١٤٢٥٨٧

دانشگاه شهید بهشتی

دانشکده علوم زیستی

گروه آموزشی میکروبیولوژی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته میکروبیولوژی

عنوان

ردیابی سرمی و مولکولی حضور هماگلوتینین ویروس آنفلوانزای انسانی در طیور تهران و اطراف تهران

اساتید راهنما

دکتر سید مسعود حسینی- دکتر معصومه توسطی خیری

استاد مشاور

دکتر نریمان شیخی

۱۳۸۹/۷/۲۴

دانشجو

بهناز حیدرچی

بهمن ۱۳۸۸

۱۴۲۵۸۷

تاریخ .....
شماره .....
پیوست.....

دانشگاه شهید بهشتی

بسمه تعالی

« صورتجلسه دفاع پایان نامه دانشجویان دوره کارشناسی ارشد»

تهران ۱۹۸۳۹۶۳۱۱۳ اوین
تلفن: ۲۹۹۰۱

بازگشت به مجوز دفاع ۲۰۰/۱۱۰۰۱/د مورخ ۸۸/۱۰/۲۷ جلسه هیـأت داوران ارزیـابی پایان نامه خانم بهناز حیدرچی به شماره شناسنامه۴۰۵۹ صـادره ازتهـران متولـد۱۳۶۴ دانشجوی دوره کارشناسی ارشد ناپیوسته رشته زیست شناسی– میکروبیولوژی

با عنوان :

ردیابی سرمی و مولکولی حضور هماگلوتینین ویروس آنفولانزای انسانی در طیور تهران و اطراف تهران

به راهنمائی:

۱- آقای دکترسید مسعود حسینی
۲-خانم دکتر معصومه توسطی خیری

طبق دعوت قبلی در تاریخ ۱۳۸۸/۱۱/۷ تشکیل گردید و براساس رأی هیأت داوری و با عنایت به ماده ۲۰ آئین نامه کارشناسی ارشد مورخ ۷۵/۱۰/۲۵ پایان نامه مزبور با نمره ۲۰ و درجه عالی مورد تصویب قرار گرفت.

۱- استاد راهنما: آقای دکتر سید مسعود حسینی

۲- استاد راهنما: خانم دکتر معصومه توسطی خیری

۳- استاد مشاور : آقای دکتر نریمان شیخی

۴- استاد داور : آقای دکتر کوروش فضایی

۴- استاد داورونماینده تحصیلات تکمیلی : خانم دکتر شیرین فریور

تقدیم به پدر و مادر عزیزم

به پاس تعبیر عظیم و انسانی شان از کلمه ایثار و به پاس عاطفه سرشار و گرمای امید بخش وجودشان که در

این روزگاران بهترین پشتیبان است.

و تقدیم به خواهر و برادرانم مهربانم

که آرزوی بهترین ها را برایشان دارم.

سپاس بی کران خداوند یکتا را که هستی مان بخشید و به طریق علم و معرفت رهنمونمان شد.

اکنون بر خود لازم می دانم سپاسگزار تمام عزیزانی باشم که در به ثمر رسیدن ارزشمند ترین تجربه زندگی ام یاریم نمودند.

مراتب تشکر و قدردانی صمیمانه خود را از اساتید راهنما، جناب آقای دکتر سید مسعود حسینی و سرکار خانم دکترمعصومه توسطی خیری به پاس زحمات بی دریغ و رهنمود های ارزشمندشان ابراز می دارم.

با سپاس فراوان از جناب آقای دکتر نریمان شیخی، استاد مشاور پایان نامه که از راهنمایی و مساعدت ایشان همواره بهره مند بودم.

از استاد محترم جناب آقای دکتر کوروش فضایی، مدیر کل دفتر بهداشت و مبارزه با بیماری های دام و طیور سازمان دامپزشکی که داوری پایان نامه را پذیرفتند، کمال تشکر و امتنان را دارم.

