستی" و "وضعیت سیستم خنک‌کننده" و همچنین متغیرهای کمی "میانگین تیتر آنتی‌بادی مادری"، "ارتفاع"، "نزدیکی به مسیرهای تردد عمومی" و " تعداد واحد در شعاع 1 کیلومتری" در بروز عفونت معنی‌دار شدند ($P<0.05$). اما در مدل چند متغیره، تنها اثر متغیرهای "امنیت زیستی" و "وضعیت سیستم خنک‌کننده" در بروز عفونت معنی‌دار بودند ($P<0.05$).

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های این مطالعه، به‌منظور کاهش انتشار عفونت و خسارات ناشی از آن، لازم است تأکید بیشتری بر رعایت اصول امنیت زیستی در مزارع گوشتی استان قزوین و همچنین در سراسر کشور صورت پذیرد.

واژگان کلیدی: مؤلفه‌های آلودگی به آنفلوانزا، تحت تیپ H9N2، واکنش زنجیره ای پلیمراز، فارم های گوشتی، قزوین

مقدمه

ویروس H9N2 شایع‌ترین ویروس آنفلوانزای پرندگان در جمعیت‌های طیور جهان است. این ویروس برای اولین بار در دهه 1960 در امریکا شناسایی شد و در دهه 1990 در جمعیت طیور آسیا انتشار یافت. از اواخر دهه 1990، حداقل 15 مورد بیمار انسانی آلوده به ویروس H9N2 در هنگ‌کنگ در جنوب چین گزارش‌شده است. حوالی سال 2000 و پس‌ازآن نیز، ویروس H9N2 از کشورهای خاورمیانه گزارش‌شده و گسترش یافت و مشکلات جدی در صنعت پرورش طیور ایران، پاکستان، عربستان، و امارات ایجاد نمود (1).

از سال 2000 به بعد محققین ویروس را در ایران جداسازی و گزارش نمودند و در حال حاضر این ویروس، شایع‌ترین تحت تیپ ویروس آنفلوانزای پرندگان، در طیور صنعتی ایران است (2).

ویروس‌های H9N2 توانایی بازآرایی با ویروس‌های انسانی را دارا می‌باشند که باعث افزایش بیماری‌زایی آن‌ها در انسان می‌گردد و قابل‌توجه است که تاکنون همه ویروس‌های آنفلوانزای پرندگان که در انسان کشنده هستند، مانند تحت تیپ‌های H5N1 و H7N9 ژن‌های داخلی‌شان را از تحت تیپ H9N2 دریافت نموده‌اند (3).

انتقال بین‌گونه‌ای ویروس H9N2 از طیور به خوک (که به‌عنوان مخلوط کننده ویروس‌های آنفلوانزا معروف است) و بلدرچین، گزارش‌شده است. این عوامل، نگرانی در خصوص بروز پاندمی و ایجاد تهدیدی جدی علیه سلامت عمومی از سوی ویروس آنفلوانزای H9N2 را تقویت می‌نمایند (4). این نگرانی در خصوص خطر ناشی از ویروس‌های آنفلوانزای نوع A پرندگان برای جمعیت‌های انسانی، علاوه بر رخداد موارد انفرادی انتقال از پرنده به انسان، به دلیل تکامل ژنی و احتمال بازآرایی ژنی با ویروس‌های انسانی، از اهمیت بالایی برخوردار است (5). مطالعات جدید نشان

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]

داده‌اند که اهمیت انتشار وسیع ویروس‌های H9N2، نه‌تنها ازاین‌رو است که توانایی ایجاد پاندمی آنفلوانزا را دارند، بلکه بدین دلیل است که ممکن است به‌عنوان حاملینی برای ارائه تحت تیپ‌های مختلف ویروس‌های آنفلوانزا، مانند H7N9 یا H10N8 از گونه‌های پرندگان به انسان عمل نمایند (6).

با توجه به اهمیت ویروس H9N2، به جهت توانایی ایجاد جهش و تبدیل به فرم فوق حاد و انتقال به انسان ازیک‌طرف، و خسارات اقتصادی وارده به صنعت طیور کشور از سوی دیگر، اجرای برنامه‌های کنترلی جهت جلوگیری از چرخش این ویروس در جمعیت طیور سراسر کشور از اهمیت بالایی برخوردار است. دراین‌بین، کشورمان ایران به دلیل بومی بودن H9N2 در آن و همچنین قرار گرفتن در دو مسیر مهاجرت عمده پرندگان آبزی در سطح جهان (آسیای غربی-آفریقای شرقی، و دریای سیاه-مدیترانه)، از موقعیت مهمی برخوردار بوده و می‌بایست به‌منظور کاهش احتمال ایجاد پدیده بازآرایی و یا نوترکیبی ویروس H5N1 و جلوگیری از بروز ژنو تیپ‌های جدید ویروس H9N2، در مورد پیشگیری طولانی‌مدت بیماری آنفلوانزا اقدامی جدی به عمل آورد (7). بدیهی است که برای اعمال مؤثرترین شیوه‌های پیشگیری، ضرورت دارد که دقیق‌ترین داده‌های علمی درباره ویروس آنفلوانزا در دسترس باشد و در این راستا لزوم بررسی شیوع، الگوهای زمانی- مکانی، و عوامل خطر بروز این بیماری در کشور بر کسی پوشیده نیست؛ لذا مطالعه حاضر راه‌اندازی شد تا قدم مؤثری باشد در راستای کنترل این بیماری در سطح کشور.

