مسح لمسبب أنفلونزا الطيور فايروس نوع H5N1 في طيور الحمام الزاجل *(Coloumbia livia domestica)* لثلاث مناطق في العراق

ضرغام حمزة يوسف آل زوين لمياء حمودي سلمان صلاح فاضل عباس صبري رجب صالح
فرع الصحة العامة البيطرية/ كلية الطب البيطري دائرة البيطرة وزارة الزراعة
جامعة بغداد

الخلاصة:

نفذت الدراسة كمسح لمسبب أنفلونزا الطيور فايروس نوع (H5N1) في طيور الحمام الزاجل لثلاث مناطق في العراق خلال شهر كانون أول 2013. جمعت 64 عينة (مسحات مذرقية) من مجمع طيور الحمام الزاجل والمستخدم كحمام استباق لثلاث مناطق وتجمعات في العراق (2بابل ،1بغداد). أستخدمت عدة تشخيصية جاهزة معدة لهذا الغرض، تم قراءة النتائج لكل فحص وخضعت البيانات للتحليل الاحصائي باستخدام مربع كاي. اظهرت النتائج وجود فروقات معنوية ($P<0.05$) بين الحالات الناتجة من الفحص وكان اكثرها الحالات السالبة وأقلها الحالات الموجبة، وعدم وجود فروقات بين العينات الموجبة والسالبة والضعيفة الموجبة المفحوصة للمناطق المختلفة. أوصت الدراسة الى اجراء المزيد من الاختبارات والتحاليل الاكثر دقة لعزل وتحديد الأنماط المصلية للفايروس بواسطة الاختبارات التلازنية وإجراء سلسلة التفاعلات لأنزيم البلمرة – النسخ العكسي المتعاقب ،وسلسلة النيوكلوتيدات. يستنتج من البحث أمكانية ان يعد الحمام الزاجل واسطة لأنتشار وأنتقال المرض سواء للإنسان او الحيوان والطيور الداجنة الاخرى ومساهمته في التلوث البيئي وتأثيره في الصحة العامة من خلال تلوث واحدة من المكونات الحيوية البيئية كمصادر المياه .

الكلمات المفتاحية: أنفلونزا، فايروس، حمام، طيور، حمام زاجل.

SURVEY OF AVIAN INFLUENZA $H5N_1$ VIRUS IN RACING PIGEON *(Coloumbia livia domestica)* IN THREE REGIONS OF IRAQ.

Drgham.H. Yousuf AL.Zwean Lamyaa. H. Salman Salah.F.Abbas Sabri.R.Salah

ABSTRACT:

This study was conducted as a survey to the avian influenza (H5N1) virus in racing pigeon *(Coloumbia livia domestica)* in three regions of Iraq in December 2013. Sixty four cloacal swabs were collected from cloaca of pigeon that used as racing pigeon in three regions of Iraq (Two in Babylon, one in Baghdad). Prepeared diagnostic kit was used for this perpuse. The results were detected for each test and the data were statistically analyzed by using Chi –square test. The results of this study revealed a significant($p<0.05$)differences between the cases obtained from the tests, and the negative cases were the majority, while the minority is the positive cases , also there was no significant differences between the positive , negative and weak positive that examined for different region. The study recommended to conduct more tests and analyses that more accurate for isolating and identifying the type and serotype of virus by hemagglutination assay (HA), the Multiplex Reverse Transcription– Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) and using the nucleotide sequence. Therefore, it could be concluded from this study is that

ISSN 2072-3875

possibility of the pigeon (*Coloumbia livia domestica*) to be the mode of transmission and spread the disease ,whether to human or animal and other domestic avian and its contribute to environmental pollution and impact on public health through contamination of one of the environmental vital components like water sources .

Key word : Influenza , virus ,pigeon ,Avian ,Racing pigeon.

