پژوهش درپزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید بهشتی
دوره ۳۰، شماره ۲، تابستان ۱۳۸۵، صفحات ۱۴۵ تا ۱۵۴

مقاله اصلی
(Original Article)

شناسایی زیرگروه‌های مختلف ویروس هاری در ایران با استفاده از ویژگی‌های ملکولی (پلی‌مرفیسم ژن فسفوپروتئین)

دکتر سوسن سیمانی، دکتر احمد فیاض، دکتر فیروزه فرح تاج، دکتر علیرضا جنانی،
علیرضا غلامی، پیوند بیگلری، ناصر اسلامی، نادر حویزی *

* بخش تحقیقات و مرکز رفرانس هاری WHO، انستیتو پاستور ایران

چکیده

سابقه و هدف: *در کشور ایران بیماری هاری در کلیه استانها و شهرستانها گزارش گردیده است، لیکن تاکنون هیچگونه بررسی در مورد گروهها و زیرگروههای مختلف ویروس هاری، با استفاده از ژن فسفوپروتئین انجام نشده است. در این تحقیق ابتدا ۴۸ مورد و به دنبال آن ۸۵ مورد دیگر ویروس هاری جدا شده از مغز حیوانات مختلف ارسالی از استانهای کشور، جهت تعیین گروهها و زیرگروههای مختلف موجود در سطح کشور با روش ملکولی در ناحیه ژن فسفوپروتئین، مورد بررسی قرار گرفت.*

روش بررسی: *نمونه‌های مشکوک به هاری که از نقاط مختلف کشور به این مرکز ارسال شده بود، به روش ایمونوفلورسنت مورد آزمایش قرار گرفت و در صورت مثبت بودن، جهت تعیین گروه و زیرگروه مربوطه، آزمایش‌های ملکولی در ناحیه ژن فسفوپروتئین بر روی آن انجام شد.*

یافته‌ها: *نتایج حاصله با استفاده از آنالیز فیلوژنتیکی (Phylogenetic analysis)، سه گروه ویروس هاری (I، II و III) و زیر گروههای مربوطه را در نقاط مختلف کشور نشان داد. در استان خراسان، بالاترین میزان تنوع درگروهها و زیرگروههای ویروس هاری وجود دارد. (هر ۳ گروه ویروس هاری در این استان شناسایی شده است). احتمالا این استان مرکز انتشار آلودگی به استانهای مجاور و در نهایت در سطح کشور می‌باشد.*

نتیجه‌گیری: *نتایج این بررسی بر روی نمونه‌های استانها و شهرستانهای مختلف سراسر کشور که مکمل آزمایشات انجام شده در کشور کانادا می‌باشد، وجود ۳ گروه ویروس هاری را تائید می‌نماید. افزایش حرکت و انتشار این گروهها و زیرگروههای مربوطه به همه استانهای کشور نیز نشان داده شد.*

واژگان کلیدی: *ویروس هاری، ایران، ژن فسفوپروتئین.*

مقدمه

هاری بیماری ویروسی سیستم اعصاب مرکزی است. این بیماری قابل انتقال به انسان و سایر انواع پستانداران می‌باشد، و معمولا به دنبال گزش توسط حیوانات هار، به انسان یا حیوان منتقل می‌گردد. مرگ انسان یا حیوان مبتلا به هاری حتمی است. این بیماری از دوران بسیار قدیم در تمام دنیا بخصوص در منطقه خاورمیانه وجود داشته و تاکنون نیز به عنوان یکی از معضلات بهداشتی مهم در اکثر نقاط دنیا باقی مانده است. طبق گزارش سازمان جهانی بهداشت (WHO) سالانه تعداد ده میلیون نفر در دنیا به‌دنبال گزیدگی تحت درمان ضدهاری قرار می‌گیرند و حدود ۵۰/۰۰۰ نفر به دنبال گزیدگی توسط حیوان هار، به علت عدم آگاهی از عواقب بیماری، هیچگونه اقدامی جهت درمان ضد هاری ننموده و یا به علل تاخیر و نقص در انجام درمان ضد هاری، در اثر ابتلا به هاری از بین می‌روند (۱).

آدرس نویسنده مسئول: تهران، خیابان کارگر جنوبی، میدان پاستور، خیابان پاستور، خیابان دوازده فروردین، پلاک ۶۹، بخش تحقیقات و مرکز رفرانس هاری WHO، دکتر سوسن سیمانی
(email: simani@pasteur.ac.ir)

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸٤/٦/۱۲
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۸٤/۱۱/۱۰

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

علت تداوم و گستردگی این بیماری از زمانهای قدیم و در طی سالهای متوالی، ناتوانی بشر در ممانعت از حفظ و انتقال این ویروس توسط ناقلین و مخازن مختلف حیوانی است که منجر به عدم کنترل و ریشه‌کنی بیماری شده است و حتی در کشورهایی نظیر ایران که از سال ۱۳۰۲ شمسی بخش درمان ضدهاری در انستیتو پاستور ایران تاسیس گردیده، هنوز مواردی از هاری انسانی گزارش می‌گردد (۲).

در کشور ایران مخازن عمده بیماری، حیوانات گوشتخوار می‌باشند، چنانچه در نواحی جنگلی شمال کشور و کرانه دریای خزر، روباه و شغال و در نواحی کوهستانی غرب کشور گرگ‌ها در انتشار و انتقال بیماری نقش دارند (۳). انتقال بیماری هاری در کشور ایران عمدتا توسط سگ صورت می‌گیرد بطوری‌که طبق گزارشات مراکز مختلف درمان ضدهاری در سراسر کشور حدود ۹۰٪ موارد حیوان گزیدگی‌ها در کشور ایران توسط سگ‌های ولگرد صورت می‌گیرد. در سال ۲۰۰۴ میلادی از ۱۱۳۵۴۲ نفر حیوان گزیدگی، تعداد ۸۸۹۶۵ نفر(۸۷/۷٪) توسط سگ گزیده شده بودند (۴).