روش کار

در این مطالعه که به شکل کوهورت طراحی شد، از مزارع طیور گوشتی واکسینه شده و بدون سابقه واکسن در استان قزوین به صورت تصادفی نمونه‌گیری به عمل آمد؛ تا پس از پیگیری لازم و تعیین وضعیت آنها در خصوص درگیری ویا عدم درگیری به آلودگی ویروسی، یافته‌های مربوطه مورد تجزیه‌وتحلیل‌های آماری قرار گیرند.

بر اساس فرمول "محاسبه حداقل حجم نمونه در هر گروه آزمایشی در مطالعات مشاهده‌ای طولی" و بر اساس پیش‌بینی میزان بروز در گروه دارای مواجهه (عدم واکسینه)، و پیش‌بینی میزان بروز در گروه بدون مواجهه (واکسینه) از مطالعات قبل و نظر کارشناسان و دامپزشکان خبره سازمان دامپزشکی کشور و بخش خصوصی، به ترتیب به میزان حدود 0/95 و 0/50، در جمعیت واحدهای گوشتی فعال استان قزوین، حجم نمونه حداقل تعداد 17 گله در هر گروه (دارای مواجهه و بدون مواجهه) و درمجموع 34 گله در سطح استان تعیین گردید (8). این تعداد حجم نمونه برای تأمین 80% قدرت مطالعه، جهت شناسایی خطر نسبی حدود 2 با 95% اطمینان، با فرض میزان حمله در جمعیت عدم مواجهه مساوی با 0,5، کفایت می‌نماید.

تعداد نمونه سواب اخذشده از هر گله

با استفاده از آزمایش PCR نمونه‌های سواب کلواک و نای، با فرض دفع ویروس توسط 5 درصد جوجه‌ها در هر گله (9) و سطح اطمینان 95%، در هر مرحله بازدید، تعداد 60 نمونه سواب از هر گله اخذ گردد (10).

نمونه‌برداری و اخذ داده‌ها

این مطالعه از ابتدای تیرماه سال 1395 شروع‌شده و تا اواخر آذرماه سال 1396، مجموعاً به مدت 18 ماه به طول انجامید و 34 مزرعه گوشتی فعال به‌صورت تصادفی انتخاب و وارد مطالعه شدند. به‌منظور تعیین آلودگی گله به عفونت ناشی از آنفلوانزای پرندگان (تحت تیپ H9N2)، در هر یک از واحدهای موردمطالعه ضمن بازدید از مزرعه در سنین 3، 10، 20، 30، 40 و50 روزگی، و در برخی موارد که طول دوره پرورش بیشتر بود، در انتهای دوره پرورش در زمان ارسال گله به کشتارگاه، نمونه‌ها در هر مرحله از هر گله به تعداد 60 عدد سواب کلواک و نای اخذشده و در لوله‌های مخصوص قرارگرفته و بعد از کدگذاری و ثبت اطلاعات مربوط به محل نمونه‌برداری و مشخصات گله موردمطالعه، در فریزر 20- درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت تا در مراحل بعدی مورد آزمایش PCR قرار گیرند. هم‌زمان با بازدید مرحله اول (سن 3 روزگی) مصاحبه با مرغدار و تکمیل پرسشنامه نیز که به‌منظور تعیین مؤلفه‌های اصلی بیماری و بخصوص عوامل خطر مؤثر در بروز عفونت، بر اساس نظر کارشناسان خبره و مرور مقالات مرتبط تهیه‌شده بود، انجام شد (11).

ازآنجاکه یکی از پیش‌فرض‌های این نوع مطالعات به‌عنوان یک مطالعه کوهورت منفرد[1] اطمینان از عدم ابتلای واحدهای موردمطالعه به پیامد موردنظر در ابتدای مطالعه است (8)، لذا هر واحدی که در مرحله اول نمونه‌گیری (روز 3) نتایج مثبت PCR نشان می‌داد، از مطالعه خارج می‌گردید.

درنهایت داده‌های حاصل از مطالعه، موردبررسی و

[1] Single Cohort

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]

تجزیه‌وتحلیل‌های آماری قرار گرفت.

تجزیه‌وتحلیل‌های آماری

برای توصیف داده‌ها، برای داده‌های کمی، میانگین حسابی آن‌ها و برای داده‌های کیفی، فراوانی آن‌ها بیان گردید. تجزیه‌وتحلیل داده‌های حاصل، از طریق تجزیه‌وتحلیل‌های آماری تک متغیره با استفاده از محاسبه نسبت‌های خطر[2]برای هر متغیر کیفی، و محاسبه اختلاف بین میانگین‌ها برای هر متغیر کمی، و همچنین با استفاده از تجزیه‌وتحلیل‌های آماری چند متغیره انجام شد. در ابتدا نرمالیتی متغیرهای کمی با آزمون کولموگروف اسمیرنوف[3] بررسی گردیدند. در صورت نرمال بودن داده‌ها، با استفاده از آزمون تی[4] و در صورت نرمال نبودن و نرمال نشدن داده‌ها، با استفاده از آزمون ناپارامتری یومن‌ویتنی[5]برای متغیرهای مستقل، تحلیل‌های آماری انجام شد. تمامی متغیرهای کیفی مستقل با استفاده از آزمون مربع کای[6] یا آزمون دقیق فیشر[7](درصورتی‌که مقدار مورد انتظارِ بیش از 80% از خانه‌های جدول توافقی کمتر از 5 باشد)، و متغیرهای کیفی وابسته نیز با استفاده از آزمون مک-نمار[8]مورد تحلیل آماری قرار گرفتند و در تجزیه‌وتحلیل‌های چند متغیره نیز از آزمون رگرسیون لجستیک استفاده گردید. جهت تهیه مدل نهایی رگرسیون لجستیک متغیرهایی که در تجزیه‌وتحلیل‌های تک متغیره دارای P<0.2 بودند وارد مدل شدند و با استفاده از مدل Enter، ساخت مدل نهایی انجام گرفت. تمامی تحلیل‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS ورژن 22 انجام شد و در تمامی موارد سطح اطمینان 95% (p<0.05) به‌عنوان سطح معنی‌داری آماری مدنظر قرار گرفت.

