Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی/ دوره شانزدهم، شماره اول، ۱۳۹۹، پیاپی ۴۰: ۶۴-۵۳

مقاله پژوهشی

نقش ویروس برونشیت عفونی در کمپلکس‌های تنفسی گله‌های گوشتی در دو استان آذربایجان شرقی و گلستان

محسن قربیانی[۱]، زهرا برومند*[۲]، منصور میاحی[۳]، مسعودرضا صیفی آباد شاپوری[۴]

۱-دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت و بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- دانشیار بهداشت و بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد بهداشت و بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- استاد ویروس‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۰۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵

چکیده

برونشیت عفونی یک بیماری حاد و بسیار واگیردار است که با نشانه‌های تنفسی در جوجه‌های در حال رشد و کاهش تولید و کیفیت تخم در مرغ تخم‌گذار همراه است. هدف مطالعه بررسی نقش ویروس برونشیت عفونی در کمپلکس‌های تنفسی گله‌های گوشتی استان‌های آذربایجان شرقی و گلستان می‌باشد. بدین منظور از ۲۰ گله گوشتی مشکوک به برونشیت عفونی در مناطق مختلف استان‌های آذربایجان شرقی و گلستان جمع‌آوری و از بافت‌های نای، ریه و لوزه‌های سکومی نمونه‌گیری انجام شد. نمونه‌ها به تخم‌مرغ‌های جنین دار ۹ تا ۱۱ روزه تلقیح شد پس از جمع‌آوری مایع آلانتوئیک، آزمون RT-PCR جهت تشخیص برونشیت عفونی انجام گرفت. پس از RT-PCR نمونه‌های IBV مثبت بر اساس بخشی از توالی ژن S1 بیشتر موردبررسی قرار گرفتند. نتایج RT-PCR نشان داد به ترتیبات ۳۰ و ۴۰ درصد گله‌های استان گلستان و آذربایجان شرقی دارای کمپلکس‌های تنفسی ویروس IBV جدا گردید. نتایج مقایسه توالی نوکلوئیدی و اسیدآمینه، سه جدایه به‌دست‌آمده از استان گلستان بیش‌ترین شباهت توالی اسیدآمینه و نوکلئوتید را با ویروس‌های شبه QX عراق و ایران داشتند. از چهار جدایه استان آذربایجان شرقی در جدایه بیشترین شباهت را به سویه پاکستانی/B793 و یک جدایه ۹۶ تا ۹۸ درصد شباهت با جدایه‌های واریانت ۲، ایران داشت. سویه های بدست آمده با توجه به توالی‌های مختلف و مناطق جغرافیایی، پیچیدگی و تنوع را در این دو استان نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: برونشیت عفونی، گله گوشتی، آذربایجان شرقی، گلستان

* نویسنده مسئول: زهرا برومند

آدرس: اهواز دانشگاه شهید چمران، دانشکده دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی

پست الکترونیک: z.boroomand@scu.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

برونشیت عفونی یکی از رایج‌ترین بیماری‌ها در پرندگان به شمار می‌رود. ویروس برونشیت عفونی (IBV)ویروسی از گروه سوم متعلق به جنس کرونا ویروس از خانواده کروناویریده می‌باشد. ویروس برونشیت عفونی پرندگان با ژنوم سنس مثبت و RNA تک‌رشته‌ای (۲۷\۶kb) چهار پروتئین ساختاری را کد دهی می کند: گلیکوپروتین اسپایک، گلیکوپروتیین غشایی، پروتئین پوششی و پروتئین نوکلوکپسید فسفریلیزه می‌باشد. پروتئین اسپایک (S) ساختار اصلی پروتئین‌های IBV را تشکیل می‌دهند که مسئول القاء خنثی‌سازی و پادتن‌های خاص سروتیپ هستند. تنوع در S1 احتمالاً ناشی از جهش، دربرگیری ها، حذف شدن‌ها ویا ترکیب دوباره RNA از ژن‌های S1 می‌باشند (۱۷،۲۳). میزبان اصلی این ویروس ماکیان می‌باشند و با نشانه‌های کاهش مصرف آب‌ودان، سرفه، عطسه در گله‌های جوان و در گله‌های مادر با نشانه‌ی افت تولید تخم شناخته می‌شود. برخی سروتیپ های این بیماری سبب ایجاد شکل کلیوی بیماری می‌گردند که در ابتدا با نشانه‌های تنفسی آغاز می‌گردد. در شکل تولیدمثلی این بیماری کاهش کیفیت داخلی و خارجی، افزایش لمبه گذاری و همچنین افت تولید تخم‌مرغ دیده می‌شود. این بیماری غالباً در گله‌های واکسینه و غیر واکسینه رخ می‌دهد و در سال‌های اخیر در ایران باعث زیان‌های شدید اقتصادی گردیده است. اولین جداسازی ویروس برونشیت عفونی در گله‌های ایران در سال ۱۹۹۴ گزارش‌شده است (۸). بعدها، چندین محقق ایرانی، ژنوتیپ 793/B را شناسایی کردند (۲۹). ژنوتیپ‌های سویه‌های IBV جداشده در ایران در طی ۲۰۱۴-۲۰۱۵ به ۷ گروه فیلوژنتیک متمایز (Mass)) Massachusetts ، 793/B، IS-1494، IS-720، QX، IR-1 و IR-2) طبقه‌بندی شدند (۲۶). در حال حاضر، استراتژی‌های واکسیناسیون بر اساس بر اساس سروتیپ ماساچوست و ۴/۹۱ برای کنترل برونشیت عفونی در مزارع پرورش در ایران استفاده‌شده است (۱۷،۲۹). بااین‌وجود، به دلیل ایمنی متقاطع کم بین ویروس مزرعه و سویه واکسن و ظهور مستمر واریانت های جدید، گزارش‌های متداولی از موارد مشکوک به برونشیت عفونی در سراسر کشور به دلیل ناکافی بودن حفاظت واکسیناسیون وجود داشته است (۱). تعیین ژنوتیپ سویه‌های ویروس برونشیت عفونی برای تعیین توزیع ژنوتیپ های ویروسی و توسعه و تطبیق استراتژی‌های واکسیناسیون مناسب ضروری است.تعیین خصوصیات آنتی‌ژنی جدایه‌های ویروس برونشیت عفونی برای انتخاب واکسن‌های مناسب وجدید برای نواحی جغرافیایی مرتبط مهم می‌باشد. این مطالعه به‌منظور تعیین میزان حضور ویروس برونشیت عفونی و انواع سویه‌ها و جدایه‌های آن در کمپلکس‌های تنفسی در مزارع پرورش طیور گوشتی در دو استان ایران انجام گرفت.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری

از بین گله‌های تحت نظر و مشکوک به بیماری برونشیت عفونی در فاصله زمانی ۱۳۹۷ تا ۱۳۹۸ از هر یک از استان‌های آذربایجان شرقی و گلستان ۱۰ گله انتخاب شد و پس از ثبت مشخصات در کاربرگ از هر گله، از ۱۰ قطعه ماکیان تلف شده و یا در حال مرگ دارای علائم تنفسی نمونه‌برداری به عمل آمد. نمونه‌ها در مجاورت یخ خشک به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی اهواز منتقل شدند و تا هنگام آزمایش در دمای ۷۰- سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

www.SID.ir

Archive of SID

جداسازی ویروس

نمونه‌های بافتی به‌صورت جداگانه خردشده و در محلول بافر فسفاته (PBS) حاوی پنیسیلین IU/ml ۱۰۰۰۰، استرپتومایسین ۱۰۰۰۰µg/ml، جنتامایسین ۵µg/ml، آمفوتریسین B ۵µg/ml به‌صورت مخلوط همگن ۱۰٪ درآمده و مخلوط‌های همگن بافتی در ۱۰۰۰g به مدت ده دقیقه سانترفیوژ شده و مواد رویین به‌عنوان مواد تلقیحی مورداستفاده قرار گرفت (۳۰). ۰/۲ میلی لیتر از هر نمونه به درون حفره آلانتوئیک ۵ تخم‌مرغ جنین‌دار ۹ روزه ماکیان تلقیح گردید. تخم‌مرغ‌ها برای ۴۸ ساعت انکوبه شدند در ۳۷ درجه سانتی گراد، به‌منظور احتمال وجود آسیب‌های فیزیکی در زمان تلقیح، تخم‌مرغ‌هایی را که تا ۲۴ ساعت اول بعد از تلقیح جنینشان تلف شده بود حذف شدند. مایع آلانتوئیک برداشت شد. پس از آزمون RT-PCR موارد منفی به‌صورت سریالی تا ۳ بار پاساژ داده شدند.

استخراج RNA

جهت استخراج RNA ویروس، ۲۰۰ میکرولیتر از مایع آلانتوئیک به‌صورت جداگانه برداشته شد و با استفاده از محلول استخراج RNX_ plus Solution (ساخت شرکت سیناژن، ایران) طبق دستورالعمل شرکت سازنده استخراج RNA ویروس انجام گرفت. بر روی RNA استخراج‌شده ۵۰ میکرولیتر آب DEPC اضافه شد و تا زمان ساخت cDNA در فریزر ۷۰- نگه‌داری شد.

ساخت cDNA

برای ساختن cDNA از RNA استخراج‌شده از کیت cDNA Synthesis Kit(ساخت شرکت یکتا تجهیز آزما، کشور ایران) استفاده گردید. برای این کار از زوج آغازگرهای شناساگر اختصاصی ژن S1 ویروس برونشیت عفونی XCE1 (5' –CAC TGG TAA TTT AAA CAC CCT TAC A- 3') استفاده شد (۸). نگهداری cDNA ساخته‌شده در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد و جهت آزمون PCR در آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی بخش بیماری‌های پرندگان دانشگاه شهید چمران اهواز

واکنش PCR

میزان عوامل شرکت‌کننده در واکنش شامل: مستر میکس 2X (با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار MgCl2) (آمپلیکون، کانادا) ۱۰ میکرولیتر، آغازگر XCE1 (۱۰ پیکومو در میکرولیتر)، آغازگر XCE2 (۱۰ پیکومو در میکرولیتر)، DNA الگو ۳ میکرولیتر، آب ۶ میکرولیتر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر و شرایط دمایی ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه (واسرشت اولیه)،۳۵ سیکل شامل واسرشت دردمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر دردمای ۵۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه و امتداد در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ ثانیه تکرار شد و به دنبال آن نیز امتداد نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴ دقیقه انجام گردید. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل واکنش PCR یک نمونه کنترل منفی (آب DEPC به‌جای DNA) و یک نمونه کنترل مثبت (RNA استخراج شده از واکسن‌های ماساچوستH120و۹۱/۴) قرار داده شد.

ارزیابی محصول PCR

محصولات PCR در ژل آگارز یک درصد، به مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰ ولت الکتروفورز شده و پس از رنگ‌آمیزی با رنگ ایمن در برابر نور UV تصویربرداری به عمل آمد. مارکر مورداستفاده DNA، 100 (ساخت شرکت سیناژن، ایران) بود (تصویر ۱).