المقدمة :

يعد مرض أنفلونزا الطيور مرضا معديا للطيور وينتج عن النوع A من فيروسات الأنفلونزا من أسرة الفيروسات المخاطية السوية (*Orthomyxoviridae*) (وهذه الفايروسات معدية للدواجن الى جانب عدد كبير من الطيور البرية ومنها الحمام,كما أن بعض فايروسات أنفلونزا الطيور تصيب عدد من الثدييات بما فيها البشر (منظمة الغذاء والزراعة الأمم المتحدة (FAO) ، 2011)

كما أن ظهور فايروس H_5N_1 من المسببات القوية لمرض أنفلونزا الطيور عالي الضراوة (HPAI) Highly Pathogynic Avian Influenzaوالذي ينتقل من الحيوان الى الانسان كمرض مشترك قددسبب الكثير من المخاوف للأوساط الطبية والبيطرية وكذلك المعنيين عن الصحة العامة والحياة البرية والذي دق ناقوس الخطر نظرا لسرعة تفشيه وقدرته على الانتشار فوق مساحات جغرافية شاسعة وخاصة عن طريق التجارة بالدواجن والطيور البرية أو من خلال الطرق التي تسلكها الطيور البرية كونها خزانات طبيعية أو مضيف معروف لفيروسات أنفلونزا الطيور والتي تلعب دوراً في تفشي الفيروس المسبب للمرض (المفوضية الأوربية،2007) (2008, Compensation Program)

(منظمة الأغذية العالمية،2006). ويكون للعديد من فصائلها الدور المهم في التلوث البرازي لمصادر مياه الشرب والمحاصيل الزراعية وبالتالي التلوث البيئي، وربما تكون بأتصال مباشر مع الطيور الداجنة وأمكانية النقل المباشر للمسببات المعدية وحدوث الاصابة وخاصة عند تربية الدواجن في المنازل، حينها تقضي الطيور المهاجرة بعض من أجزاء حياتها في مكان وتهاجر الى مكان اخر عند تغيير المناخ، ويعد الحمام واليمام(رتبة الحماميات) والذي يستوطن المدن ويعيش باتصال وثيق بالانسان ومع الحمام الاليف الزاجل والذي لديه الاستعداد للإصابة بفايروس الأنفلونزا (2005,Lillehaug, *et al*) (2003,Ujvari, *et al*) (2002, Perkins and Swayne) ، كما ان عتره الفايروسH_5N_1 النوع الأسيوي الأصل عالي الضراوة من بين فيروسات أنفلونزا الطيور والذي يلفت النظر بتركيز الاهتمام خلال السنوات الاخيرة بسبب نسبة الهلاكات العالية في العالم سواء في الحيوانات الأليفة او بالطيور البرية والاسيرة (الطيور الأسيرة: تضم تلك الموجودة في حديقة الحيوان او المحمية الطبيعية) وبأعتبار الارتفاع العالي في درجة ضراوة الفايروس وقابليته لإصابة الانواع الثديية ومنها الانسان وبنسب وفيات بلغت 50% والقلق الاكثر في ان يتمكن الفايروس مستقبلا من التكيف للأنتقال من انسان الى انسان بسهولة مما يسبب جائحة عالمية اذا لم يتم احتوائها في الوقت المناسب (منظمة الأغذية والزراعة والمنظمة العالمية لصحة الحيوان FAO/OIE ، 2007) (2013, OIE) (2012, OIE) ، ومما تقدم هدفت هذه الدراسة جمع العينات الأُستية (عينات مذرقية Cloacal swabs) من مجمع طيور الحمام الزاجل لثلاث مناطق في العراق لتحديد تواجد مسبب أنفلونزا الطيور نوع H5N1ودوره في نقل المرض وبالتالي نشر الإصابة والتأثير في الصحة العامة.