باهدف کاهش چند هم‌خطی[9]در بین متغیرهای مؤثر در بروز عفونت، میزان عامل تورم واریانس[10]محاسبه‌شده و متغیرهایی که این ضریب برای آن‌ها بالای 10 به دست آمد، از مدل حذف گردیدند. ضمناً علاوه بر محاسبه VIF، شاخص‌سازی[11]در مورد متغیرهای مربوط به امنیت زیستی در این مطالعه انجام شد و متغیر جدید "امنیت زیستی" ایجاد گردید. درواقع متغیر "امنیت زیستی" از متغیرهای "نحوه دفع تلفات"، "تعداد واحد در شعاع 10 کیلومتری"، "فاصله تا نزدیک‌ترین واحد پرورش اردک سانان"، "فاصله تا نزدیک‌ترین دریاچه"، "نزدیکی به مسیرهای تردد عمومی"، "نوع حصار اطراف واحد" و "وضعیت ضدعفونی دان مصرفی" ایجاد شد و این متغیر جدید، بجای هفت متغیر فوق‌الذکر، وارد مدل نهایی شد. درنهایت برازش مدل لجستیک با استفاده از آزمون هاسمر لمشو[12]بررسی گردید.

روش انجام آزمایش مولکولی (PCR)

در هر مرحله از نمونه‌برداری، هر 5 نمونه سواب نای یا کلواک باهم مخلوط شده و در سوسپانسیون 10% با PBS حاوی 100 واحد پنی‌سیلین 100 میکروگرم استرپتومایسین و 80 میکروگرم جنتاماسین در میلی‌لیتر قرار گرفت و در فریز 20 – در جه سانتی‌گراد برای آزمایش‌های مولکولی نگهداری شد.

آزمایش مولکولی (Real Time RT-PCR) مطابق دستورالعمل آزمایشگاه رفرانس OIE/FAO پادوای ایتالیا (IZS Ve. Legnaro-Padova) جهت تعیین حضور ویروس انجام گرفت (12).

جهت جداسازی RNA ویروس از مایع آلانتوئیک از کیت High pure viral Nucleic Acid Kit(Roche,Germany) استفاده شد.

یافته‌ها

نتایج توصیفی

درکل 34 مزرعه پرورش طیور گوشتی از شش شهرستان مختلف استان قزوین در مطالعه وارد شدند. در شهرستان‌های آبیک، البرز، آوج، بوئین‌زهرا، قزوین و تاکستان، به ترتیب تعداد 7، 4، 6، 5، 6 و 6 گله موردمطالعه و نمونه‌گیری قرار گرفت.

در فصول بهار و پائیز، هرکدام 8 مزرعه، و در فصول تابستان و زمستان، هرکدام 9 مزرعه تحت پوشش نمونه‌برداری واقع شدند. درکل از مزارع انتخاب‌شده، به‌منظور تکمیل پرسشنامه‌ها و اخذ نمونه‌های مولکولی، نزدیک به 200 بازدید به عمل آمد و مجموعاً بیش از 12500 نمونه سواب کلواک و نای از گله‌های تحت پوشش این مطالعه اخذ گردید.

نیمی از واحدهای واردشده در این مطالعه (17 مزرعه)، تحت پوشش واکسیناسیون با استفاده از واکسن‌های کشته آنفلوانزای H9N2 از 6 شرکت سازنده مختلف داخلی و خارجی قرار داشتند.

[1] Relative Risk (RR)
[2] Kolmogrov-smirnov Test
[3] Indipendent samples T-test
[4] Mann-whitney U test
[5] Chi square test
[6] Fishers exact test
[7] McNemar Test
[8] Multicollinearity
[9] Variance Inflation Factor
[10] Creation of Indexes
[11] Hosmer and Lemeshow T

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]

این 17 واحد، واکسیناسیون علیه آنفلوانزا را در روزهای 1، 4، 5، 6، 7، 9 و 11 دوره پرورش مورداستفاده قرار داده بودند. توزیع مکانی واحدهای موردمطالعه واکسینه شده و غیر واکسینه در جدول شماره 1 آمده است.

از بین واحدهای موردمطالعه، نتایج آزمایش‌های مولکولی نمونه‌های سواب کلواک و نای 16 واحد اپیدمیولوژیک، مثبت بودند، لذا بروز عفونت آنفلوانزای H9N2 در واحدهای گوشتی موردمطالعه طی سال‌های 95-96 برابر با 47% (فاصله اطمینان: 64%-30%) محاسبه گردید. از این 16 واحد، 6 واحد مربوط به گروه واحدهای غیر واکسینه، و 10 واحد مربوط به گروه واحدهای واکسینه بود. تعداد 2 نمونه مثبت در جوجه‌های 20 روزه، 4 نمونه مثبت در جوجه‌های 30 روزه، 9 نمونه مثبت در جوجه‌های 40 روزه، و 1 نمونه مثبت در جوجه‌های 50 روزه، مشاهده گردید.

میزان بروز در نژاد رأس، 56% (فاصله اطمینان: 75%-37%)، در نژاد کاب 14,2% (فاصله اطمینان: 40%-12%) و در نژاد آربوراکرز 100% بود و میزان بروز عفونت در واحدهای بدون سابقه بیماری، 42% (فاصله اطمینان: 59%-25%) و در واحدهای دارای سابقه بیماری، 100% بود. میزان بروز برحسب بقیه متغیرها در جدول شماره 2 نمایش داده‌شده است.