عامل بیماری هاری ویروسی است عصب دوست (Neurotrope) از رده مونونگاویرال (Mononegaviral) از خانواده رابدوویریده(Rhabdoviridae)، جنس لیساویروس‌ها (Lyssaviruses). این ویروس شبیه گلوله تفنگ (Bullet shaped) بوده و ژنوم آن از یک رشته RNA منفی (Negative single stranded RNA) غیرسگمانته و پنج ژن P، N، L، G و M ساخته شده است. دسته‌بندی گونه‌ها و زیرگونه‌های مختلف ویروس هاری با روشهای ملکولی، بر اساس مقایسه توالی نوکلئوتیدها صورت می‌گیرد و مطالعات انجام شده در زمینه تنوع ژنتیکی ویروس هاری، بر اساس نوع هدف مورد نظر، بر روی پنج ژن ویروس هاری صورت گرفته‌است (۶،۵).

ژن N معمولا جهت تشخیص هاری و بررسی تنوع جهانی ویروس هاری (سروتیپ یک) و نیز مطالعات فیلوژنتیکی جنس لیساویروس (که در آن سروتیپ یک ویروس کلاسیک هاری به عنوان یک ژنوتیپ طبقه‌بندی شده است) به کار می‌رود. در ژن G و ناحیه بین ژن L و G (پسودوژن) تنوع بیشتری وجود دارد. به همین جهت در مطالعات اپیدمیولوژی محلی و منطقه‌ای ویروس هاری، معمولا از این ناحیه ژنی استفاده می‌گردد. با بررسی‌هایی که بر روی ژن P (فسفوپروتئین) انجام شد، در ناحیه پروتئین P میزان بالایی از سکانس‌های متفاوت مشاهده گردید (فقط ۴۶٪ همسانی در اسیدهای آمینه مشاهده می‌گردد) (۷). همچنین با مطالعه‌ای که بر روی ویژگی‌های ژنتیکی این ژن انجام شد، (۱۲۸ ویروس ایزوله شده) وجود یک منطقه مرکزی بسیار متنوع که در بررسی‌های اپیدمیولوژی ملکولی، حساس و مفید می‌باشد، به اثبات رسیده‌است (۹،۸).

در کشور ایران بیماری هاری در کلیه استانها و شهرستانها گزارش گردیده است، لیکن تاکنون هیچ بررسی در مورد گروهها و زیرگروههای مختلف ویروس هاری، با استفاده از ژن فسفوپروتئین در سطح کشور انجام نشده است، در این تحقیق ابتدا ۴۸ مورد و به دنبال آن ۸۵ مورد دیگر ویروس هاری جدا شده از مغز حیوانات مختلف ارسالی از استانهای کشور، جهت تعیین گروهها و زیرگروههای متفاوت موجود در سطح کشور با روش ملکولی در ناحیه ژن فسفوپروتئین، مورد بررسی قرار گرفتند. همان طور که پیشتر اشاره شد، در منطقه ژن فسفوپروتئین در گونه‌های مختلف ویروس هاری، اختلافات ملکولی مشاهده گردید، و با بررسی ملکولی این ناحیه می‌توان گروهها و زیرگروههای مختلف ویروس هاری را در سطح کشور تعیین نمود و به دنبال آن، منشاء و مسیر انتشار آلودگی در کشور را مشخص کرد. تعیین منابع و مسیر انتشار آلودگی در سطح کشور، می‌تواند در امر پیشگیری و کنترل بیماری هاری نقش مفیدی داشته باشد. همچنین در این بررسی می‌توان ارتباط بین نوع میزبان و زیرگروههای مختلف ویروس هاری را مشخص نمود.

مواد و روشها

از میان نمونه مغزهایی که از حیوانات مختلف بوسیله کیت‌های مخصوص ارسال نمونه از نقاط مختلف کشور به بخش تحقیقات و مرکز رفرانس هاری انستیتو پاستور ایران ارسال گردیده‌است، تعداد ۸۵ نمونه به روش ایمونوفلورسنت مورد آزمایش قرار گرفته و مثبت تشخیص داده شدند، سپس با استفاده از روشهای PCR-RFLP تعیین گروه گردیدند.

پس از دریافت نمونه مشکوک به هاری، این نمونه‌ها به روش ایمونوفلورسنت (با استفاده از رنگ کونژوگه، آنتی‌بادی ضدهاری فلورسنت شده با ایزوتیوسیانات فلورسئین) مورد آزمایش قرار گرفته و در صورت مثبت بودن (مشاهده اجسام نگری)، نمونه به آزمایشگاه ملکولی بخش هاری منتقل و در آن قسمت جهت طبقه‌بندی در گروه و زیرگروه مربوطه، آزمایش‌های ملکولی بر روی آن انجام شد.

جهت استخراج RNA، از محلول استخراج RNX ^{Tm}-(plus) ساخت شرکت سیناژن استفاده گردید. به این منظور مقدار ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم بافت مغز مورد آزمایش را با ۱ میلی‌لیتر

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

محلول (plus)-RNX ^{Tm} مخلوط و هموژنیزه کرده و سپس ادامه مراحل لازم جهت استخراج RNA طبق دستورالعمل اجرا گردیده، در نهایت در آخرین دور سانتریفوژ رسوب سفید رنگی در ته لوله ایجاد می‌گردد که این رسوب با الکل ۷۰٪ شستشو داده و به مدت ۱۵ تا ۳۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری می‌شود تا خشک گردد. سپس رسوب حاصله در آب مقطر حاوی DEPC (دی‌اتیل پیروکربنات) حل می‌گردد (۱۰). جهت ساخت cDNA، از۲ میکرولیتر از RNA استخراج شده به روش فوق‌الذکر، پرایمر ۸۸۷ و مخلوط cDNA (dNTP, H_2O) استفاده می‌شود. محصول cDNA تهیه شده را به نسبت یک به ده رقیق، و با PCRMix حاوی پرایمرهای ۸۸۷ و ۸۸۸، dNTP، 10x Buffer، $Mgcl_2$ و آنزیم Taq مخلوط شده و در دستگاه ترموسایکلر با برنامه زیر قرار گرفت.

۱- 887:CTA CTT CTC AGG TGA AAC CAG AAG

۲-888:ATG ACG ATG ACT TGT GGC TTC C

برنامه ترموسایکلر: به صورت ۳ دقیقه دمای ۹۴ درجه سانتیگراد، ۱ دقیقه دمای ۴۷ درجه سانتیگراد و ۱ دقیقه دمای ۷۲ درجه سانتیگراد تنظیم شد. برنامه فوق به میزان ۳۰ سیکل به همراه یک مرحله انتهایی ۱۰ دقیقه‌ای در دمای ۷۲ درجه سانتیگراد تکرار گردید.