المواد وطرائق العمل :

جمع العينات :

جمعت (64) عينة مسحة أستية(مسحات مذرقية Cloacal swabs) من المجمع لطيور الحمام الزاجل (*Coloumbia livia domestica*) والمستخدم من قبل مربي الطيور كحمام استباق (Racing pigeons) لثلاث مناطق وتجمعات في العراق (2 بابل ، 1 بغداد) خلال شهر كانون الاول 2013.

العدة التشخيصية :

استخدمت ( ) Influenza Virus Antigen One-Step. B.V. European Veterinary Laboratory) EVL-((AS1001-AGOl). **هولندية الصنع** Nether land عدة تشخيصية جاهزة معدة لتحديد مسبب مرض

ISSN 2072-3875

أنفلونزا الطيور فايروس نوع A في المسحات الأستية من مخرج الطيور والحاوية على المستنبت النسيجي من خلال مسح جدار المجمع، وان هذه العدة بكل مفرداتها موضوعة بظرف خاص وهي عبارة عن اجراء اختبار مسحي روتيني حقلي وعملي بالإمكان عمله خلال دقائق، كما صممت للكشف عن مستضدات الفيروس بواسطة استخدام التحليل الاصطباغي المناعي السريع (Rapid Immunochromic Assay) ومبدأ عمل العدة هو التحليل الكروماتوغرافي (Chromatographic)يتفاعل فيه أجسام مضادة أحادية النوع من موقعين مستضدين لفيروسات الأنفلونزا (2011, EVL).

خطوات الاختبار :

تم إتباع التعليمات المرفقة مع العدة التشخيصية والمعبأة في ظرف خاص ويتم استخدامها حال فتح الظرف الحاوية على المحلول المعادل سامحين بذلك للدقائق العالقة بان تستقر بقعر الانبوبة وإن كان ضروريا تم عمل الطرد المركزي للعينة، أضيفت 4 قطرات من خليط المستنبت او العالق في حجرة قراءة العينة الموجودة في شريط الاختبار، تم قراءة النتيجة بعد مرور15-20 دقيقة من الوقت (2011, EVL).

التحليل الاحصائي :

خضعت البيانات للتحليل الاحصائي باستخداماختبار مربع كاي وفق برنامج (2013, SPSS).

والحاوي على شريط أختبار وماصة وماسحة خاصة لاختبار واحد وجميعها نبيذة بعد الاستعمال حينها تم اضافة 9قطرات من محلول (Buffer) المعادل والمجهز مع العدة اي ما يعادل (±300µl) في أنابيب بندروف (Micro tube)، أخذت العينة بواسطة الماسحة من مخرج الطيور من خلال إدخال طرف الماسحة بالكامل في أست الطيور (المجمع) مع المسح بحركتين الى اربع حركات دائرية مع الضغط برفق على السطح المخاطي وهز أي جزء من بقايا البراز على المسحة ان وجد والذي ربما يعطي تفاعل موجب كاذب يمكن ان يحدث بسبب تلوث الماسحة ببكتريا (*E.coli*) المتواجدة بالبراز(منظمة الغذاء والزراعة الأمم المتحدة (FAO) ، 2011) . خففت عينة المستنبت النسيجي بواسطة المحلول المعادل وبنسبة 1:1 وغسلت بقوه وبحركة دائرية داخل أنابيب بندروف

النتائج :

اظهرت النتائج على وجود فروقات معنوية ($P<0.05$) بين الحالات الناتجة من الفحص حيث كان أكثرها الحالات السالبة والتي بلغت نسبتها 79.68% وأقلها الحالات الموجبة والتي بلغت نسبتها 6.25% , في حين بلغت نسبة العينات الموجبة الضعيفة 14.06% جدول (1)

جدول (1) عدد العينات المفحوصة الكلية ونسبها المئوية

العينات	العدد	النسبة المئوية
السالبة	**51**	**79.68**
الموجبة الضعيفة	**9**	**14.06**
الموجبة	**4**	**6.25**
المجموع	**64**	