هیچ‌کدام از واحدهای موجود در شهرستان آوج درگیر عفونت نشدند و شهرستان‌های تاکستان و قزوین هرکدام با 4 واحد آلوده، بیشترین واحدهای آلوده را در برداشتند. تعداد واحد درگیر عفونت در شهرستان‌های مختلف در نمودار شماره 1 به نمایش درآمده است.

هیچ‌یک از واحدهای درگیر عفونت در اقلیم‌های "مرطوب فراسرد" و "مدیترانه‌ای فراسرد" مستقر نبودند و بیشترین واحد آلوده نیز مربوط به اقلیم "نیمه‌خشک سرد" با 7 مورد کانون آلوده بود.

نتایج تحلیلی

تجزیه‌وتحلیل‌های تک متغیره

در تجزیه‌وتحلیل‌های تک متغیره، نسبت تعداد واحدهای درگیر عفونت به تعداد واحدهای غیر درگیر برحسب متغیرهای کیفی مختلف، با استفاده از آزمون Chi-Square مورد مقایسه قرار گرفت که از بین متغیرهای کیفی موردمطالعه، متغیرهای "نوع حصار اطراف واحد"، "وضعیت سیستم خنک‌کننده" و "امنیت زیستی" در آزمون مربع کای تفاوت معنی‌داری در نسبت واحدهای آلوده به واحدهای پاک نشان دادند (P<0/05).

ضمناً میانگین تعداد واحدهای درگیر بیماری با میانگین تعداد واحدهای غیر درگیر، برحسب متغیرهای کمی مختلف، با استفاده از آزمون T-test مورد مقایسه قرار گرفت که از بین متغیرهای کمی موردمطالعه نیز متغیرهای "میانگین تیتر مادری"، "ارتفاع"، و " نزدیکی به مسیرهای تردد عمومی" در آزمون T_test و متغیر " تعداد واحد در شعاع 1 کیلومتری" در آزمون یو من ویتنی، تفاوت معنی‌داری در میانگین واحدهای آلوده نسبت به واحدهای پاک نشان دادند (P<0/05).

آنالیز رگرسیون لجستیک چند متغیره

علاوه بر متغیرهای معنی‌دار شده در تجزیه‌وتحلیل‌های تک متغیره، کلیه متغیرهای دارای p-value کمتر از 0,2 نیز وارد مدل چند متغیره شدند و پس از حذف متغیرهای با همبستگی بالا که دارای ضریب عامل تورم واریانس (VIF) بزرگ‌تر از 10 بودند، و همچنین متغیرهای مشارکت‌کننده در ساخت متغیر جدید "امنیت زیستی" (شاخص سازی) از مدل نهایی؛ همان‌طور که در جدول شماره 3 نمایش داده‌شده است، در مدل رگرسیون لجستیک پس از کنترل مخدوش گرها، تنها متغیرهای "امنیت زیستی" و "وضعیت سیستم خنک‌کننده" به‌عنوان عوامل خطر بروز عفونت، معنی‌دار شدند (P<0.05).

جدول شماره 1- واحدهای نمونه‌برداری شده به تفکیک شهرستان و انجام یا عدم انجام واکسیناسیون

شهرستان	واحدهای غیر واکسینه	واحدهای واکسینه	مجموع
آبیک	5	2	7
البرز	2	2	4
آوج	5	1	6
بوئین زهرا	3	2	5
تاکستان	1	5	6
قزوین	1	5	6
مجموع	17	17	34

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]

جدول شماره 2- بروز آلودگی در واحدهای موردمطالعه برحسب متغیرهای مختلف

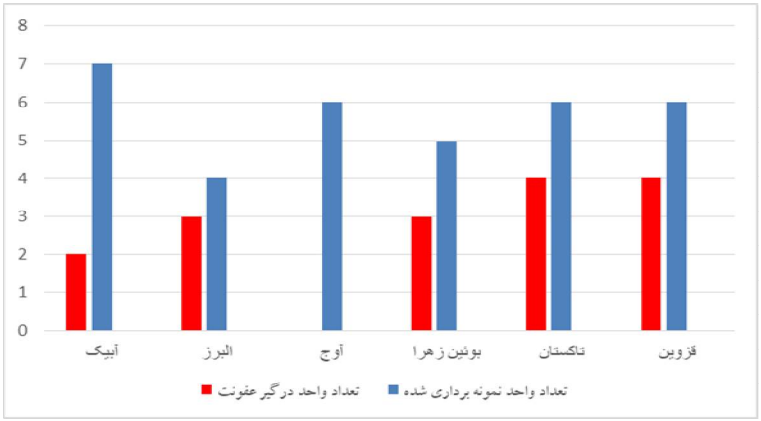
متغیر موردمطالعه	وضعیت متغیر در واحدهای موردمطالعه	میزان بروز آلودگی (٪)	فاصله اطمینان	
			حد پائین (٪)	حد بالا (٪)
داشتن منابع آبی سرپوشیده 47%	بله	40	10	70
	خیر	47	30	64
استفاده از واکسن	بله	58	35	82
	خیر	35	13	58
داشتن حصار کامل در اطراف واحد	بله	11	1	54
	خیر	65	44	86
استفاده از دوش قرنطینه	بله	36	8	65
	خیر	54	34	75
داشتن حوضچه ضدعفونی فعال	بله	37	4	71
	خیر	50	33	67
داشتن سیستم خنک‌کننده مناسب[1]	بله	37	4	71
	خیر	55	37	74
داشتن امنیت زیستی مناسب	بله	23	3	44
	خیر	70	49	92
داشتن میانگین تیتر آنتی‌بادی مادری بیشتر از 7	بله	25	10	50
	خیر	59	39	80
ارتفاع کمتر از 1500 متر از سطح دریا	بله	59	39	80
	خیر	25	1	50
استقرار کمتر از 5 واحد در شعاع یک کیلومتری	بله	33	10	87
	خیر	48	31	66
داشتن فاصله بیشتر از 500 متر نسبت به مسیرهای تردد عمومی	بله	31	12	51
	خیر	81	59	92