همچنین از آقای فراهانی، خانم دکتر فتوحی، آقای دکتر بشر، آقای مبارکه، آقای مهندس الهامی، آقای دکتر حجتی، آقای دکتر مسعودی و سایر همکاران خوب و صمیمی واحد آنفلوانزای انستیتو پاستور ایران، آزمایشگاه دامپزشکی پاستور، سازمان کل دامپزشکی و همکلاسی های مهربانم در دانشگاه شهید بهشتی که مرا در انجام این تحقیق یاری نمودند، بسیار سپاسگزارم.

و در انتها لازم می دانم از دوست عزیزم خانم سیده فهیمه موسوی که در تمام مراحل این تحقیق لطف و یاری خود را از من دریغ ننمودند، تشکر ویژه بنمایم.

عنوان **صفحه**

فهرست مطالب I

فهرست جداول V

فهرست تصاویر VI

فهرست نمودارها VII

اختصارات VIII

چکیده فارسی X

فصل اول مروری بر مطالعات گذشته ۱

۱-۱- طبقه بندی ویروس آنفلوانزا ۲

۱-۲- اجزای ویروس آنفلوانزای A ۳

۱-۳- مورفولوژی ویروس آنفلوانزای A ۴

۱-۴- نامگذاری ویروس ۴

۱-۵- تغییرات ژنومی ویروس آنفلوانزا ۵

۱-۶- رسپتورهای ویروس آنفلوانزا ۵

۱-۷- آنفلوانزا در ماکیان و پرندگان اهلی ۶

۱-۸- اکولوژی ویروس آنفلوانزا در پرندگان وحشی ۷

۱-۹- تنوع و پراکندگی ساب تایپ های آنفلوانزا در پرندگان وحشی ۸

۱-۱۰- آنفلوانزای پرندگان در فصول مختلف ۱۰

۱-۱۱- انتقال ویروس آنفلوانزا از پرنده به پرنده ۱۱

۱-۱۲- انتقال ویروس آنفلوانزا از پرنده به انسان ۱۲

۱-۱۳- پایداری و حساسیت ویروس در شرایط مختلف فیزیکی و شیمیایی ۱۶

۱-۱۴- مکان های مستعد در انتقال آنفلوانزای پرندگان ۱۷
۱-۱۵- عوامل موثر در ایجاد سد بین گونه ای ۱۸
۱-۱۶- واکسن آنفلوانزای انسانی ۲۳
۱-۱۷- انتخاب سالیانه سویه های واکسن آنفلوانزا انسانی ۲۵
۱-۱۸- کارایی واکسن ۲۵
۱-۱۹- جمع آوری نمونه ۲۶
۱-۱۹-۱- رعایت نکات ایمنی در کار با نمونه های مشکوک به آنفلوانزا ۲۶
۱-۱۹-۲- انواع نمونه ۲۷
۱-۱۹-۳- انتقال و نگهداری نمونه ۲۸
۱-۲۰- روش های تشخیص ویروس آنفلوانزا ۲۸
۱-۲۰-۱- جداسازی ویروس آنفلوانزا ۲۸
۱-۲۰-۲- تشخیص سرولوژی ۳۰
۱-۲۰-۲-۱- ایمونودیفیوژن در ژل ۳۰
۱-۲۰-۲-۲- ELISA ۳۰
۱-۲۰-۲-۳- آزمون هماگلوتیناسیون و مهار هماگلوتیناسیون ۳۱
۱-۲۰-۲-۴- آزمون نورامینیداز و مهار نورامینیداز ۳۲
۱-۲۰-۲-۵- میکرونوترالیزاسیون ۳۳
۱-۲۰-۳- تشخیص مولکولی ۳۳
۱-۲۰-۳-۱- Conventional RT-PCR ۳۳
۱-۲۰-۳-۲- Real time RT-PCR ۳۶
۱-۲۰-۳-۳- NASBA ۳۷
۱-۲۰-۳-۴- Microarrays ۳۷