قيمة مربع كاي 60.8 : α^2

ويوضح الجدول (2) عدد العينات المفحوصة لكل منطقة ونسبها المئوية حيث اظهرت النتائج عدم وجود فروقات معنوية بين العينات الموجبة والسالبة والضعيفة الموجبة المفحوصة في المناطق المختلفة الاولى، الثانية، الثالثة 9.52% ، 4.76% ، 4.54% على التوالي، بينما بلغت نسبة الحالات الموجبة الضعيفة 14.28%، 19.04%، 9.09% في حين بلغت نسبة الحالات السالبة للمناطق اعلاه 76.19% ، 76.19%، 86.36% وعلى التوالي.

ISSN 2072-3875

جدول رقم (2) عدد العينات المفحوصة لكل منطقة ونسبها المئوية

العينات المفحوصة في المناطق	العدد المفحوص	العينات السالبة		العينات الموجبة الضعيفة		العينات الموجبة	
		العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية	العدد	النسبة المئوية
المنطقة الاولى (بابل)	21	16	76.19	3	14.28	2	9.52
المنطقة الثانية (بابل)	21	16	76.19	4	19.04	1	4.76
المنطقة الثالثة (بغداد)	22	19	86.36	2	9.09	1	4.54
المجموع	64	51		9		4	

قيمة مربع كاي 1.81 : α^2

المناقشة :

أن النتائج التي ظهرت من خلال الدراسة والتي كانت نسبة الحالات السالبة اعلاها والبالغة 79.68 % والموجبة الضعيفة 14.06% وأقلها نسبة الموجبة 6.25 % جدول (1) ربما تعود الى أن عملية أخذ مسحات من أست الطيور (مسحات مذرقية) هي في الوقت الحالي التقنية الحديثة المفضلة في الحصول على عينات لمراقبة فايروس H_5N_1 (HPAI) المسبب لأنفلونزا الطيور في الطيور البرية وهذا ما أكده (منظمة الغذاء والزراعة الأمم المتحدة FAO, 2011) ، كما ان اختبارات الكشف السريع (One-step) بأستخدام الماسحات للكشف عن النوع A من فايروس أنفلونزا الطيور متاحة للاستخدام الحقلي ولكن هذه الاختبارات اقل حساسية نسبياً وقد تتطلب معيار كبير من الفايروس للحصول على نتيجة ايجابية وبذلك فأن مقدار الاختبار السلبي (العالية) قد تكون ذات قيمة منخفضة (اي أن الاصابة موجودة ولكنها ليست على مستوى عالي بما يكفي بحيث تظهر النتيجة الايجابية على الشريط التشخيصي (منظمة الغذاء والزراعة الأمم المتحدة (2011, FAO) (2005, Lillehaug, *et al*) (2003, Fouchier, *et al*) (2003,Alexander and Manvell)، كما ان النتائج التي اظهرها الجدول (2) والتي أوضحت عدم وجود فروقات معنوية لنسب العينات سواء السالبة والموجبة الضعيفة والموجبة والمفحوصة للمناطق المختلفة والتي كان اكثرها الحالات السالبة وأقلها الحالات الموجبة وهذا قد يعود الى أن فايروسات أنفلونزا الطيور الاخرى غير المسببة للمرض تتكاثر أساسا في المسار المعوي للطيور ، فأن السلالات الحديثة من مسببات المرض القوية عالية الضراوة (HPAI) لفيروس H_5N_1 المسبب لأنفلونزا الطيور تتكاثر الى مستويات مرتفعة ولفترة طويلة في الجهاز التنفسي مقارنة بالجهاز الهضمي ، اضافة الى ان عند التعرض التجريبي تم العثور على تراكيز عالية من الفيروس في العينات الرغامية اكثر من العينات المأخوذة من است الطيور (المخرج). (المفوضية الأوربية ، 2007) (سيترم– رامريز اليس وآخرون، 2004) (هيوليس بوست وآخرون، 2005) ، كما أن زيادة نسبة النتائج السالبة وقلة النتائج الموجبة تعود الى قلة ودقة المعلومات العمرية (Age date) والتصنيف العمري للطيور والاستعداد للإصابة ضمن النوع الواحد والتي تلعب دوراً مهماً وتساهم مساهمة كبيرة في اظهار النتيجة ضمن منطقة اخذ العينات ، كما ان الفئة العمرية الصغيرة تكون عالية الاستعداد للإصابة والتي ربما احتمالية هلاكها بعد الاصابة (2009, Jarunee, *et al*) (2007, Pantin-Jack wood, *et al*) ، كما باختلاف الفردية خلال النوع الواحد تختلف باستعدادها للإصابة بالمرض، في حين تبدي بعض الطيور مقاومة وبعضها تظهر اكثر صحة ولكن اعطت نتيجة موجبة عند الفحص كما لا يمكن اغفال وقت اخذ العينات (2007, Boon, *et al*) وعلى الرغم من ظهور النسب القليلة من الاصابة الموجبة والموجبة الضعيفة يمكن الاستنتاج بأن طيور الحمام الزاجل أمكانية ان تعد واسطة لأنتقال وانتشار المرض وبالتالي تلوث المصادر الحيوية مثل المياه خلال تنقلها ولأن الفايروس يبقى في عيوشية عند تواجده في الماء وبالتالي التلوث البيئي كون المياه تعد مكون مهم من مكونات البيئة وبهذا تلوث البيئة بالإضافة الى طرحها للفايروس وأنتقال العدوى سواء للإنسان او الطيور الداجنة الاخرى