جدول شماره 3- تحلیل رگرسیون لجستیک چند متغیره

متغیر	حالت (برای متغیرهای کیفی)	ضریب بتا	نسبت شانس	فاصله اطمینان 95% حد پائین/حد بالا		P_value
امنیت زیستی	مناسب	-3/198	0/041	0/004	0/473	0/01
وضعیت سیستم خنک‌کننده	مناسب	-2/754	0/064	0/006	0/686	0/023
مقدار ثابت	-	2/342	10/403	-	-	0/028

[1] منظور از سیستم خنک کننده مناسب، سیستمی است که تمامی شرایط فنی مربوطه ازجمله ایجاد فشار منفی مناسب، عدم خلل و فرج در سرتاسر سالن بطوریکه تنها راه ورود هوا، اینلت ها و یا ورودی سر سالن‌ها باشد و...را داشته باشد.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]



نمودار شماره 1 - تعداد واحد درگیر عفونت در شهرستان‌های مختلف

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه و بررسی‌ها و مطالعات متعدد قبلی انجام‌شده، ویروس H9N2 در کشور ما بومی بوده و بروز آن در بین واحدهای گوشتی استان قزوین در این مطالعه 47% به دست آمد. گرچه جدایه‌های ویروس آنفلوانزای H9N2 جداشده در کشور جزء ویروس‌های با بیماری‌زایی پایین می‌باشند، اما در مزارع گوشتی با همراهی سایر عوامل بیماری‌زا باعث بروز عفونت در سطح بالا می‌گردد. البته باید توجه داشت باوجود شناسایی عفونت در تقریباً نیمی از گله‌های موردمطالعه در این طرح، تلفات و علائم بالینی بیماری در هیچ‌کدام از واحدها مشاهده نگردید و این نشان‌دهنده این مطلب است که صرفاً مواجهه با این ویروس باعث رخداد بیماری بالینی و تلفات شدید نمی‌گردد.

برخی محققین در مطالعات خود نشان داده‌اند که واکسن آنفلوانزای تحت حاد در جلوگیری از بروز آلودگی کارایی زیادی نداشته؛ بلکه بیشتر در کاهش علائم و دفع ویروس مؤثر می‌باشند (13) درگیری نسبت بیشتری از واحدهای واکسینه شده (58%) در مقایسه با واحدهای غیر واکسینه (35%) نیز که در نتایج ذکرشده است، مؤید همین مطلب است. چراکه با عنایت به بومی بودن بیماری در کشور، باوجود دریافت واکسن، واحدهایی که در مناطق پرخطر قرار داشته‌اند به‌راحتی درگیر آلودگی شده‌اند.

فریدونی و همکاران (2010) با جداسازی ویروس و انجام آزمایش PCR بر روی 1146 نمونه اخذشده از 45 گونه پرندگان آبزی وحشی موجود در 6 استان مختلف کشور، شیوع آنفلوانزای با حدت کم را در این پرندگان نزدیک به 4% گزارش نمودند. البته ایشان اعلام نمودند که شیوع آنفلوانزا در این پرندگان بیش از این مقدار، و حدود 9% است. بیشترین نمونه‌های اخذشده و بیشترین نتایج مثبت در این مطالعه مربوط به خانواده اردک سانان بوده است (9).

در مطالعه‌ای که توسط پور صفر و همکاران (1391) بر روی 550 نمونه سواب اخذشده از کلواک اردک‌های بومی استان گیلان جهت ردیابی ویروس‌های آنفلوانزا (آزمایش RT-PCR) انجام گرفت، ویروس آنفلوانزای پرندگان در هیچ‌یک از نمونه‌های مورد آزمایش ردیابی نشد. آن‌ها علت آن را تأثیر اجرای برنامه‌ای کنترل بیماری آنفلوانزای پرندگان، اجرای برنامه‌های آموزشی بکار گرفته‌شده توسط سازمان دامپزشکی کشور و رعایت اصول امنیت زیستی در گله‌های اردک بیان کردند (14).

درواقع یکی از مهم‌ترین دلایل تفاوت نتایج مطالعه حاضر با مطالعات قبلی و گزارش درصد بالای بروز عفونت نسبت به مطالعات قبل در این است که در مطالعه حاضر برخلاف مطالعات قبلی، نمونه‌گیری‌های متعدد تکراری در طول زمان انجام شد و به همین دلیل وضعیت واحدها ازنظر آلودگی به ویروس در این مطالعه بیشتر موردبررسی قرار گرفت و موارد منفی کاذب حذف گردید. این‌یکی از فواید انجام مطالعات کوهورت است که برای اولین بار در طیور گوشتی کشور برای تعیین بروز آلودگی به ویروس آنفلوانزای تحت حاد در این مطالعه بکار گرفته شد.

وانگ و همکاران (2014) با انجام متاآنالیز بر روی 15 مطالعه انجام‌شده باهدف تعیین مؤلفه‌های بروز آنفلوانزا، عمده‌ترین عوامل خطر بروز عفونت آنفلوانزای پرندگان در طیور را "شرایط محیطی (منابع آبی روباز، آلودگی فارم مجاور)"، "نگهداری دیگر حیوانات در مزرعه"، و "عدم ضدعفونی فارم"معرفی نمودند (15). بین تعداد سرم‌های مثبت، با "اندازه گله" و "قرار گرفتن در مسیر حرکت پرندگان وحشی مهاجر" نیز رابطه آماری مشاهده‌شده است (1).