۱-۲۰-۴- کیت های تشخیصی سریع ۳۸

اهداف تحقیق ۳۹

فصل دوم مواد و روش ها..... ۴۰

۲-۱- جمع آوری نمونه..... ۴۱

۲-۱-۱- مناطق هدف..... ۴۱

۲-۱-۲- نمونه های این مطالعه..... ۴۵

۲-۱-۳- روش نمونه گیری..... ۴۵

۲-۱-۴- آماده سازی و ذخیره نمونه ها..... ۴۶

۲-۱-۴-۱- نمونه های کلوآک و مدفوعی..... ۴۶

۲-۱-۴-۲- نمونه های سرمی..... ۴۶

۲-۲- تهیه محلول ها و بافر ها..... ۵۰

۲-۳- تکثیر ویروس بر روی کشت سلولی..... ۵۳

۲ -۳-۱- آماده سازی سلول های MDCK جهت تلقیح ویروس..... ۵۳

۲-۳-۱- تلقیح ویروس به سلو های MDCK..... ۵۴

۲-۴- تست هماگلوتیناسیون..... ۵۵

۲-۵- تست مهار هماگلوتیناسیون..... ۵۷

۲-۵-۱- بهینه سازی آزمون HI..... ۵۷

۲-۵-۲- تست HI برای سرم مرغ..... ۵۸

۲-۵-۳- تست HI برای سرم های گونه های دیگر پرندگان..... ۵۹

۲-۵-۴- صحه گذاری..... ۶۰

۲-۶- تشخیص مولکولی..... ۶۰

۲-۶-۱- استخراج RNA ۶۰
۲-۶-۲- بررسی درجه خلوص وغلظت RNA به منظور استفاده در واکنش نسخه برداری معکوس ۶۲
۲-۶-۳- واکنش نسخه برداری معکوس ۶۲
۲-۶-۴- PCR در این مطالعه ۶۴
۲-۶-۵- بررسی محصولات PCR و الکتروفورز ۶۵
۲-۶-۶- بررسی حساسیت واکنش RT-PCR ۶۶

فصل سوم نتایج ۶۷

۳-۱- نتایج حاصل از بهینه سازی آزمون HI ۶۸
۳-۲- نتایج آزمون HI ۶۹
۳-۲-۱- نتایج آزمون HI برای ساب تایپ H1 ..... ۶۹
۳-۲-۲- نتایج آزمون HI برای ساب تایپ H3 ..... ۷۳
۳-۳- بهینه سازی واکنش RT-PCR ۷۷
۳-۴- نتایج حاصل از RT-PCR نمونه های پرندگان ۷۷
۳-۵- حساسیت واکنش RT-PCR ۷۸

فصل چهارم بحث و نتیجه گیری نهایی ۸۸

فصل پنجم منابع و مأخذ ۹۷

چکیده انگلیسی ۱۰۸

فهرست جداول

جدول ۱-۱. لیست پرندگان وحشی که از آنها ویروس آنفلوانزای H5N1 جداسازی شده است..... ۹

جدول ۱-۲: تعداد موارد گزارش شده به WHO از ابتلا انسان به ویروس آنفلوانزای پرندگان H5N1..... ۱۴

جدول ۲-۱. مشخصات نمونه های اخذ شده در این مطالعه..... ۴۷

جدول ۲-۲. مراحل انجام تست HA ۵۷

جدول۲-۳. مواد استفاده شده در مرحله اول RT-PCR..... ۶۳

جدول۲-۴. مواد استفاده شده در مرحله دوم RT-PCR..... ۶۳

جدول ۲-۵. مشخصات مواد مورد استفاده در PCR..... ۶۴

جدول۲-۶. برنامه چرخه های دمایی PCR..... ۶۵

جدول ۳-۱. تعداد مرغ هایی که در تزریق واکسن علیه ساب تایپ های H1 و H3 تیتر مثبت نشان دادند..... ۶۹

جدول ۳-۲. چگونگی تیتر آنتی بادی علیه آنفلوانزا H1 در پرندگان مختلف با استفاده از آزمون HI..... ۷۰

جدول ۳-۳. چگونگی تیتر آنتی بادی علیه آنفلوانزا H3 در پرندگان مختلف با استفاده از آزمون HI..... ۷۴