ISSN 2072-3875

(2007, Brown, *et al*) توصي الدراسة الى اجراء المزيد من الاختبارات والتحاليل الاكثر دقة لعزل الفايروس والتعرف عليه بواسطة الاختبارات التلازنية الدموية. Hemagglutination Assay (HA) طبقا لطريقة منظمة الصحة العالمية (2008,WHO)، اجراء سلسلة التفاعلات لأنزيم البلمرة النسخ العكسي المتعاقب Multiplex reverse (RT-PCR) Transcription – polymerase Chain Reaction وكذلك تحديد الانماط المصلية للفايروس مستخدمين بذلك سلسلة النيوكلوتيدات المتوفرة (nucleotide sequence) في قاعدة معلومات البنك الجيني الدولي (2001, Lee, *et al*).

المصادر:

المفوضية الأوربية،(2007). ارشادات تنفيذ أنفلونزا الطيور في الطيور البرية والداجنة (دي جيه سانكو).

سيترم – رامريز اليس، كيه أم ،بوسفيلد ،تي (2004) ظهور فيروسات H_5N_1 الممرضة في هونغ كونغ عام 2002 في البط . جورنال اف . فيرولوجي 78 : 4892 -2901 P

هيوليس بوست ، ستيرم – راميريز اليس كيه أم ، هامبرد جيه ،سيلير بي (2005). دور البط المحلي الداجن في التحول الحيوي لفيروسات أنفلونزا الطيور المعدية (H_5N_1) في اسيا .محاضر الاكاديمية المحلية للعلوم في الولايات المتحدة الامريكية 102 : 10687-10682

منظمة الغذاء والزراعة الأمم المتحدة (FAO) (2011). الطيور البرية وأنفلونزا الطيور. دليل منظمة الأغذية والزراعة عن الانتاج الحيواني وصحة الحيوان.

منظمة الاغذية والزراعة والمنظمة العالمية لصحة الحيوان FAO /OIE (2007) الاستعداد لمكافحة أنفلونزا الطيور عالية الضراوة. كتيب للبلدان المهددة ، 46-1 P.

منظمة الاغذية العالمية ، (2007). مراقبة الطائر البري HPAI الكتيب الارشادي الخاص بالإنتاج والصحة الحيوانية (4). روما.