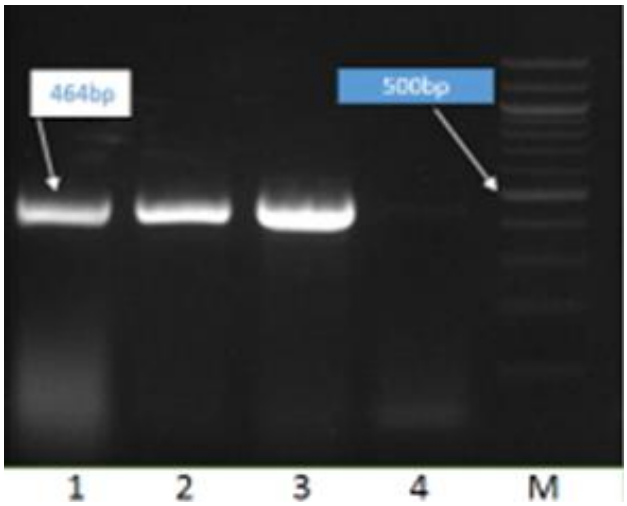
www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی/ دوره شانزدهم، شماره اول، ۱۳۹۹، پیاپی ۴۰: ۶۴-۵۳

مقاله پژوهشی



تصویر ۱. محصول RT-PCR اندازه باند ٤٦٤ جفت باز؛ نشانگر ۱۰۰ جفت باز، شماره ٤کنترل منفی، شماره ۳ کنترل مثبت (سویه واکسن ٤/۹۱) شماره‌های ۲ و ۱ نمونه‌های مثبت

تعیین توالی محصول PCR

به میزان ۵۰ میکرولیتر از DNA نمونه‌های مثبت به همراه ۱۰ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرهای XCE1 و XCE2 به شرکت تکاپوزیست جهت خالص‌سازی و ارسال به شرکت کره‌ای BIONEER برای تعیین توالی فرستاده شد. توالی نوکلئوتیدی بخشی از ژن S1 جدایه-های این مطالعه با یکدیگر و با ایزوله‌های قبلی از ایران، کشورهای همسایه و سویه‌های مرجع IBV در مرکز ملی بیوتکنولوژی اطلاعات پایگاه داده (http://ncbi.nlm.nih.gov) با استفاده از nBLAST (http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi) و نرم‌افزار ClustalW2 مقایسه شد.

نتایج

در بررسی مولکولی نمونه‌های نای، ریه و لوزه سکومی، اخذشده از بهار ۱۳۹۷ تا بهار ۱۳۹۸ در ۲ استان کشور، ویروس برونشیت عفونی در ۷ گله با آزمون RT-PCR مثبت شد (جدول ۱ و ۲).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. اطلاعات و نتایج گله‌های گوشتی تحت مطالعه استان گلستان

سویه جداسازی شده	شماره جدایه در genbank	کد نمونه +	سکال	ریه	نای	Vac 4/91	Vac Ma5	H120	سن گله	شماره گله
–	–	–	–	–	–	آشامیدنی ۱۷ روزگی	آشامیدنی ۹روزگی	۱ روزگی اسپری	۹	۱
QX	MK850423	IBV-8 +	۸/۱۰	–	–	–	–	۴ روزگی اسپری	۱۰	۲
–	–	–	–	–	–	آشامیدنی ۱۸ روزگی	آشامیدنی ۷ روزگی	۲ روزگی اسپری	۱۲	۳
–	–	–	–	–	–	آشامیدنی ۱۷ روزگی	آشامیدنی ۸روزگی	اسپری ۱ روزگی	۳۵	۴
–	–	–	–	–	–	آشامیدنی ۱۶ روزگی	–	–	۴۱	۵
QX	MK850430	IBV-16 +	۵/۱۰	-	۶/۱۰	–	–	۳ روزگی اسپری	۲۱	۶
QX	MK850424	IBV-17 +	۹/۱۰	–	–	–	۸ روزگی	اسپری ۳ روزگی	۲۷	۷
–	–	–	–	–	–	–	۸ روزگی	اسپری ۲ روزگی	۲۴	۸
–	–	–	–	–	–	–	-	۱ روزگی اسپری	۳۸	۹
									۱۳	۱۰

جدول ۲. اطلاعات گله‌های گوشتی و نتایج تحت مطالعه استان آذربایجان شرقی

سویه جداسازی شده	شماره جدایه در genbank	کد نمونه +	سکال	ریه	نای	Vac 4/91	Vac Ma5	H120	سن گله	شماره گله
–	–	–	–	–	–	–	IB88 ۷ روزه آشامیدنی	۴/۹۱+H120	۴۰	۱
۴/۹۱	MK850425	IBV-۲۹ +	۵/۱۰	–	–	–	۸روزگی	۱ روزگی اسپری	۱۹	۲
–	–	–	–	–	–	۱۶ روزگی	آشامیدنی ۷ روزگی	اسپری ۱ روزگی	۳۳	۳
–	–	–	–	–	–	۱۸ روزگی	I88 ۸ روزگی	اسپری ۱ روزگی	۲۸	۴
–	–	–	–	–	–	–	–	اسپری	۱۲	۵
–	–	IBV-۳۲ +	۹/۱۰	–	–	–	۶روزگی آشامیدنی	۱ روزگی اسپری	۲۴	۶
–	–	–	–	–	–	۱۸ روزگی	۶روزگی	اسپری	۳۷	۷
V2	MK850426	IBV-۳۴ +	۸/۱۰	-	۶/۱۰	–	–	–	۸	۸
۴/۹۱	MK850431	IBV-۵۶ +	۷/۱۰	–	–	۱۸ روزگی آشامیدنی	آشامیدنی	۱ روزگی اسپری	۲۰	۹
–	–	–	–	–	–	–	۸روزگی	۱ روزگی	۳۹	۱۰