برای آزمایش Nested-PCR با استفاده از محصول PCR مرحله اول و پرایمرهای:

Rab-P-seq.for :GAG ATG GCT GAA GAG ACT GTT GA

Rab-P-seq.rev:GAT TGG CTG TCT CTC TGG GAA G

محصول Nested-PCR تهیه و در ژل آگارز ۲٪ الکتروفورز گردید.

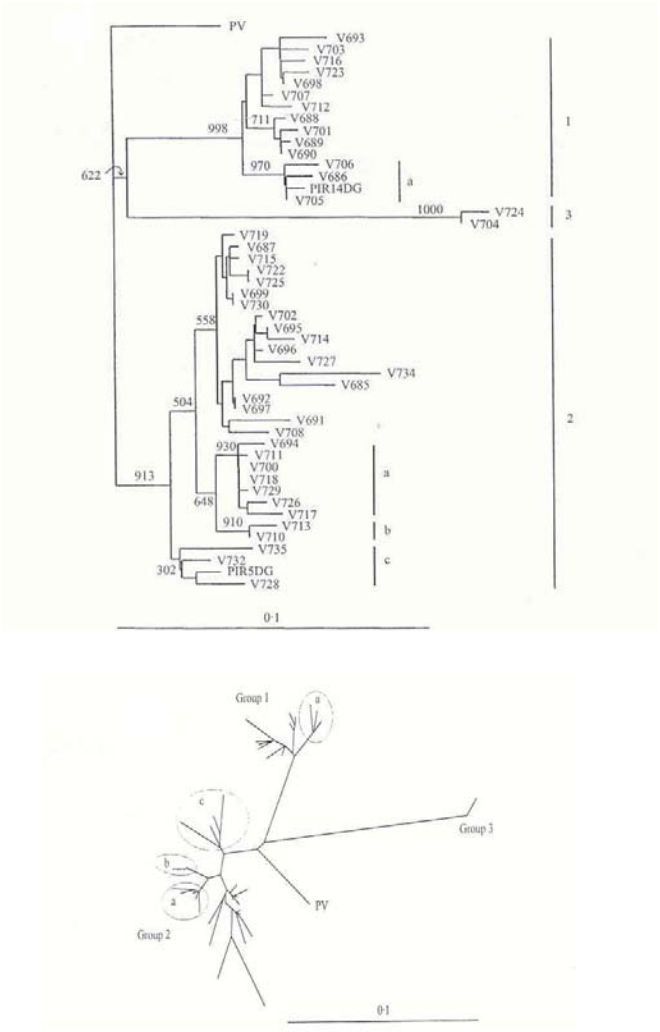
در نمونه‌های حاوی ژنوم ویروس هاری، یک باند ۴۴۹ جفت بازی مربوط به ژن فسفوپروتئین مشاهده گردید.

در این بررسی از روش RFLP (Restriction fragment length polymorphism) جهت تعیین سریع گروهها و زیرگروههای سویه‌های ویروسی جداشده، استفاده گردید. این روش قبلا در انستیتو تحقیقاتی ADRI در کانادا جهت تعیین الگوی زیرگونه‌های ویروسی جدا شده از روباه‌های قطبی در انتاریوی کانادا استفاده شده بود (۹). در نهایت محصول Nested-PCR تهیه شده، جهت تعیین زیرگروه، با استفاده از ۷ آنزیم محدودکننده مختلف به اسامی: BamHI، EcoO 1191، RsaI، StyI، MspI، AlwNIو SfeI مورد آزمایش قرار گرفت (۲).

یافته‌ها

در سال ۲۰۰۰ میلادی، تعداد ۴۸ نمونه مثبت هاری (جدول ۱) دریافت شده از نقاط مختلف کشور به جز منطقه خشک مرکزی (به علت شرایط جوی که باعث شده است، تعداد گوشتخواران محدود باشد)، جهت بررسی و تعیین احتمال وجود تنوع درگروهها و زیرگروههای ویروس هاری در کشور ایران به روشهای بیولوژی ملکولی، به انستیتو تحقیقاتی ADRI در کانادا ارسال گردید. این نمونه‌ها جهت تعیین گروه به روش ملکولی در ناحیه ژن فسفوپروتئین، مورد آزمایش قرار گرفتند. در تمامی نمونه‌ها، ژن ناحیه P پس از تکثیر، تعیین توالی گردید و نتایج حاصله با استفاده از آنالیز فیلوژنتیکی (Phylogenetic analysis)، سه گروه ویروس هاری را در نقاط مختلف کشور نشان داد (شکل ۱).