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]

مهرآبادی و همکاران (2016) طی یک مطالعه مقطعی در طیور بومی و پرندگان وحشی در کشور، ضمن بررسی عواملی همچون "اقلیم، نزدیکی به رودخانه، تالاب، یا دریاچه، کشتارگاه طیور، بازار پرنده فروشی، وجود واحد پرورش اردک یا دیگر طیور صنعتی در شعاع 3 کیلومتری، نزدیکی به مسیرهای حمل‌ونقل عمومی، عدم دفن بهداشتی تلفات و مصرف آن‌ها به‌عنوان خوراک دیگر دام‌ها، و منبع آب روستا"، نشان دادند که فقدان دفن بهداشتی لاشه‌ها، عامل خطری برای بروز عفونت است. همچنین اثر متغیر "آب‌وهوای سرد و مرطوب (نواحی کوهستانی)" را به‌عنوان یک عامل محافظت‌کننده در بروز آنفلوانزا گزارش نمودند. درواقع، شیوع بیماری در روستاهای واقع در نواحی کوهستانی، به‌طور معنی‌داری کمتر از دیگر روستاها بود. این موضوع گرچه عکس نتایج برخی مطالعات قبلی انجام‌شده در کشور است اما منطبق بر نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه است؛ چراکه بر اساس نتایج این مطالعه، اثر متغیر "ارتفاع" معنی‌دار بوده و بیماری بیشتر در ارتفاعات کمتر مشاهده گردید. البته از این تورش نباید غافل بود که این نتیجه ممکن است از این امر متأثر باشد که اصولاً تعداد واحدهای موجود در مناطق با ارتفاعات بالا، کمتر بوده و گزارش بیماری در آن‌ها نیز کمتر است (16).

وانگ و همکاران (2010) با استفاده از مدل رگرسیون لجستیک در تحلیل عوامل خطر مرتبط با آنفلوانزای پرندگان، نشان دادند که بروز آنفلوانزا در پرندگان وحشی با افزایش "شاخص پوشش گیاهی طبیعی (NDVI[1]) در ماه دسامبر"، "میانگین این شاخص در ماه مارس"، "ارتفاع پایین"، "افزایش حداقل دما در ماه ژانویه"، و "کاهش بارندگی در ماه ژانویه"، ارتباط بالایی دارا است. همچنین نقشه‌های خطر نشان می‌دهند که این بیماری در ارتباط با "افزایش دما" و "کاهش بارندگی" است (17).

مهرآبادی و همکاران (2015) "وجود مزرعه پرورش اردک"، "وجود محل استراحت پرندگان مهاجر در مسیر مهاجرت (توقف کوتاه‌مدت)" و "قرار داشتن دریاچه تا شعاع 3 کیلومتری واحد" را به‌عنوان عامل خطر بروز عفونت شناسایی نموده‌اند که متغیر اول در مطالعه حاضر نیز به‌عنوان یک متغیر دارای ارتباط قابل‌توجه با بروز عفونت شناسایی شد (P=0/2). متغیر آخر نیز در بررسی انجام‌گرفته توسط حیدرپور و همکاران نیز مؤثر تشخیص داده‌شده است؛ به‌طوری‌که بیشترین میزان شیوع بیماری در نزدیکی دریاچه‌ها و تالاب‌ها مشاهده‌شده است (1).

بر اساس نتایج مطالعه مهرآبادی و همکاران (2015) وجود "بازار فروش پرندگان زنده" یکی از مهم‌ترین متغیرهای مؤثر در بروز آنفلوانزاست که در بیشتر مطالعات انجام‌گرفته در دنیا نیز این متغیر به‌عنوان مهم‌ترین عامل خطر شناسایی‌شده است (18). ولی در مطالعه حاضر، اثر این متغیر معنی‌دار نشد که دلیل آن احتمالاً مربوط به محدود بودن مطالعه به یک منطقه نه‌چندان وسیع استان قزوین است. به‌بیان‌دیگر در مطالعاتی که در سطح کشور انجام می‌شوند، ازآنجاکه بازارچه‌های پرنده فروشی متعدد در فواصل مختلف از واحدهای اپیدمیولوژیک موردمطالعه قابل‌بررسی می‌باشند، امکان مطالعه این متغیر بهتر فراهم خواهد بود.

مطالعات دیگر، اثر عدم رعایت اصول امنیت زیستی را نشان داده‌اند. وصفی و همکاران (2002) نشان دادند که انتقال کود مرغی از تهران و قزوین به مقصد استان‌های جنوبی کشور توسط کامیون‌های باری، سپس حمل خوراک از بنادر جنوبی به مقصد دیگر استان‌ها در سطح کشور با استفاده از همین کامیون‌ها بدون انجام عملیات ضدعفونی مناسب، عامل انتشار ویروس H9N2 در سراسر کشور است (19).