نهایتاً از ۶۰۰ نمونه‌ای که به مایع آلانتوئیک تخم‌مرغ جنین‌دار تزریق شدند ۶۳ مورد مثبت در آزمون RT-PCR به دست آمد و در هر استان به تفکیک ذیل است: استان گلستان ۲۸ مورد مثبت در ۳ گله و استان آذربایجان شرقی ۳۵ مورد مثبت در ۴ گله. یک نمونه‌ی مثبت از هر گله جهت تعیین توالی فرستاده شد.

محصول PCR نمونه‌های مثبت (از هر گله یک نمونه مثبت) جهت تعیین توالی به شرکت BIONEER ارسال گردید و توالی به‌دست آمده در برنامه‌ی Blast سایت NCBI قرار گرفت. همچنین توالی‌های موردنظر با سایر سروتیپ‌های شناسایی‌شده در ایران، کشورهای همسایه

www.SID.ir

Archive of SID

و جهان مقایسه شدند و درصد شباهت‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی به دست آمد.

توالی‌های به‌دست‌آمده در بانک ژن ثبت‌شده و شماره دسترسی گرفتند (جدول ۳).

جدول ۳ – اطلاعات مربوط به ویروس های مورد بررسی به‌دست آمده در این مطالعه

سروتیپ	شماره دسترسی	نام جدایه
793/B	MK850425	IBV-29
793/B	MK850428	IBV-83
793/B	MK850431	IBV-56
QX	MK850424	IBV-17
QX	MK850430	IBV-16
QX	MK850423	IBV-8
variant 2	MK850426	IBV-34

نتایج نشان داد مقایسه توالی نوکلوئیدی سه جدایه به‌دست‌آمده از استان گلستان (IBV-8) MK850423، (IBV-16) MK850430 و (IBV-17) MK850424 در شاخه ویروس های شبه QX قرارگرفته ۹۸ تا بیش از ۹۹ درصد به QX های عراق و ایران شباهت داشتند. از چهار جدایه به‌دست‌آمده از استان آذربایجان شرقی، یک جدایه موفق به تعیین توالی نشده و سه جدایه دیگر (IBV-29) MK850425و(IBV-56)MK850431) از ۹۸/۵۶ تا ۹۹/۵۹ به سویه ی پاکستانی شباهت داشتند. یک جدایه (IBV-34) MK850426 در شاخه ویروس‌های واریانت ۲ قرار می‌گیرد با جدایه های واریانت ۲ که قبلاً از ایران جداشده است ۹۵ تا ۹۷ درصد شباهت داشتند.

در مقایسه توالی اسیدآمینه دو جدایه وابسته به سروتیپ 793/B تحقیق بیشترین شباهت را به سویه پاکستانی داشتند. سه جدایه وابسته به ویروس شبه QX بیشترین شباهت توالی اسیدآمینه را با ویروس های QX عراق داشتند. یک جدایه وابسته به واریانت ۲، ۹۶ تا ۹۸ درصد شباهت با جدایه های ایران داشتند.

بحث

امروزه متأسفانه به دلیل وجود ضعف‌های مدیریتی و ساختاری بسیاری از مرغداری‌های ایران و به دنبال آن چالش زودهنگام با واریانت‌های جدید و نوظهور ویروس برونشیت عفونی به‌خصوص در سنین ابتدایی دوره پرورش جوجه‌های گوشتی واکسینه شده در کشورهای مختلف خاورمیانه نظیر ایران و به دلیل مشکلات تنفسی، ضایعات کلیوی، کاهش عملکرد و بازدهی گله و تلفات بالایی که توسط این سویه از ویروس برونشیت عفونی ایجاد می‌شود توانسته است خسارات اقتصادی قابل‌ملاحظه و گسترده‌ای را به صنعت طیور تحمیل نماید. میزان تکثیر بالای ویروس، جهش‌های ژنتیکی که از طریق فرآیندهای حذف، اضافه شدن قطعات ژنی و پدیده نوترکیبی که به‌صورت مداوم در حال تغییر و تحول هستند منجر به ایجاد نوترکیب ها، واریانت ها و سروتیپ های جدید و نوظهور سویه‌های ویروس برونشیت عفونی می‌شوند (۴). در این مطالعه از مجموع ۲۰ گله در دو استان کشور در فاصله زمانی ۲۰۱۸ تا ۲۰۱۹، هفت گله ویروس برونشیت جدا گردید (۳۵ درصد)۶ تا از این