جدول ۳-۴. چگونگی مثبت بودن سرولوژیکی برای آنتی بادی های H1 و یا H3 بر اساس مکان نمونه گیری..... ۷۶

جدول ۳-۵: مشخصات پرندگان مطالعه شده، زمان و مکان نمونه گیری، نتایج حاصل از آزمون HI و RT-PCR..... ۷۹

فهرست تصاویر

تصویر ۱-۱. شیوع نسبی آنفلوانزا در پرندگان مختلف ۷

تصویر۱-۲. رابطه فصول با شیوع آنفلوانزا در برخی پرندگان ۱۰

تصویر ۱-۳. چگونگی انتقال ویروس آنفلوانزای پرندگان به انسان ۱۷

تصویر ۱-۴. فاکتورهای ویروسی و میزبانی موثر در ویرولانس ویروس آنفلوانزای A ۱۹

تصویر ۱-۵. نقش گلیکوپروتئین های سطحی هماگلوتینین و نورامینیداز در تعیین ویرولانس ویروس آنفلوانزا A ۲۲

تصویر ۱-۶. هماگلوتیناسیون ویروس آنفلوانزا ۳۱

تصویر ۲-۱. محدوده مکان های نمونه گیری در شهر تهران ۴۲

تصویر ۲-۲. پارک ساعی ۴۳

تصویر ۲-۳. پارک جنگلی پردیسان ۴۳

تصویر ۲-۴. باغ وحش تهران ۴۴

تصویر ۲-۵. پرندگان نمونه گیری شده در این مطلعه ۴۸

تصویر ۲-۶. نمونه ای از تست هماگلوتیناسیون ۵۶

تصویر ۲-۷. تست HI ۵۹

تصویر ۳-۱. نتایج حاصل از RT-PCR نمونه های کلوآک پرندگان با استفاده از پرایمر M ۷۷

تصویر ۳-۲. حساسیت پرایمر M در تکنیک RT-PCR با استفاده از رقت سازی RNA ویروس (H3N2) ۷۸

فهرست نمودارها

نمودار ۳-۱. چگونگی توزیع مثبت بودن سرولوژیکی علیه ساب تایپ H1 در هر راسته پرندگان..... ۷۱

نمودار ۳-۲. نقش گونه های مختلف در مثبت بودن سرولوژیکی راسته Anseriformes علیه ساب تایپ H1..... ۷۲

نمودار۳-۳. نقش گونه های مختلف در مثبت بودن سرولوژیکی راسته Galliformes علیه ساب تایپ H1..... ۷۲

نمودار ۳-۴. چگونگی توزیع مثبت بودن سرولوژیکی علیه ساب تایپ H3 در هر راسته پرندگان..... ۷۳

نمودار ۳-۵. نقش گونه های مختلف در مثبت بودن سرولوژیکی راسته Anseriformes علیه ساب تایپ H3..... ۷۵

نمودار ۳-۶. نقش گونه های مختلف در مثبت بودن سرولوژیکی راسته Galliformes علیه ساب تایپ H3..... ۷۶

Abbreviations

اختصارات

AGID: Agar Gel Immunodiffusion
AMV: Avian Myeloblastoma Virus
bDNA: branched chain DNA
BSA: Bovine Serum Albumin
CPE: Cytopathogenic Effect
DDW: Double Distilled Water
DEPC: Diethyl Pyrocarbonate
DMEM: Dulbecco's Modified Eagle's Medium
DNA: Deoxyribonucleic Acid
EIA: Enzyme Immunoassay
EID50: 50% Egg Infectious Dose per gram
ELISA: Enzyme Linked Immuno-sorbent Assay
FBS: Fetal Bovine Serum
GMT: Geometric Mean Titer
HA: Haemagglutinin
HAU: Haemagglutinant Unit
HEF: Haemagglutinin Esterase Fusion
HI: Haemagglutination Inhibition
HPAIV: Highly Pathogenic Avian Influenza Virus
Isavirus: Infectious Salmon Anemia virus
LAIV: Live Attenuated Influenza Vaccine
LCR: Ligase Chain Reaction
LPAIV: Low Pathogenic Avian Influenza Virus
MDCK: Madin-Darby Canine Kidney Cells
M-MuLV: Moleny-Murine Leukemia Virus
NA: Neuraminidase Antigen
NASBA: Nucleic Acid Sequence Based Amplification
NEP: Nuclear export protein
NeuAc: N-acetylneuraminic acid
NeuGc: N-glycolylneuraminic acid
NI: Neuraminidase Inhibition
NP: Nucleoprotein
NS: Nonstructural protein
OD: Optical Density
PBS: Phosphate Buffered saline
PCR: Polymerase Chain Reaction