مهرآبادی و همکاران (2015) عامل خطر دیگری را مشابه نتایج مطالعه انجام‌گرفته توسط وصفی مرندی و همکاران (2010) معرفی نموده‌اند که عبارت است از "حمل‌ونقل طیور زنده در منطقه". همچنین این نتیجه مشابه نتایج مطالعه انجام‌گرفته در ترکیه است که "نزدیکی به شبکه‌های ارتباطی (راه‌های اصلی) و شهرها" در گسترش بیماری نقش داشته است و علت آن را تمایل احداث مزارع نزدیک شهرها و راه‌های ارتباطی برای دسترسی به بازارهای فروش بیان نموده‌اند. این موضوع در تطابق با نتایج مطالعه حاضر است؛ چراکه متغیر "نزدیکی به مسیرهای تردد عمومی" در این مطالعه معنی‌دار شده و میانگین فاصله واحدهای درگیر کمتر از واحدهای غیر درگیر بود. ایشان همچنین "سردشدن هوا" را در گسترش بیماری مؤثر دانسته‌اند. در مصر نیز طغیان‌های آنفلوانزا به‌طور معنی‌داری با "تماس با پرندگان وحشی" و "حمل‌ونقل پرندگان" ارتباط داشته است (18).

در نیجریه با استفاده از مدل‌های GIS، ارتباط بین طغیان‌های آنفلوانزا و متغیرهایی همچون "تجارت"، "بازارهای فروش پرندگان زنده"، "عدم دفن بهداشتی لاشه" و "ضعف کاربرد شاخص‌های بهداشتی" نشان داده‌شده است (20). همچنین در مطالعه مقطعی صورت گرفته در ویرجینیا، "رها کردن پرندگان تلف‌شده"، به‌عنوان عامل خطر گسترش بیماری بیان‌شده است (21). این متغیر در مطالعه حاضر معنی‌دار نگردید که دلیل آن

[1]Normalized Difference Vegetation Index (NDVI)

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]

احتمالاً عملکرد تقریباً مشابه همه مزارع صنعتی پرورش مرغ گوشتی در منطقه موردمطالعه بود. چراکه اکثر مزارع لاشه طیور تلف‌شده را در کوره لاشه سوز می‌سوزانند یا آن‌ها را به چاه تلفات می‌اندازند؛ لذا تفاوت فاحشی در عملکرد مالکین مختلف وجود نداشته و عامل خطری در این زمینه معنی‌دار نشد.

به‌طورکلی، به نظر می‌رسد مطالعه بر روی آنفلوانزای تحت حاد در شرایط بومی باهدف مشخص نمودن مؤلفه‌های بیماری با مشکلاتی همراه باشد. ازجمله اینکه، احتمالاً تکثیر و تزاید و حضور ویروس در سطح بالا باعث می‌شود بیماری در موقعیت‌های مختلف بروز نموده و در این شرایط مؤلفه‌های بروز عفونت به‌راحتی شناسایی نشوند. چراکه گردش بالای ویروس در بین مزارع ازیک‌طرف، و عدم رعایت اصول امنیت زیستی در اکثر واحدها از طرف دیگر، احتمالاً تأثیر مؤلفه‌های مختلف بر بروز عفونت را تحت‌الشعاع قرار داده و نقش آن‌ها را در رخداد بیماری کمرنگ‌تر می‌نماید؛ و به بیانی ساده:"آلودگی تقریباً در هر شرایطی رخ می‌دهد".

نتیجه‌گیری

درنهایت با عنایت به شناسایی اثر متغیرهای معنی‌دار شده در این مطالعه، "دیوارکشی دور مزارع"، بهبود "وضعیت سیستم خنک‌کننده سالن‌ها" و استفاده از "مه‌پاش"، "ارتقاء سطح ایمنی گله‌های مادر" و "افزایش میانگین تیتر مادری"، احداث مزارع در "ارتفاعات بالاتر"، و دارای فاصله دورتر نسبت به "مسیرهای تردد عمومی" و "دیگر واحدهای پرورش طیور"، استفاده از واکسن در "روزهای ابتدایی‌تر دوره پرورش" و "عدم پرورش در واحدهای دارای سابقه عفونت" و توجه به اولویت "پرورش طیور گوشتی در شهرستان‌های آبیک و آوج" و به‌طورکلی، حذف یا اصلاح مزارع دارای سطوح امنیت-زیستی پائین به‌مرورزمان (آمایش سرزمین)، جهت کنترل و پیشگیری از عفونت و کاهش خسارات آن در استان قزوین اهمیت دارد.

تکثیر و گردش بالای ویروس در منطقه، و عدم رعایت اصول امنیت زیستی در اکثر واحدها باعث انتشار ویروس به‌راحتی در بین مزارع می‌گردد، لذا تأکید بیشتر بر رعایت اصول امنیت زیستی از طریق آموزش ذینفعان و اعمال قوانین و مقررات سخت‌گیرانه در اصلاح ساختار مرغداری‌ها می‌تواند باعث کاهش انتشار عفونت و خسارات ناشی از آن در استان قزوین، و درنتیجه در کشور گردد.

تضاد منافع: این مطالعه هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارد.