شکل ۱- آنالیز فیلوژنتیک ویروس هاری

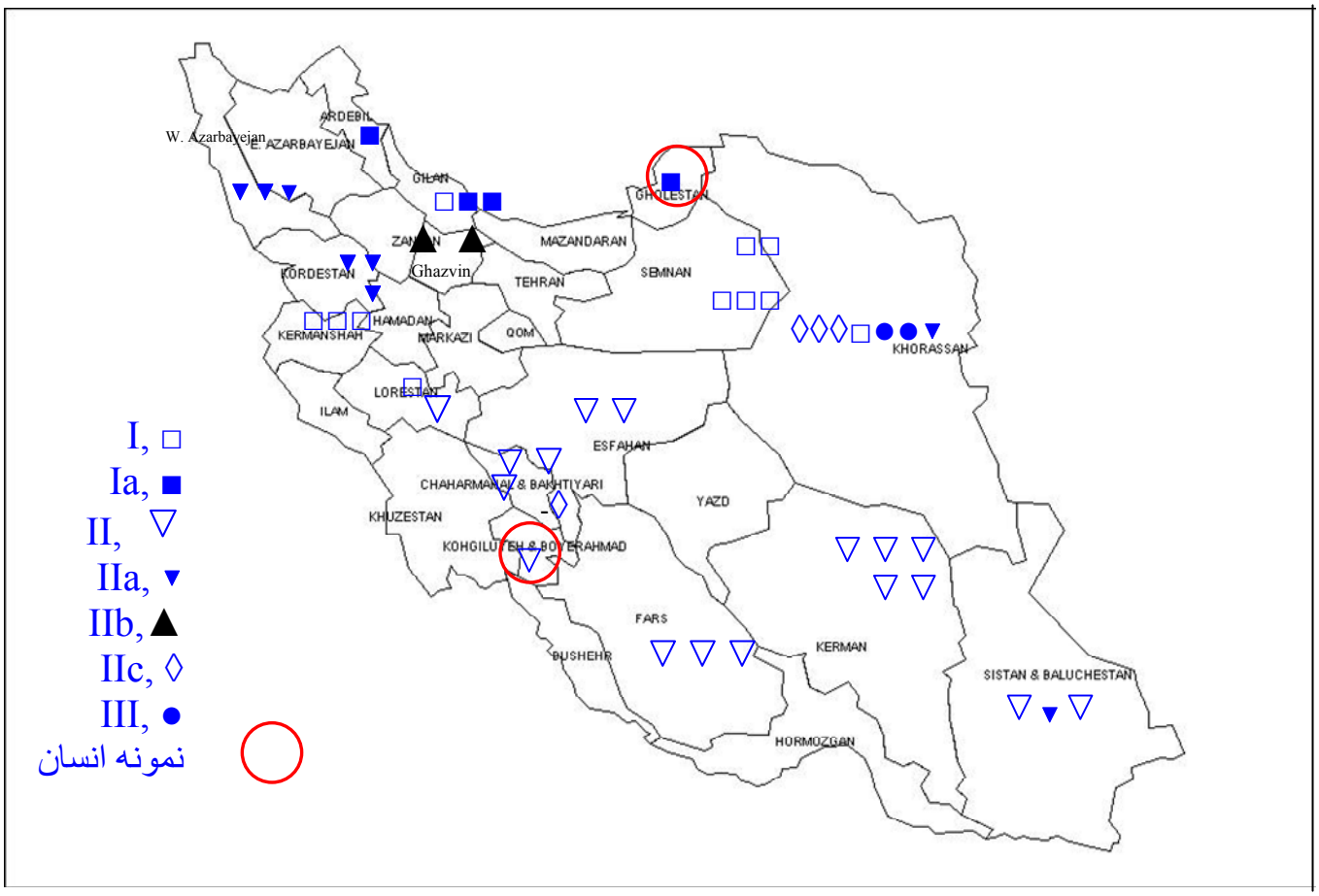


[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

جدول ۱- نمونه های مورد آزمایش ارسالی از ایران به مرکز تحقیقات ADRI اتاوای کانادا

نوع نمونه	تعداد	گروهها و زیرگروهها						
		I	Ia	II	IIa	IIb	IIc	III
بز	۲			+	+			
گاو و گوساله	۲۰	++++	+++	++++++++	+	++	++	
گرگ	۲	+			+			
الاغ و قاطر	۴	+		++			+	
شغال	۳	+		++				
روباه	۱			+				
سگ	۸			+	+++		+	+
شتر	۱			+				
گوسفند	۵			+	+			+
موش خرما	۱				+			
انسان	۲			+				

شکل ۲ – توزیع جغرافیایی گروهها و زیرگروههای ویروس هاری در ایران در ۴۸ نمونه



[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

جدول ۲- استفاده از آنزیم های مختلف جهت تعیین گروهها و زیرگروههای ویروس هاری (بر اساس پلی مرفیسم ژن فسفوپروتئین)

گروهها و	نتایج برش آنزیمی								نمونه		
زیرگروهها	*AlwNI*	*SfeI*	*MspI*	*StyI*	*RsaI*	*BamHI*	*EcoO*	تعداد	نوع نمونه	استان،شهرستان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۵	گاو(۳)، سگ(۱)، شغال(۱)	آذربایجان شرقی
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۲	گاو(۱)، سگ(۱)	آذربایجان غربی
IIb	+	+	-	-	-	-	+	۱	روباه	آذربایجان غربی
IIb	+	+	-	-	-	-	+	۱	بز	اردبیل
IIb	+	+	-	-	-	-	+	۱	گاو	اصفهان
I			+	+	+	+	-	۱	گاو	اصفهان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۳	گرگ(۱)، شغال(۲)	اصفهان
III			-	+	+	+	-	۱	گرگ	اصفهان
III			-	+	+	+	-	۴	روباه(۳)، انسان(۱)	تهران
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۱	گربه	تهران
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۸	گاو(۲)، سگ(۳)، گوسفند(۲)،بز(۱)	خراسان
III			-	+	+	+	-	۱	گاو	خراسان
I			+	+	+	+	-	۳	سگ(۱)، شغال(۱)، قوچ(۱)	خراسان
IIb	+	+	-	-	-	-	+	۱	بز	خراسان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۲	گاو	خوزستان
III			-	+	+	+	-	۱	گاو	خوزستان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۱	گرگ	زنجان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۱	گاو	سیستان و بلوچستان
IIb	+	+	-	-	-	-	+	۱	گاو	سیستان و بلوچستان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۶	گاو(۲)، شغال(۲)،گوسفند(۲)	فارس
III			-	+	+	+	-	۱	گرگ	فارس
III			-	+	+	+	-	۱	انسان	کردستان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۱۱	گاو	کرمان
I			+	+	+	+	-	۱	سگ	کرمان
IIb	+	+	-	-	-	-	+	۳	گاو	کرمان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۱	گوساله	کرمانشاه
I			+	+	+	+	-	۱	انسان	کرمانشاه
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۱	گاو	کهگیلویه وبویراحمد
I			+	+	+	+	-	۱	گاو	گیلان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۲	گاو(۱)، سگ(۱)	گیلان
IIb	+	+	-	-	-	-	+	۱	گاو	گیلان
III			-	+	+	+	-	۱	گاو	گیلان
I			+	+	+	+	-	۱	گاو	گلستان
I			+	+	+	+	-	۳	گاو(۲)،الاغ(۱)	لرستان
III			-	+	+	+	-	۲	گاو(۱)، سگ(۱)	مازندران
I			+	+	+	+	-	۲	سگ	مازندران
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۱	گرگ	مرکزی
III			-	+	+	+	-	۱	گرگ	هرمزگان
IIa	-	-	-	-	-	-	+	۱	سگ	همدان
I			+	+	+	+	-	۳	سگ(۲)، انسان(۱)	همدان
III			-	+	+	+	-	۱	گرگ	همدان

اعداد داخل پرانتز معرف تعداد میباشد.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

آنالیز فیلوژنتیکی اطلاعات حاصله، ارتباط تکاملی بین گونه‌های ویروس هاری موجود در کشور، و ویروس‌های هاری را در کشورهای منطقه نشان می‌دهد (۸). در شکل ۲ توزیع جغرافیایی تمام واریانت‌های ویروسی مشخص شده در بررسی فوق که شامل ۳ گروه I ، II و III و زیرگروههای مربوطه می‌باشد، در نقشه ایران نشان داده شده است (۸).