RBC: Red Blood Cell
RBS: Receptor Binding Site
RDE: Receptor Destroying Enzyme
RNA: Ribonucleic Acid
RNase: Ribonuclease
rpm: rate per minute
RT-PCR: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
RT-PCR: Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction
TBE: Tris-borat
UV: Ultraviolet
VTM: Viral Transport Medium
WHO GISN: World Health Organization Global Influenza Surveillance Network

چکیده

ویروس آنفلوانزای A یک عامل عفونی محسوب می گردد که میزبان های مختلفی نظیر پرندگان، انسان و سایر پستانداران را آلوده می نماید. اگر چه پرندگانی مانند راسته *Anseriformes* و *Charadriiformes*، مخزن طبیعی انواع ساب تایپ های ویروس آنفلوانزا می باشند اما در جمعیت انسانی تنها دو ساب تایپ H1N1 و H3N2 شیوع دارد. ویروس آنفلوانزا گاهی قادر است سد بین میزبان ها را شکسته و از یک گونه به گونه های دیگر منتقل گردد.

اعتقاد بر این است که منشاء اولیه تمام ویروس های آنفلوانزای پستانداران مانند انسان از ژن های ویروس آنفلوانزای پرندگان می باشد. برای مثال منشاء برخی ژن های ویروس H2N2 (عامل پاندمی ۱۹۵۸-۱۹۵۷) و H3N2 (عامل پاندمی۱۹۶۹- ۱۹۶۸)، از ویروس آنفلوانزا پرندگان می باشد. در سال های اخیر نیز انتقال مستقیم ویروس های H5N1، H7N2 و H9N2 از پرندگان به انسان گزارش شده است. وجود ۲ نوع رسپتور آلفا ۲و۳ سیالیک اسید (رسپتور ویروس پرندگان) و آلفا ۲و۶ سیالیک اسید (رسپتور ویروس انسانی) در مجاری تنفسی انسان و همچنین برخی پرندگان نظیر مرغ، بلدرچین و بوقلمون و تشابه رسپتور هماگلوتینین برخی ویروس های پرندگان به رسپتور هماگلوتینین ویروس های انسانی از عوامل توجیه کننده انتقال مستقیم ویروس به انسان می باشد. از طرفی دیگر شرایط نگهداری پرندگان نیز حائز اهمیت است برای مثال تنوع پرندگان در برخی مکان ها از جمله پارک ها، باغ وحش ها و کلکسیون پرندگان، اکوسیستم جدیدی را به وجود آورده که در آن ممکن است ویروس جهش پیدا کرده و به میزبان های جدیدی از جمله انسان منتقل گردد.