www.SID.ir

Archive of SID

جدایه ها ازنظر توالی بخشی از ژن S1 موردبررسی قرار گرفتند؛ و تیپ B/ 793 سروتیپ غالب در استان آذربایجان شرقی و QX سروتیپ غالب در استان گلستان بود. از سال ۱۳۷۷ سروتیپ های B/ 793 و ماساچوست شایع‌ترین ویروس‌های موجود در مرغداری های ایران بودند. البته احتمالاً واریانت‌های دیگری وجود داشتند که ممکن است شناسایی نشده‌اند. (۱). مدیری و همکاران (۲۰۱۷) نیز در تعیین ژنوتیپ IBVs گردشی در گله‌های ماکیان گوشتی ایران در فاصله سال‌های ۲۰۱۵ تا ۲۰۱۷، نشان دادند که ۵۲/۱۶ درصد گله‌ها IBV مثبت بودند. این محققین واریانت ۲ (ویروس‌های شبه IS-1494) را نوع غالب و به دنبال آن نوع B/ 793، ماساچوست و ویروس‌های شبه QX را گزارش نمودند. آن‌ها بیان کردند که در مقایسه با آخرین بررسی ها (۲۰۱۴-۲۰۱۵) و دیگر گزارش‌ها از ایران ژنوتایپ های IR1، IS-720 و IB IR-2 ناپدید شده‌اند (۲۴). در گزارش همایونی مهر و همکاران (۲۰۱۶) ده سویه ویروسی از نمونه‌های نای، غدد سکومی و کلیه طیور گوشتی و تخم گزار ایران با روش RT-PCR جدا شد، گردش حداقل سه ژنوتیپ IBV (ماساچوست، واریانت ۲، B/ 793) در ایران مشخص شد (۱۸). جعفری و همکاران (۱۳۹۳) در مطالعه نقش عوامل ویروسی در ایجاد عفونت‌های تنفسی شایع در ماکیان گوشتی منطقه خوزستان و تعیین ماهیت مولکولی آن‌ها از ۲۵ گله مبتلابه کمپلکس تنفسی، ویروس برونشیت عفونی را از ۱۶ گله جدا کردند (۳). مهران پور و عمادی (۱۳۹۳) از ۳۰ واحد مرغداری با نشانه‌های تنفسی، ۶ واحد آلوده به برونشیت عفونی بودند که در واکنش Nested-PCR، ۴ مورد در سروتیپ B۷۹۳/ قرار گرفتند (۶). قهرمانی و همکاران (۲۰۱۱) تعداد ۱۰ جدایه ویروس برونشیت عفونی را که در سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۸ از نمونه‌های نای و ریه طیور گوشتی با نشانه‌های بالینی مشکوک به برونشیت عفونی جداشده بودند، موردبررسی فیلوژنی قرار دادند. نتایج آن‌ها نشان داد که ۳ جدایه متعلق به سروتیپ ماساچوست و ۷ جدایه متعلق به سروتیپ ۴/۹۱ بوده است (۱۴). دو مورد از جدایه‌های مورد شناسایی در این مطالعه در شاخه‌ی سروتیپ B/ 793 قرار می‌گیرند و ۹۸ تا ۹۹ درصد شباهت نوکلئوتیدی با یکدیگر دارند و بیش از ۹۹ درصد مشابه جدایه پاکستانی بودند. سروتیپ B/ 793 برای اولین بار در سال ۱۹۹۱ در بریتانیا جداسازی شد (۱۵)؛ و درنهایت این سروتیپ در اکثر نقاط اروپا، آسیا و آمریکای شمالی پخش شد تا اینکه به شایع‌ترین سروتیپ در کشورهای این مناطق تبدیل شد. همچنین در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۷۹ وصفی مرندی و بزرگمهری فرد وجود این ویروس را گزارش کردند (۷). در گله‌های گوشتی واکسینه مرگ‌ومیر عموماً در روزهای آخر دوره‌ی پرورش (شش هفتگی) در یک دوره‌ی یک‌هفته‌ای می‌باشد. در گله‌های تخم‌گذار، عفونت با این سروتیپ کاهش خفیف تولید، با تأثیر کم یا بدون تأثیر روی رنگ پوسته تخم‌مرغ و بدون تلفات گزارش‌شده است. گرچه در برخی از گزارشات، کاهش تولید مشخص همراه با بدشکلی تخم‌مرغ و تلفات نیز نشان داده‌شده است (۱). امروزه این سروتیپ علاوه بر این نشانه‌ها باعث درگیری سیستم تنفسی به‌صورت رال تنفسی، سرفه و نفس کشیدن با دهان باز و همچنین مشکلات کلیوی به‌صورت تورم و رنگ‌پریدگی کلیه و همچنین افسردگی به‌صورت کاهش مصرف آب‌ودان و اسهال آبکی سفید مایل به سبز و کم‌آبی می‌شود (۲۲). ممیز و همکاران (۱۳۸۱) نشان دادند که برخی از سویه‌های ویروس برونشیت موجود در ایران با آنتی سرم