گروه I: تعداد ۱۵ نمونه جداشده از نواحی شمال و غرب کشور که شامل ۱۱ نمونه گروه I و ۴ نمونه زیرگروه Ia از نواحی کرانه دریای خزر است.

گروه II: شامل ۳۱ نمونه جدا شده از نواحی مختلف کشور مشتمل بر موارد زیر است: II که شامل ۱۷ نمونه از نواحی جنوب، جنوب‌شرقی و جنوب‌غربی، با انتشار به طرف مرکز؛ زیرگروه IIa شامل ۸ نمونه (۶ نمونه از استانهای شمال‌غربی و دو نمونه از نواحی شمال‌شرقی و جنوب‌شرقی کشور ایران)؛ IIb شامل دو نمونه از منطقه جنوب دریای خزر (استان قزوین)؛ IIc شامل ۴ نمونه که در دو ناحیه مختلف پراکنده می‌باشند (شمال‌شرقی و جنوب‌غربی)

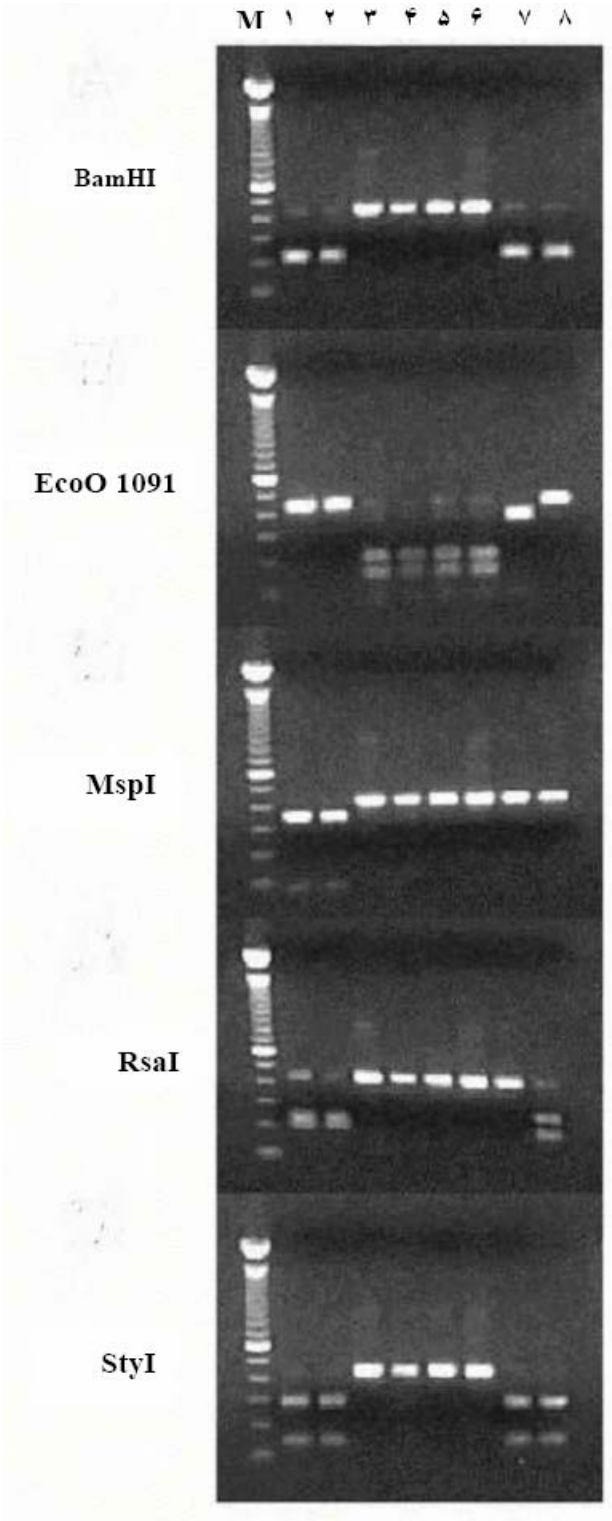
گروه III: شامل دو نمونه جداشده از ناحیه شمال‌شرقی کشور.

انواع میزبانهای جداشده در زیرگونه‌های I و II مشابه یکدیگرند و بیشترین موارد آلودگی در گاوها مشاهده شده است.

به دنبال بررسی فوق در فاصله سالهای ۸۲-۱۳۸۰ در مرکز رفرانس هاری انستیتو پاستور ایران تعداد ۸۵ نمونه مغز مشکوک به هاری دریافتی از سراسر کشور با استفاده از روش ایمونوفلورسنت آزمایش شد و با مشاهده اجسام نگری، مثبت اعلام گردیدند. نمونه‌های مثبت فوق جهت تایپینگ به روش ملکولی، با روش RFLP و با استفاده از آنزیم‌های تعیین شده در بررسی انجام شده در انستیتو تحقیقاتی ADRI کانادا، مورد آزمایش قرار گرفتند (جدول شماره ۲).