Alexander, DJ. And Manvell, RJ .(2003). Country reports on avian influenza for 2002 based on response to the questionnaire In Joint 9th annual meeting of the national laboratories for Newcastle disease and avian influenza of EU member states. (Belgium)11-12 December 2 2003 . European commission pp 113-129 .

Boon ,A., R.Sandbulte, , P.Seiler, , T.Webby, , T.Songsern, , Y.Guan, and R.Webster, (2007).Role of terrestrial wild birds in ecologe of influenza a virus(H_5N_1). Emerging Infectious Diseases 13:1720-1724 .

Brown ,J., D.Swayne , R.Cooper, , R.Burns , and D.Stallknecnt, (2007) Persistence of H5 and H7 avian influenza virus in water. Avian Diseases 51:285-289.

Compensation programs for the sanitary emergence of HPAI-H_5N_1 in Latin American and the Caribbean (2008). (P. 24-84).

EVL. (2011). EUROPEAN VETERINARY LABORATORY. Influenza Virus Antigen One-Step(AS1001–AGOI) Woerden, Netherlands.www.evlonline.nl info@ evlonline.eu.

Fouchier, RA; B.Olsen, TM. Bestebror, , S.Herfst,; P.L.Vanderkem, GF. Rimmelzwaan, AD. Osterhaus, (2003). Influenza A Virus surveillance in wild bird in Northern Europe in 1999 and 2000 Avian Dis,47,857-860 .

Jarunee , S ., C.kridsada , P.Rassameepen, , S. Ladawa , P. Phirrom, ,K . Waraporin , T.Siriporn , S.Sarin , W.Witthawat , P.Rattapa, R.Lan , D.Stuart , and R. Parntep , (2009) . Comparison of outbreaks of H5N1 Highly Pathogenic Avian Influenza In Wild Birds And Poultry In

ISSN 2072-3875

Thailand . Journal of Wild life Diseases ,45 (3),pp. 740 -747.

Lee, M., P. Chang, , J.Shien, M.Cheng, and H .Shieh, (2001). Identification and subtyping of avian influenza viruses by rese vertranscription – PCR .Journal of virology Methods 97:13-22 .

Lillehaug ,A., C.Monceyron , B.Jonassen , B.Bergsjo, and M.Hofshagon,(2005). Screening of feral pigeon (coloumba livia),mallard (*Anas platyrhynchos*) and Graylag Goose(*Anser anser*) population For Avian Influenza Virus and Avian paramyxovirus .Acta .Vet. Scand. Vol. ,46,193-202.

Pantin – Jack wood, D., D.Suarez , E.Spackman , and D. Swayne, (2007).Age at infection affects the pathogenicity of Asian highly pathogenic avian influenza H5N1 viruses in ducks Virus Research 130:151-161 .

Perkins, Le and Swayne ,DE,(2002). Pathogenicity of a Hong Kong-origin H_5n_1 highly pathogenic avian influenza virus for emus ,geese ,ducks, and pigeons .Avian .Dis ,46,53-63.

SPSS.(2013).statistical package for the social sciences, version 21(win/Mac/Linux),Users guide SPSS, Chicago (3),USA.

Ujvari,D. E.Wehmann, , EF.kaletu, O.Werner, and V. Savic, (2003) phylogenetic analysis reveals extensive evolution of avian Influenza in pigeons(Colomba livia) and suggest multiple species transmission .Virus. Res (96):63-73.

World Health Organization (WHO) (2008). Manual on animal influenza diagnosis and surveillance .Version adopted May 2002 .

World Organization for Animal Health (OIE).(2013). Avian Influenza. General Disease Influenza. General Disease Information sheets.

World Organization for Animal Health (OIE).(2012). Avian Influenza. Chapter 2,3,4 (OIE) Terrestrial Manual.

ISSN 2072-3875

ISSN 2072-3875