www.SID.ir

Archive of SID

اختصاصی ویروس سروتیپ ماساچوست خنثی نمی‌شوند که بیانگر حضور سروتیپ های دیگر می باشد (۲۵). نوری و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی سوآب نایی ۳۰ گله طیور گوشتی استان فارس در سنین ۷ تا ۸ هفتگی ازنظر آلودگی به ویروس برونشیت عفونی با روش Multiplex RT-PCR، از ۱۷ نمونه مثبت IBV، ۱۶ مورد سروتیپ ۴/۹۱ و یک مورد سروتیپ ماساچوست گزارش کردند (۲۷). صیفی و همکاران (۲۰۰۴) به‌منظور بررسی شیوع ویروس برونشیت عفونی در ایران سوآب هایی از ۷۷ گله طیور گوشتی در ۱۶ استان در کشتارگاه جمع‌آوری کردند. نتایج نشان داد که شیوع نسبتاً بالایی (۴۲/۸٪) از برونشیت عفونی سویه B ۷۹۳ در ایران وجود دارد (۲۹). غلامی آهنگران و همکاران (۱۳۸۷) با تعیین تیپ و آنالیز مولکولی ژن S1 ویروس برونشیت عفونی در طیور گوشتی استان اصفهان از گله‌های طیور گوشتی واجد سندرم تنفسی مشکوک به برونشیت عفونی، حضور تیپ ۴/۹۱ در استان را تائید کردند (5). در این مطالعه در استان گلستان هر سه جدایه به‌دست‌آمده ازلحاظ توالی ژنی بخشی از ژن پروتئین S1 با ویروس‌های مشابه QX دسته‌بندی شدند. برای اولین بار، در سال ۱۹۹۶، در چین یک بیماری با ورم معده، اسهال و از دست دادن وزن در جوجه‌های ۲۵ تا ۷۵ روزه مشخص شد این بیماری برونشیت عفونی و سویه آن QX نامیده شد. بااین‌حال این جدایه به‌عنوان یک واریانت جدید از IBV در آن زمان به رسمیت شناخته نشد. از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۴، پنج گله مرغ در چهار استان در چین را موردبررسی قرار دادند و نتیجه به‌دست‌آمده نشان داد که واریانت های شبه QX یک‌سویه جدید نفروپاتوژنیک هستند (۲۱). مطالعات اخیر وجود واریانت جدید برونشیت عفونی به نام سویه‌های مشابه QX را در بسیاری از کشورهای اروپایی و آسیایی نشان می‌دهد که گرچه این ویروس‌ها ازنظر ژنتیکی شبیه و نزدیک هم می‌باشند ولی نشانه‌های بالینی، بیماری‌زایی، واگیری و تلفات آن‌ها متغیر می‌باشند و گاهی ارتباطی باسابقه واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی ندارند. پس‌ازآن QX یکی از شایع‌ترین ژنوتیپ های IBV در کشورهای مختلف شد (۲۸). ویروس برونشیت عفونی‌های مشابه QX از چین، به اروپا و جنوب آفریقا گسترش یافت (۹). در مطالعات اخیر مشخص شد که سویه‌های جداشده در عراق، شباهت زیادی به سویه JX۴۷۷۸۲۷ که در ایران جداشده، دارد (۱۰). این اطلاعات بیانگر انتقال گسترده ویروس QX از سایر کشورها ازجمله ایران به عراق می‌باشد. برومند و همکاران (۲۰۱۸) ویروس‌های برونشیت عفونی جداشده از گله‌های گوشتی استان خوزستان را مورد تجزیه‌وتحلیل فیلوژنتیک قراردادند و این ویروس‌ها به‌عنوان ویروس‌های مشابه QX دسته‌بندی شدند و شباهت زیاد این سه جدایه به سویه‌های شبه QX کشور عراق و مرزی بودن استان خوزستان، احتمال انتقال این ویروس از عراق به این استان داده شد (۲). یک جدایه دیگری از ویروس که از استان آذربایجان شرقی به دست آمد در شاخه‌ی واریانت ۲ قرار می‌گیرد که سویه‌های این سروتیپ از سویه‌های مزرعه می‌باشد. اگرچه IBV شبه IS-1494 در ابتدا در سال ۲۰۰۶ میلادی در فلسطین اشغالی گزارش شد، اما جدایه Egypt/Beni-Suef/01 با ۹۹ درصد شباهت به واریانت ۲ یا IS-1494 در سال ۲۰۰۱ در مصر جدا شده بود (۱۳). از آن زمان به بعد IBV شبه IS-1494 در اردن، ترکیه و سایر کشورهای خاورمیانه ردیابی شد (۱۲). در ایران، IBV شبه IS-1494 در سال ۲۰۱۰ برای اولین بار شناسایی شد و ایران در بین ۸ کشوری که رایج‌ترین

www.SID.ir

Archive of SID

وقوع IBV طی سال‌های ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۵ داشتند، به‌عنوان دومین کشور گزارش شد (۱۹)، پس‌ازآن نجفی و همکاران در تحقیقات مولکولی خود این واریانت را غالب‌ترین نوع IBV در سال ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۵ گزارش نمودند (۲۶).