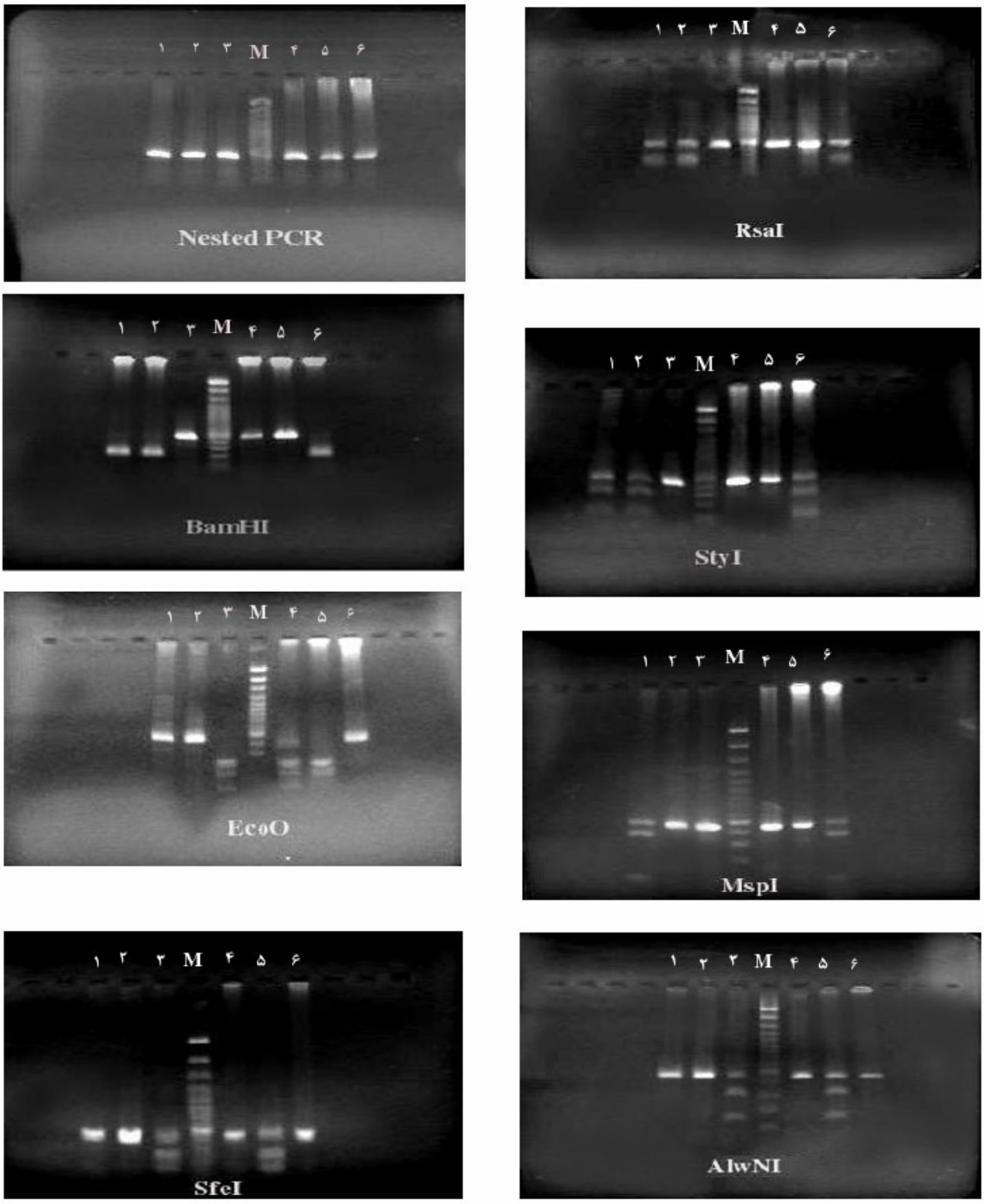
جهت این کار بر روی نمونه‌های مثبت فوق که متعلق به میزبان‌های متفاوت (انسان، سگ، گاو، گرگ، شغال، روباه، ....) بودند، با استفاده از تست RT-PCR محصول PCR تهیه شد. به دنبال آن جهت ادامه آزمایشات، روش RFLP (در قسمتی از سکانس ژن فسفوپروتئین) جهت هر نمونه جداشده، با شناسایی Restriction sites، جهت تعیین گروههای ویروس هاری، به کار گرفته شد. محصول Nested-PCR (۴۵۰ bp) با استفاده از پرایمرهای Rab-P seq for/Rev، به طور جداگانه با ۷ آنزیم BamHI، SfeI، AlwNI، EcoO 1091، RsaI، StyI و MspI هضم آنزیمی گردید و بعد در ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز گردید. شکل شماره۳ نشان‌دهنده باندهای حاصله با استفاده از ۵ آنزیم، در ژل آگارز در ۸ نمونه می‌باشد. شکل شماره ۴ نشان دهنده باندهای حاصله به دنبال الکتروفورز در ژل آگارز با استفاده از ۷ آنزیم در ۶ نمونه می‌باشد.

شکل ۳ - باندهای حاصله به دنبال الکتروفورز در ژل آگارز با استفاده از ۵ آنزیم



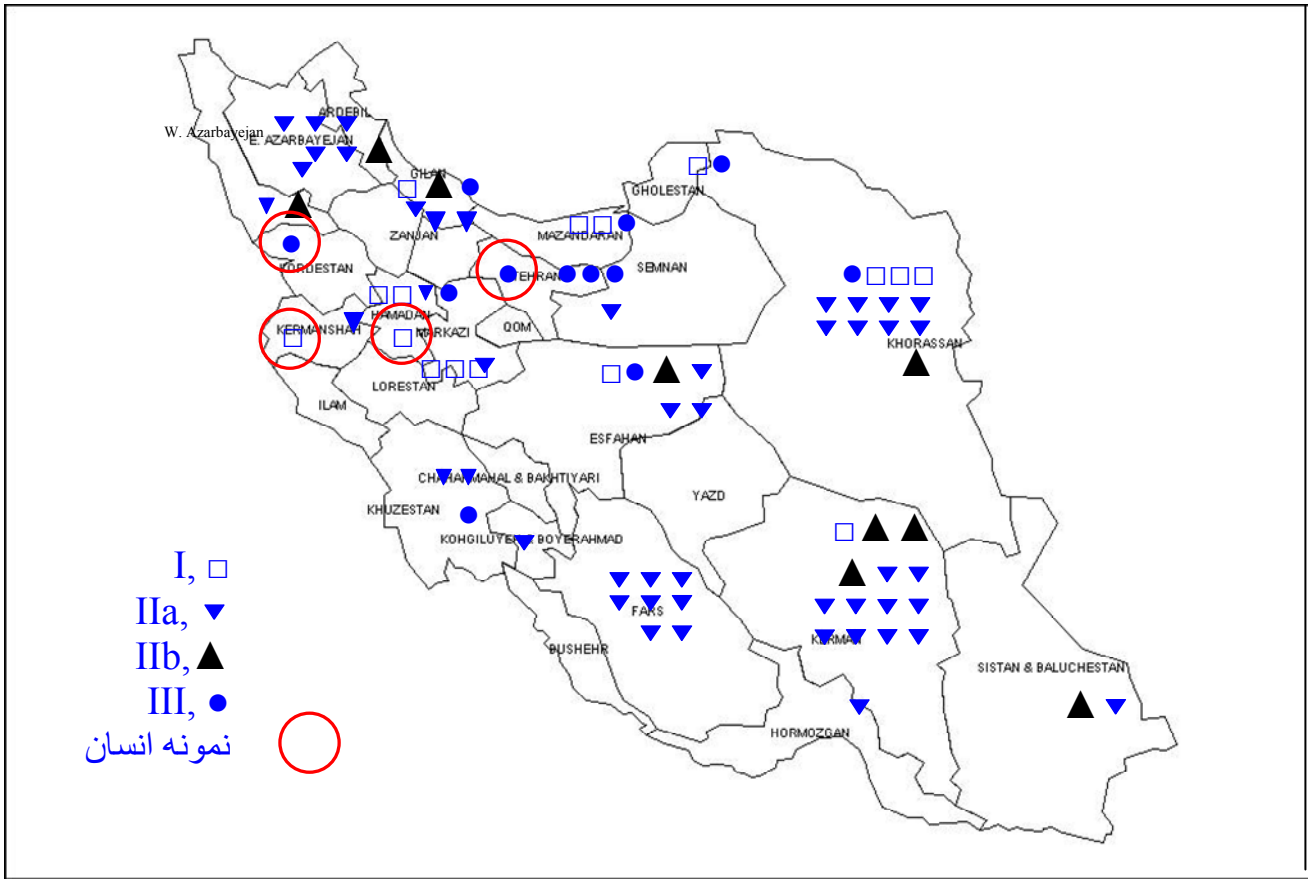
[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