هدف از این مطالعه، بررسی مولکولی و سرمی حضور ویروس های شایع انسانی (H1 و H3) در پرندگان مختلف شهر تهران می باشد. در این مطالعه طی آذر تا اسفند ۸۷، با مراجعه به پارک ساعی، پارک جنگلی پردیسان و باغ وحش تهران که جزو مکان های پر بازدیدکننده محسوب می گردند، از پرندگان نمونه های سرمی و کلوآک جمع آوری گردید. نتایج RT-PCR تمامی ۷۶ نمونه کلوآک منفی به دست آمد، در حالی که ٪۵۲/۱۱ نمونه های سرمی پرندگان دارای آنتی بادی علیه ساب تایپ H1 و ٪۸۸/۷۵ سرم ها نیز دارای آنتی بادی علیه ساب تایپ H3 بودند. راسته *Galliformes* بالاترین درصد مثبت بودن سرولوژیکی و GMT را بین پرندگان دارا بودند. ٪۸۴/۶۱ از پرندگان این راسته دارای آنتی بادی H1 و ٪۱۰۰ پرندگان نیز دارای آنتی بادی H3 گزارش شدند در حالیکه مقدار GMT در این راسته به ترتیب ۳۰/۳۳ و ۵۷/۳۶ برای ساب تایپ H1 و H3 بود. پرندگان راسته *Anseriformes* به خصوص اردک و غاز نیز نسبت به ساب تایپ های H1 (۹/۰۷) و H3 (۱۹/۹۴) تیتر آنتی بادی نشان دادند. در این راسته درصد مثبت بودن علیه ساب تایپ H3 (٪۸۶/۳۶) بیشتر از ساب تایپ H1 (٪۳۱/۸۱) بود. سرم یکی از نمونه های راسته *Phoenicopteriformes* دارای تیتر پایینی از آنتی بادی های H1 و H3 بود. تنها نمونه راسته

Pelicaniformes هیچگونه تیتر آنتی بادی نشان نداد در حالیکه ٪۵۷/۱۴ از نمونه های راسته *Columbiformes* تیتر پایینی از آنتی بادی H3 داشتند.

با توجه به اینکه تیتر آنتی بادی معمولا ۲ هفته پس از عفونت پرنده در سرم قابل شناسایی می باشد، بنابراین جواب منفی RT-PCR و هم چنین تیتر پایین آنتی بادی در پرنده های مثبت سرولوژیکی می تواند نوعی عفونت قدیمی و بدون علائم تیپیک آنفلوانزا در پرندگان محسوب گردد. با وجود اینکه انتقال ویروس آنفلوانزای انسانی به پرندگان معمولا قابل اغماض بوده و کمتر مورد توجه و بررسی قرار می گیرد، شاید یکی از دلائل اینکه درصد بالایی از پرندگان راسته *Galliformes* نسبت به ایندو ساب تایپ به خصوص H3 مثبت بودند، این باشد که این دو ویروس از انسان به پرندگان منتقل شده اند. علت چنین احتمالی به حضور دو نوع رسپتور در مجاری تنفسی یا گوارشی پرندگان نامبرده و هم چنین نمونه گیری در زمان اوج شیوع آنفلوانزا در جمعیت انسانی مربوط می گردد زیرا شیوع آنفلوانزای انسانی در شهر تهران از مهر ماه تا اردیبهشت سال بعد آن می باشد.

کلید واژگان: ویروس های H1 و H3 انسانی، آزمون HI، تست RT-PCR، پرندگان در قفس، تهران

فصل اول

مروری بر مطالعات گذشته

۱-۱- طبقه بندی ویروس آنفلوانزا

ویروس آنفلوانزا به خانواده ارتومیکسوویریده[۱] تعلق دارد. این خانواده که از ویژگی های اصلی آن دارا بودن ژنوم RNA تک رشته ای، قطعه قطعه با سنس منفی[۲] می باشد، به ۵ جنس تقسیم بندی می گردد: آنفلوانزای تایپ B,A و C، ایزاویروس[۳] و توگوتوویروس[۴]. اساس طبقه بندی ویروس آنفلوانزا به ۳ تایپ B, A و C تفاوت های آنتی ژنی مابین دو پروتئین ماتریکس و نوکلئوپروتئین در واکنش های سرولوژی می باشد.

- آنفلوانزای A: این ویروس مهم ترین عضو این خانواده محسوب می گردد زیراکه طیف وسیعی از میزبان ها از جمله انسان، پرندگان و انواع گونه های پستانداران شامل خوک، اسب، سگ و غیره را آلوده می کند. ویروس آنفلوانزای A خود بر اساس واکنش های سرولوژی ۲ پروتئین سطحی هماگلوتینین[۵] (HA) و نورامینیداز[۶] (NA) به ساب تایپ دسته بندی می گردد. تاکنون ۱۶ هماگلوتینین و ۹ نورامینیداز شناسایی شده است(Swayne, 2000).