حسینی و همکاران (۲۰۱۰ تا ۲۰۱۴) با انجام یک مطالعه‌ی اپیدمیولوژیک از ۲۵۰ گله‌ی مشکوک و جمع‌آوری ۲۵۰۰ نمونه از نای، کلیه و سکال تونسیل و انجام آزمایشات مولکولی بر روی قطعه‌ی گلیکو پروتئین S1، ۷ ژنوتیپ مجزا در ایران را شناسایی کردند که واریانت ۲ هم شامل آن‌ها بود (۱۹). سرپیل کاهیا و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه‌ی فیلوژنیکی که بر روی گله‌های مادر و گوشتی در کشور ترکیه انجام دادند که ویروس‌های جداشده از این گله‌ها با سویه‌ی IS/1494/06 تا ۹۹٪ شباهت دارند که این سویه خود در شاخه‌ی واریانت ۲ قرار می‌گیرد (۲۰). سوزان المهدی و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه‌ی فیلوژنیکی که بر روی گله‌های مزارع طیور در سه شهر مختلف مصر انجام دادند و نشان دادند که ویروس‌های جداشده از طیوری که از جراحات کلیوی شدید رنج می‌برند با سویه‌ی نفروپاتیک IS/1494/06 تا حد زیادی شباهت داشتند که این سویه خود در شاخه‌ی واریانت ۲ قرار می‌گیرد (۱۱). ویروس‌های شبه واریانت ۲ هنوز جزء سویه‌های اصلی در اردن، مصر، ترکیه، فلسطین اشغالی و سایر کشورها در خاورمیانه می‌باشد (۲۳،۲۹). در سال ۲۰۱۱، هشت IBV از نمونه‌های سواب نای گله‌های مولد و گوشتی در ترکیه، جدا شد که همگی با ۹۹٪ شباهت به سویه IS/۱۴۹۴/۰۶ مرتبط‌اند (۲۰). نویسندگان معتقدند که این سویه از کشورهای خاورمیانه به ترکیه منتقل‌شده است. ازآنجایی‌که واکسن IBV شبه IS-1494 در ایران استفاده نمی‌شود و چون واکسن‌های فعلی به‌طور کامل در برابر ویروس‌های شبه IS-1494 محافظت ایجاد نمی‌کند، احتمال گسترش بیشتر این واریانت زیاد است (۱۶). همانگونه که در جداول یک و دو تاریخچه گله‌هایی که ویروس برونشیت عفونی در آن‌ها ردیابی و جدا شده است نشان میدهد این گله‌ها در هر دو استان فقط واکسن ماساچوست دریافت کرده‌اند و از آنجایی‌که محافظت متقاطع در مورد این بیماری ضعیف است، این امر سبب بروز و شیوع این بیماری در این گله‌ها شده است. مطالعات اپیدمیولوژیک تجزیه و تحلیل IBV در ایتالیا و اسپانیا نشان داد که رابطه مثبتی بین استفاده از واکسن های ماساچوست به علاوه B/ ۷۹۳ و کاهش شیوع QX است(۱۲).درمجموع شایع‌ترین ژنوتیپ های IBV در این دوره زمانی و در این دو استان که در شمال شرقی و شمال غربی ایران قرار دارند کاملاً با یکدیگر متفاوت بود. این مطالعه در پایش سویه‌های در گردش IBV به ما کمک می‌کند تا ببینیم آیا واریته جدیدی ظهور کرده است و در هر منطقه چه سویه‌ها و سروتیپ‌هایی بیشتر در گردش است. ما می‌توانیم اثربخشی واکسیناسیون خود را بر اساس سویه‌های در گردش ارزیابی کنیم.

منابع

۱. اکبری آزاد، گ. (۱۳۸۲). شناسایی و تعیین خصوصیات مولکولی ویروس‌های برونشیت عفونی طیور با استفاده از روش RT-PCR/RFLP ، پایان‌نامه جهت دریافت دکترای تخصصی بیماری‌های طیور. دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱۷۷.

۲. برومند، ز. جعفری، ر.ع. و میاحی، م. (۱۳۹۴). بررسی سرولوژیک و ردیابی مولکولی ویروس‌های عامل آنفلوانزا (H9N2)، نیوکاسل و برونشیت عفونی در ماکیان بومی منطقه اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره طرح ۱۲۲۷.

۳. جعفری، ر.ع. برومند، ز. و میاحی، م. (۱۳۹۳). نقش عوامل ویروسی در ایجاد عفونت‌های تنفسی شایع در ماکیان گوشتی

www.SID.ir

Archive of SID

منطقه خوزستان و تعیین ماهیت مولکولی آن‌ها. دانشگاه شهید چمران اهواز و اداره کل دامپزشکی استان خوزستان، شماره . ۹۱/۲/۷۱۴۴۷.

۴. خراسانی نژاد، س. (۱۳۹۷). مطالعه تجربی بر روی کارایی دو واکسن زنده تخفیف حدت یافته سروتیپ H120 و 793/B ویروس برونشیت عفونی علیه چالش زودهنگام با سویه وحشی مزرعه‌ای واریانت ۲ در جوجه‌های گوشتی تجاری، پایان‌نامه دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران. شماره: ۸۱۴ ت.

۵. غلامی آهنگران، م.، شوشتری، ع.ح.، چرخکار، س.، بزرگمهری فرد م.ح. (۱۳۸۷). تعیین تیپ و آنالیز مولکولی ژن S1 ویروس برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی استان اصفهان. پانزدهمین کنگره دامپزشکی ایران، تهران، جامعه دامپزشکان ایران.

۶. مهران پور، م.ج. و عمادی، ش. (۱۳۹۵). تشخیص مولکولی سروتیپ B/۷۹۳ ویروس برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی اطراف شیراز. نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی، دوره ۱۲، شماره اول، صفحات ۲۱-۳۷.

۷. وصفی مرندی، م. بزرگمهری فرد، م ح. (۱۳۸۰). جداسازی و شناسیی ویروس‌های برونشیت عفونی طیور در بین سال های ۷۹- ۱۳۶۷ از مرغداری‌های صنعتی ایران. مجله دانشکده دامپزشکی تهران،دوره ۵۶ شماره ۳ صفحات ۱۲۴- ۱۱۹.