منابع

1. Hadipour MM, Habibi G, Vosoughi A. Prevalence of antibodies to H9N2 avian influenza virus in backyard chickens around Maharlou lake in Iran. Pak Vet J. 2011: 31: 192-4.
2. Hablolvarid M. Influenza disease: a review on epidemiological studies, pathogenesis and genetically alteration upon the avian influenza viruses circulating in Iran, on the field of veterinary medicine and medicine in two recent decades. Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi). 2016; 110: 17-31.
3. Nagy A, Mettenleiter T, Abdelwhab E. A brief summary of the epidemiology and genetic relatedness of avian influenza H9N2 virus in birds and mammals in the Middle East and North Africa. Epidemiology & Infection. 2017; 145: 3320-33.
4. Wang M, Fu C-X, Zheng B-J. Antibodies against H ۵and H ۹ avian influenza among poultry workers in China. New England Journal of Medicine. 2009; 360: 2583-4.
5. Gao R, Bai T, Li X, Xiong Y, Huang Y, Pan M, et al. The comparison of pathology in ferrets infected by H۹N ۲avian influenza viruses with different genomic features. 2016; 488: 149-55.
6. Gao R, Cao B, Hu Y, Feng Z, Wang D, Hu W, et al. Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus. New England Journal of Medicine. 2013; 368: 1888-97.
7. shahsavandi s. Filogenetic Analyses of H9N2 Avian Influenza Virus. Journal of Shahid Sadoughi University of Medical Science. 1393; 23: 727-35.
8. Dohoo IR, Martin W, Stryhn HE. Veterinary epidemiologic research: AVC Inc., Canada; 2003.
9. Fereidouni SR, Werner O, Starick E, Beer M ,Harder TC, Aghakhan M, et al. Avian influenza virus monitoring in wintering waterbirds in Iran, 2003-2007. Virology journal. 2010; 7:1.
10. EuropeanCommisson. Diagnostic manual for avian influenza as provided for in Council Directive 2005/94/EC. Official Journal of the European Union. 2006; 2006/437/EC.
11. Tavakol M, Dennick R. Making sense of Cronbach's alpha. International journal of medical education. 2011; 2: 53.
12. Monne I, Ormelli S, Salviato A, De Battisti C, Bettini F, Salomoni A, et al. Development and validation of a one-step real-time PCR assay for simultaneous detection of subtype H5, H7, and H9avian influenza viruses. Journal of clinical microbiology. 2008: 46: 1769-73.
13. Zhang A, Lai H, Xu J, Huang W, Liu Y, Zhao D, et al. Evaluation of the Protective Efficacy of Poly I: C as an Adjuvant for H۹N ۲Subtype Avian Influenza Inactivated Vaccine and Its Mechanism of Action in Ducks. PloS one. 2017; 12: e0170681.
14. Poursafar F. Molecular surveillance of avian influenza virus in domestic ducks: a provincial study. Journal of Veterinary Research 2012; 67: 345-51.
15. Wang Y, Li P, Wu Y, Sun X, Yu K, Yu C, et al. The risk factors for avian influenza on poultry farms: A meta-analysis. Preventive veterinary medicine. 2014; 117: 1-6.
16. Fallah Mehrabadi MH, Bahonar A, Marandi MV, Sadrzadeh A, Tehrani F, Salman M. Sero-survey of Avian Influenza in

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]

backyard poultry and wild bird species in Iran-2014. Preventive Veterinary Medicine. 2016.
17. Si Y, Wang T, Skidmore AK, de Boer WF, Li L, Prins HH. Environmental factors influencing the spread of the highly pathogenic avian influenza H5N1 virus in wild birds in Europe. Ecol Soc. 2010; 15: 26.
18. Fallah Mehrabadi MH. Avian Influenza virus (H9N2) risk factors investigation and Spatial Analyses in domestic and Industrial Poultry of Iran. Tehran University 1393.
19. Vasfi Marandi M, Bozorgmehri Fard MH. Isolation of H9N2 subtype of avian influenza viruses during an outbreak in chickens in Iran. Iranian Biomedical Journal. 2002; 6: 7-13.
20. Joannis T, Meseko C, Oladokun A, Ularamu H, Egbuji A, Solomon P, et al. Serologic and virologic surveillance of avian influenza in Nigeria, 2006-7. Eurosurveillance. 2018; 13: 19007.
21. McQuiston JH, Garber LP, Porter-Spalding BA, Hahn JW, Pierson FW, Wainwright SH, et al. Evaluation of risk factors for the spread of low pathogenicity H7N2 avian influenza virus among commercial poultry farms. Journal of the American Veterinary Medical Association. 2005; 226: 767-72.

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]

Iranian Journal of Epidemiology Winter 2021; 16 (4): 325-334.
Original Article

Evaluation of H9N2 Infection Determinants in Qazvin Broiler Farms During 2016-17: A Cohort Study

Mirzaie K[1], Shushtari AH[2], Bokaie S[3], Fallah Mehrabadi MH[2], Peighambari SM[4]
1- PhD in Epidemiology, Department of Health and Management of Poultry Diseases, Iranian Veterinary Organization, Tehran, Iran
2- Assistant ProfessorDepartment of Poultry Diseases, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
3- Professor, Department of Food Hygiene & Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran
4- Professor, Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
Corresponding author: Bokaie S, sbokaie@ut.ac.ir
(Received 12 December 2019**; Accepted** 23 May 2020**)**

Background and Objectives: Avian influenza (AI) is one of the most important respiratory diseases in the poultry industry that causes huge economic impacts and plays an important role in public health. H9N2 Avian Influenza Virus (H9N2 AIV) has a broad circulation and causes endemic infections in the poultry industry of the country.

Methods: A cohort study was conducted from July 2016 to November 2017 in broiler chicken farms of Qazvin Province, Iran to detect H9N2 AIV infection determinants in broiler chicken farms.

Results: Sixteen out of 34 units that were included in the study had positive PCR results. Some variables such as "type of fence around the unit", "biosecurity", "cooling system status", "mean maternal antibody titers", "location height", "proximity to public traffic lanes" and "number of units within a radius of 1 km" had significant effects on the infection occurrence in poultry units according to univariate statistical analyses ($P<0.05$). However, only two of them ("biosecurity" and "cooling system status") were statistically significant in multi-variable analyses ($P<0.05$).

Conclusion: Biosecurity measures should be implemented more seriously and strictly in broiler farms to reduce the impact of H9N2 AIV infection.

Keywords: Influenza infection deteminants, H9N2 subtype, Polymerase chain reaction (PCR), Broiler farms, Qazvin

[Downloaded from journals.tums.ac.ir on 2024-10-03]