- آنفلوانزای B دارای ژنوم RNA ۸ قطعه ای می باشد و قادر است که در جمعیت انسانی اپیدمی ایجاد کند ولی تا به حال منجر به پاندمی نشده است. تنها میزبان غیر انسانی شناخته شده برای این ویروس خوک دریایی[۷] می باشد(Osterhaus *et al.*, 2000). ویروس آنفلوانزای B به جای ساب تایپ به دودمان[۸] یا سویه[۹] دسته بندی می گردد. در این نوع ویروس آنفلوانزا دریفت آنتی ژنی[۱۰] مشاهده شده است اما سرعت آن ۳-۲ برابر کمتر از تغییراتی است که در آنفلوانزا A رخ می دهد(Nobusawa and Sato, 2006). تاکنون دودمان B/Victoria/2/87 در جمعیت انسانی غالب بوده است ولی اخیرا با ظهور مجدد دودمان B/Yamagata/16/88 در سال ۲۰۰۱ و چرخش همزمان آن با دودمانB/Victoria/2/87 احتمال رخداد شیفت آنتی ژنی[۱۱] بین این ویروس ها قوت گرفته است (Chi *et al.*, 2005).

---

[1] *Orthomyxoviridae*
[2] Negative sense
[3] Infectious Salmon Anemia (Isavirus)
[4] Togotovirus
[5] Haemagglutinin
[6] Neuraminidase
[7] Seal
[8] Lineage
[9] Strain
[10] Antigenic drift
[11] Antigenic shift

- آنفلوانزای C ژنوم RNA ۷ قطعه ای دارد و به جای HA و NA دارای یک گلیکوپروتئین سطحی هماگلوتینین استراز فیوژن[1] می باشد. این ویروس معمولا موجب بیماری خفیف در مجاری بالایی تنفسی می گردد و البته میتواند در نواحی تحتانی تنفسی نیز عفونت هایی مانند برونشیت و پنومونی ایجاد کند. شواهد اپیدمیولوژی ویروس آنفلوانزای C در مقایسه با ۲ ویروس دیگر کمتر می باشد زیرا با وجود آنکه بررسی های سرولوژیکی نشان داده است که این ویروس به طور وسیعی در جهان پخش شده است، اما شیوع و همه گیری بیماری ناشی از این ویروس به ندرت مشاهده شده و جداسازی ویروس نیز بسیار کم اتفاق افتاده است(Matsuzaki *et al.*, 2006) . اساس دسته بندی این ویروس به جای ساب تایپ، سویه می باشد. سویه ها از نظر ژنتیکی پایدار بوده و به مرور زمان تغییرات بسیار جزئی در آنها انباشته می گردد. مطالعات اخیر وقوع نوترتیبی[2] بین سویه های این ویروس را اثبات کرده است(Matsuzaki *et al.*, 2002). ویروس آنفلوانزا C علاوه بر انسان قادر است خوک را نیز آلوده کند و حتی در جمعیت این میزبان از یک حیوان آلوده به حیوان دیگر نیز منتقل گردد(Yuanji *et al.*, 1983) .