شکل ۴ – باندهای حاصله به دنبال الکتروفورز در ژل آگارز با استفاده از ۷ آنزیم مشاهده می گردد. نمونه های شماره ۱ تا ۶ با توجه به برش آنزیم های ذکر شده در تصاویر، به ترتیب مربوط به گروهها و زیرگروههای I ، III ، IIb ، IIa ، IIb و I می باشند



[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

شکل ۵- توزیع جغرافیایی گروهها و زیرگروههای ویروس هاری در بررسی انجام شده در ۸۵ نمونه در استانهای مختلف کشور



نتایج حاصل از آزمایش ۸۵ نمونه مثبت هاری با استفاده از هفت آنزیم به روش RFLP به شرح زیر می‌باشد:

گروه I: ۱۶ مورد جداشده از نواحی شمال‌شرقی، شمال و غرب کشور که اخیرا به نواحی مرکز (استان اصفهان) و جنوب (استان کرمان) انتشار یافته است.

گروه II: ۵۷ مورد شامل: زیرگروه IIa، ۴۸ مورد، جداشده از کلیه استانها در سطح کشور (به جز استانهای شمالی، لرستان، ایلام، یزد، قم و سمنان)؛ زیر گروه IIb، ۹ مورد، که در نواحی شمال‌شرقی، جنوب‌شرقی، استانهای کرمان، اصفهان، آذربایجان شرقی و غربی مشاهده گردید.

گروه III: ۱۲ مورد، جدا شده از نواحی غرب، جنوب غربی، شمال، شمال‌شرقی، اصفهان و تهران (شکل ۵).

بحث

در این تحقیق، ۸۵ نمونه مثبت هاری دریافتی از نقاط مختلف کشور ایران، با استفاده از روشهای بیولوژی ملکولی تحت بررسی قرار گرفتند. ۳ گروه ویروس هاری و زیرگروههایی که در بررسی قبلی مشخص شده بود، شناسایی گردید.

در مطالعه‌ای در کانادا (۲)، تعداد ۴۸ نمونه مثبت هاری، از کشور ایران، به روش ملکولی مورد آزمایش قرار گرفتند. هر ۴۸ نمونه تعیین سکانس گردیده و ۳ گروه ویروس هاری (که ۲ گروه آن با ویروس‌های هاری موجود در دنیا نزدیکی دارد) به شرح زیر مشخص گردید:

گروه I ـ ویروس‌های این گروه در نواحی حاشیه غربی و شمالی و با گسترش اخیر به طرف شمال‌شرقی کشور مشخص گردیدند، این گروه شباهت زیادی به ۹ سویه جدا شده از روباه‌های اروپایی دارد و تشکیل یک دسته کاملا متفاوت از ویروس‌های گروه II را می‌دهند. در حقیقت با بررسی انجام شده مشخص گردید ویروس گروه I ایران از ویروس‌های گروه I اروپایی و خاورمیانه منشاء گرفته‌است (۸).

در بررسیهای انجام شده مشخص شد تنوع موجود در سوش‌های گروه I ایران همانند تنوع موجود در سوش‌های جدا شده از کشورهای اروپایی، آسیای میانه و گوشتخواران آفریقایی می‌باشد. در نتیجه سوش‌های گروه I و II جدا شده از ایران احتمالا از منابع بین‌المللی منشاء گرفته است. تشابه فوق در سوش‌های جدا شده از کشور اسرائیل نیز دیده شده است

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

که در آنجا نیز مطالعات اپیدمیولوژی ملکولی سوش‌های مذکور بیانگر تشابه فیلوژنتیکی با سویه‌های اروپایی و آسیای میانه بوده است (۸).

در تائید مطلب فوق در یک بررسی دیگر، نمونه‌های جدا شده از اسرائیل، جنوب لبنان، عمان (منطقه شرقی)، عربستان سعودی و ایران، ارتباط نزدیکی با یکدیگر دارند و انواع ویروس‌های هاری جدا شده در اسرائیل بجز واریانت V، با روباه قرمز عمانی، روباه قرمز عربستان سعودی، سگ و گرگ ایرانی ۹۸٪ همسانی داشته است (۱۱).