8. Aghakhan, S.M. Afshar Fereidouni, N.A., Marunesi, C., Khodashenas, M. (1994). Studies on avian viral infection in Iran, *Archives of Razi institute*. 44: 1-10
9. Amin OG, Valastro V, Salviato A, et al. (2012). Circulation of QX-like infectious bronchitis virus in the Middle East. *Veterinary Record*, 171:530
10. Bozoggmehri-Fard, M.H., Charkhkar, S., Hoseini, H. (2014). Detection of the Chinese genotype of infectious bronchitis virus (QX-type) in Iran. *Iranian Journal of virology*, 7:21-24
11. El-Mahdy. S.S., El-Hady, M.M., Soliman, Y.A. (2010). Isolation and Characterization of Nephropathogenic Strain of Infectious Bronchitis Virus in Egypt. *Journal of American Science*, 6: 669-675
12. Franzo, G., Tucciarone, C.M., Blanco, A., Nofrarías, M., Biarnés, M., Cortey, M., Majó, N., Catelli, E., Cecchinato, M., (2016). Effect of different vaccination strategies on IBV QX population dynamics and clinical outbreaks. Vaccine 34: 5670-5676
13. Gelb Jr, J., Weisman, Y., Ladman, B., Meir, R. (2005). S1 gene characteristics and efficacy of vaccination against infectious bronchitis virus field isolates from the United States and Israel (1996 to 2000). *Avian pathology*, 34: 194-203
14. Ghahremani, N., Bozorgmehri Farc M.H., Shoushtari, A.H., Momayes, R., Sheikhi, N., Khoshzahmat, A., Eshratabadi, F. (2011). Molecular analysis of infectious bronchitis virus isolated in Iran from 1998-2008. *Animal Veterinary Adv*ance, 10: 2961-2967
15. Gough, R.E., Randall, C.J., Dagless, M., Alexander, D.J., Cox, W.J., and Pearson, D. (1992). A "new" Strain of Infectious Bronchitis virus infecting domestic fowl in Great Britain. *Veterinary Record*,130: 493-494
16. Habibi, M., Karimi, V., Langeroudi, A., Ghafouri, S., Hashemzadeh, M., Farahani, R., Maghsoudloo, H., Abdollahi, H., Seifouri, P. (2017). Combination of H120 and 1/96 avian infectious bronchitis virus vaccine strains protect chickens against challenge with IS/1494/06 (variant 2)-like infectious bronchitis virus. *Acta virologica*, 61: 150-160
17. -Hashemzadeh, M., V. Karimi, S. Masoudi, A. Shoushtary, A. Langeroudi, R. Momayez, M. Shirazi, H. Maghsodloo, R. Hasanzadeh and F. Eshratabadi. (2013). Phylogenetic study of Iranian infectious bronchitis virus isolates during using glycoprotein S1 gene. *Journal of Veterinary Research* 68:135-141
18. Homayounimehr, A., Pakbin, A., Mornayyez, R., Rastegar Fatemi, M. (2016). Detction and identification of infectious bronchitis virus by RT-PCR in Iran. *Regular Articles*, 48: 973-978
19. Hosseini, H., Bozorgmehri Fard, M.H., Charkhkar, S., Morshed, R. (2015). Epidemiology of Avian Infectious Bronchitis Virus Genotypes in Iran 2010–2014. *Avian diseases*, 59: 431-435
20. Kahaya, S., Coven, F., Temelli, S., Eyigor, A., Tayfun Carli. (2013). Presence of IS/1494/06 genotype related infectious bronchitis virus in Turkey, Ankara

www.SID.ir

Archive of SID

of the prevalence of infectious bronchitis virus type 4/91 in Iran. *Acta veterinaria Hungarica*, 52:163-166

30. Swayne DE, Glisson JR, Jackwood MW, et al.(1998). A Laboratory manual for the isolation and identification of avian pathogens. 4th ed. Texas, USA: *American Association of Avian Pathologists*, 169-174

Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 60: 27-31

21. Liu, S.W., Zhang, Q.X., Chen, J.D., Han, J.D., Liu, X., Feng, L., Shao, Y.H., Rong, J.G. Kong, X.G., and Tong, G.Z. (2006). Genetic diversity of avian infectious bronchitis coronavirus strains isolated in chicken between 195 and 2004. *Archive of virolrgy*, 151: 1133-1148
22. Mahdavi, S., Tavasoly, A., Pourbakhsh, S.A., Momayes, R. (2007). Experimental histopathologic study of the lesions induced by serotype 793/B (4/91) infectious bronchitis virus. *Archive of Razi institute*, 62(2): 15-22
23. Meir, R., Rosenblut, E., Peri, S., Kass, N., Ayali, G., Perk, S. & Hemsani, E. (2004). Folentification of a novel nephropathogenic infectious bronchitis virus in Israel. *Avian Diseases*, 48:635-641
24. Modiri, A., GhalyanchiLangerodui, A., Hashemzadeh, M., Hosseini H., Karimi, V., Yahyaraeyat, R., Najafi, H. (2017). Genotyping of Avian Infectious Bronchitis Viruses in Iran (2015-2017) Reveals Domination of IS-1494 like Virus. *Virus Research*, **240:** 101-106
25. Momayez, R., Pourbakhsh, S.A., Khodashenas, M. and Banani, M. (2002). Isolation and identification of infections Bronchitis Virus from commercial chickens. *Archives of Razi institute*, **53:** 1-10
26. Najafi, H., Langeroudi, A.G., Hashemzadeh, M., Karimi, V., Madadgar, O., Ghafouri, S.A., Maghsoudlo, H., Farahani, R.K. (2016). Molecular characterization of infectious bronchitis viruses isolated from broiler chicken farms in Iran, 2014-2015. *Archives of virology*, 161: 53-62
27. Nouri, A. Assasi, K., Seyfi Abad Shapouri, M.R. (2003). Field study of infectious bronchitis virus using type specific RT-PCR. *Archive Razi Institute*, 55: 1-10
28. Sasipreeyajan TPJ. (2012). The pathogenesis of a new variant genotype and QX-like infectious bronchitis virus isolated from chickens in Thailand. *Thai Journal of Veterinary Med*icine, 42: 51-57
29. Seyfi Abad Shapouri, M., M. Mayahi, K. Assasi, and S. Charkhkar. (2004). A survey

www.SID.ir