۱-۲- اجزای ویروس آنفلوانزای A

تمامی ویروس های آنفلوانزا A دارای ۸ قطعه ژن می باشند که حداقل ۱۰ پروتئین ویروسی مختلف را کد می کنند. پروتئین های ساختاری در یک ویریون بالغ شامل ۲ گروه اصلی پروتئین های سطحی و پروتئین های داخلی می باشند. از جمله پروتئین های سطحی، هماگلوتینین، نورامینیداز و پروتئین M2 که نقش یک کانال یونی غشایی را برای ویروس ایفا می کند. پروتئین های داخلی نیز مانند: نوکلئوپروتئین[3] (NP)، پروتئین ماتریکس[4] (M1) و کمپلکس پلی مرازی[5] که شامل PB2, PB1 و PA می گردد. علاوه بر این ها ۲ پروتئین غیر ساختاری[6] NS1 و NS2 نیز توسط ویروس آنفلوانزا کد می گردند. پروتئین اخیر تحت عنوان NEP[7] نیز نامیده می گردد. NS1 یک پروتئین غیر ساختاری حقیقی است که به هیچ عنوان در ساختار ویروس مشاهده نمی گردد اما به میزان بسیار زیادی در سلول میزبان تولید می شود. NS2 با اینکه ابتدا در سلول میزبان یافت می شود ولی وجود این پروتئین در ساختار ویریون نیز به اثبات رسیده است. PB1-F2 پروتئین دیگری است که ۸۷ آمینو اسید دارد و هرگز در ویروس های آنفلوانزای A مشاهده نشده است. این پروتئین نتیجه تغییر قالب رونویسی PB1 بوده و به نظر می رسد که در آپوپتوزیس[8] سلول های میزبان نقش دارد اگرچه نقش آن در بیماری زایی ویروس هنوز در دست مطالعه می باشد.

---

[1] Haemagglutinin Esterase Fusion (HEF)
[2] Reasssortment
[3] Nucleoprotein
[4] Matrix
[5] Polymerase complex
[6] Non-structural protein
[7] Nuclear export protein
[8] Apoptosis

۱-۳- مورفولوژی ویروس آنفلوانزای A

شکل ویروس آنفلوانزا متغیر بوده و میتواند یک پارتیکل کروی شکل با قطر ۱۲۰-۸۰ نانومتر و یا حتی یک پارتیکل رشته ای با طول چندین میکرون باشد. اشکال رشته ای بیشتر در نمونه های کلینیکی غالب هستند اما این ویروس ها (حداقل ویروس های انسانی) پس از پاساژ بر روی کشت سلولی[1] و یا تخم مرغ جنین دار[2] به همان فرم کروی در می آیند. مورفولوژی ویروس توسط پروتئین M1 با ۲ آمینو اسید مهم آن تنظیم می گردد. ویروس دارای پوششی لیپیدی است که از غشای سلول میزبان مشتق شده و ۳ پروتئین اینتگرال غشایی NA, HA و M2 در آن قرار دارند. HA به صورت زوائد تریمر بر روی پوشش لیپیدی ظاهر می شود و فراوان ترین پروتئین سطحی ویروس است. پروتئین NA تترامر نیز به فرم کروی از پوشش لیپیدی بیرون زده است. M2 یک پروتئینی کوچک با کارکرد کانال یونی است و در رهاسازی ویروس نقش مهمی دارد. هسته ویروس که شامل NP، RNA ویروسی و کمپلکس پلیمرازی می باشد توسط M1 که نقش یک پل اولیه را بازی می کند، به پوشش لیپیدی متصل می گردد.

۱-۴- نامگذاری ویروس

نامگذاری ویروس آنفلوانزا به گونه ای انجام می شود که در عین سادگی، از یک قانون کلی برای تمامی انواع این ویروس تبعیت کند و از طرفی دیگر دارای تمامی اطلاعات مفید و لازم باشد. ساختار نامگذاری شامل:

۱- تایپ آنتی ژنی (A, B or C)

۲- حیوان میزبانی که ویروس از آن جدا شده است (البته در مورد ویروس های جدا شده از انسان معمولا از آوردن نام میزبان خودداری می گردد)

۳- ناحیه جغرافیایی که ویروس از آن جدا شده است، مانند شهر، ایالت، استان و حتی کشور

۴- شماره شناسایی خاص ویروس جدا شده و یا شماره انحصاری یک آزمایشگاه

۵- سال جداسازی ویروس

۶- ساب تایپ های HA و NA که معمولا در پرانتز نمایش داده می شود (Swayne, 2008). برای مثال ویروسی که از بوقلمون در سال ۱۹۹۹ از میسوری امریکا جدا شده است را به صورت زیر نشان می دهند:

A/turkey/Missouri/24093/1999 (H1N2)

[1] Cell culture
[2] Embryonated chicken egg