گروه II: در سراسر کشور انتشار دارد. در بررسی اول تنها گروهی بود که در نواحی مرکزی و جنوبی انتشار داشت. این گروه ویروسی به وضوح منشاء مشترکی با ویروس هاری گوشتخواران وحشی اروپا و خاورمیانه دارد. همچنین منشاء انتشار آن به ایران را می‌توان از کشورهای عربی هم‌جوار دانست. در واقع با توجه به این که واریانت‌های این گروه در تمام دنیا پخش شده‌اند، به نظر می‌رسد این زیرگروه در طی سالها و از مکانهای مختلف به ایران منتقل شده و منشاء مشترکی با ویروس‌های به دست آمده از اروپا و خاورمیانه دارد (۸) (شکل شماره ۵). اما این نکته قابل توجه است که این واریانت به شاخه‌های جداگانه‌ای تقسیم شده است. بنابراین این واریانت‌ها به دنبال حرکت شاخه اصلی آن ویروس به ایران بوجود آمده‌اند. می‌توان تخمین زد که در ابتدا از کشورهای مذکور به جنوب ایران انتشار یافته و رفته‌رفته از جنوب به مرکز و شمال نیز انتشار داشته است.

گروه III: شامل ۲ نمونه بود که در ناحیه شمال شرق کشور مشاهده گردید. گسترش و انتشار این گروه به نواحی شمال، شمال غربی و حتی مرکز کشور مشاهده می‌شود (شکل ۵).

به دنبال بررسی فوق، بررسی دیگری در فاصله سالهای ۸۲-۱۳۸۰، در مرکز رفرانس هاری انستیتو پاستور ایران به روش ملکولی در ناحیه ژن فسفوپروتئین صورت گرفت. در آزمایشات انجام شده نتایج زیر به دست آمد:

گروه I: در نواحی شمال، شمال‌غربی، شمال‌شرقی و غرب کشور مشاهده گردید لیکن حرکت این گروه از طریق استان خراسان به استان کرمان و همچنین حرکت آن از استان سمنان به اصفهان مشاهده گردیده است. میزان انتشار آلودگی در این گروه کمتر از گروه II و بیشتر از گروه III می‌باشد.

گروه II: تقریبا در تمامی استانهای ایران انتشار دارد.

گروه III: فقط دو نمونه مثبت هاری در گروه III وجود داشت و در حال حاضر تعداد نمونه‌های گروه III افزایش یافته و این تعداد بیشتر در استان تهران مشاهده گردیده است. بر اساس بررسیهای انجام شده این انتشار بیشتر از طریق نواحی شمال‌شرقی به شمال بوده است و احتمالا این گروه ویروسی از منطقه شمال به مرکز و سپس غرب کشور حرکت کرده است.

در نهایت نتایج این بررسی نشان می‌دهد آزمایشات انجام شده بر روی نمونه‌های استانها و شهرستانهای مختلف سراسر کشور که مکمل آزمایشات انجام شده در کشور کانادا می‌باشد، وجود ۳ گروه ویروس هاری را که در سال ۲۰۰۰ میلادی در کانادا شناسایی شده بود، تائید می‌نماید. ضمن این‌که افزایش حرکت و انتشار این گروهها و زیرگروههای مربوطه را به همه استانهای کشور نیز نشان می‌دهد. در استان خراسان بالاترین میزان تنوع در زیرگونه‌های ویروس هاری وجود دارد (هر ۳ گروه ویروس هاری در این استان شناسایی شده است). احتمالا این استان مرکز انتشار آلودگی به استانهای مجاور و در نهایت در سطح کشور است. منشاء انتشار آلودگی هاری در این استان را می‌توان حرکت و انتشار از کشورهای مرزی این استان دانست. با توجه به روند حرکت زیرگونه‌های مختلف ویروس هاری در سطح کشور، لزوم بکارگیری سیاستهایی جهت پیشگیری از انتشار بیماری از طریق حواشی مرزی به داخل کشور بخصوص استان خراسان و انتشار آن از این استان به استانهای مجاور توصیه می‌گردد.

با بررسی انجام شده در مورد میزبانهای مختلف مشخص گردید که ویروس جدا شده از موارد هاری انسانی در همه زیرگروههای I، II و III مشاهده شده است. در آزمایشات انجام شده اکثر موارد نمونه‌های مثبت هاری گاو و سگ می‌باشند لذا جهت انجام بررسی بیشتر در مورد انتشار گروهها و زیرگروههای مختلف ویروس هاری در میزبانهای متفاوت و همچنین جهت بررسی بیشتر در مورد مسیر انتشار ۳ گروه ویروس هاری و سایر زیرگروهها بهتر است مطالعات بیشتری بر روی نوع میزبان و مسیر حرکت گروههای فوق‌الذکر بعمل آید.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

REFERENCES

1. Fayaz A. Reports on activities for the year 2004: WHO Collaborating Centre for Reference and Research on Rabies: Pasteur Institute of Iran. Tehran, Iran, 2004

۲. . سیمانی س، مولف. بیماری هاری. چاپ اول، انستیتو پاستور ایران، تهران، ۱۳۸۳.

3. Simani S. Rabies situation in Iran. Journal of the Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University. 2003;58(3):275-8.

4. Simani S, Fayaz A. Trend of rabies in Iran 1995-1999. Proceedings of the 4th Zoonoses Congress, 2000, Tehran, Iran.[abstract]

5. Nadin-Davis SA. Phylogeographic patterns exhibited by Ontario rabies virus variants. Epidemiol Infect 1999;123:325-36.

6. Nadin-Davis SA, Huang W, Wandeler AI. Polymorphism of rabies viruses within the phosphoprotein and matrix protein genes. Arch Virol 1997;142:979-92.

7. Jacob Y, Badrane H, Ceccaldi PE, Tordo N. Cytoplasmic dynein LC8 interacts with Lyssavirus phosphoprotein. J Virol 2000;74(21):10217-22.

8. Nadin-Davis SA, Simani S, Armstrong J, Fayaz A, Wandeler A. Molecular and antigenic characterization of rabies viruses from Iran identifies variants with distinct epidemiological origins. Epidemiol Infect 2003;131:777-90.

9. Nadin-Davis SA, Casey GA, Wandeler A. Identification of regional variants of the rabies virus within the Canadian province of Ontario. J Gen Virol 1993;74:829-37.

10. Sacramento D, Badran H, Bourhy H, Tordo N. Molecular epidemiology of rabies virus in France in comparison with vaccine strains. J Gen Virol 1992;73:1149-58.

11. David D, Yakobson B, Smith JS, Strain Y. Molecular epidemiology of rabies virus isolates from Israel and other Middle and Near Eastern countries. J Clin Microbiol 2000;38(2):755-62.

[Downloaded from pejouhesh.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]