Archive of SID

پاتوبیولوژی مقایسه‌ای، علمی ـ پژوهشی، سال شانزدهم، پاییز، شماره ۳، ۱۳۹۸، ۲۹۱۸-۲۹۱۱

شناسایی مولکولی سویه های وحشی ویروس برونشیت عفونی طیور در گله های گوشتی واکسینه استان مازندران

سید مصطفی آقاجانی میر[۱]، نریمان شیخی* [۱]، هادی حق بین نظرپاک[۱] ، غلامرضا نیکبخت بروجنی [۲]

چکیده

بیماری برونشیت عفونی یکی از معضلات مهم صنعت پرورش طیور گوشتی در دنیا است و مطالعات اپیدمیولوژی مولکولی و شناسایی مداوم تغییرات ژنتیکی در میان ویروس‌های شایع در مزارع پرورشی نقش مهمی در کنترل، پیشگیری و طراحی واکسن‌های موثر بر علیه بیماری دارد. در تحقیق حاضر مزارع طیور گوشتی مشکوک به بیماری برونشیت عفونی در استان مازندران مورد آزمایش قرار گرفتند. بدین منظور، نمونه‌های سواب نای از ۲۸ گله جوجه گوشتی با علائم تنفسی و تلفات ۱۵ تا ۲۵ درصدی در سال ۱۳۹٦ جمع آوری شدند. برای تشخیص ویروس از روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای افزوده سازی ژن رپلیکاز با پرایمرهای اختصاصی ژن استفاده شد. سویه مرجع سویه H120 واکسن برونشیت بود. برای تفکیک سویه‌های وحشی از سویه‌های واکسینال از روش توالی یابی مستقیم استفاده شد. در آزمون مقدماتی (افزوده سازی)، در ۸۲ درصد (۲۳/۲۸) از مزارعی که مشکوک به عفونت ویروس برونشیت بودند حضور ویروس برونشیت عفونی تشخیص داده شد. بررسی تعیین توالی مشخص کرد که ۵ سویه وحشی در مزارع آلوده (۱۹ مزرعه) وجود دارند. این موضوع نشانده‌ی تنوع بالایی در جمعیت مورد مطالعه است. نتایج این مطالعه نشان داد که ظهور سویه‌های جدید ویروس برونشیت عفونی در طیور گوشتی استان مازندران می تواند با شرایط پرورشی از جمله تراکم بالا و واکسیناسیون متنوع و مکرر مرتبط باشد.

واژگان کلیدی: *ویروس برونشیت عفونی، شناسایی مولکولی، گله های گوشتی، مازندران*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۳/۲٦ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۲۰

مقدمه

بیماری برونشیت عفونی یکی از معضلات مهم پرورش طیور به شکل تجاری و متراکم است. این بیماری بیش از همه از شرایط اقلیمی حاکم بر مزارع مانند رطوبت ناکافی هوای تنفسی، نوسانات نامطلوب درجه ی حرارت، تهویه ی ناکارآمد، و عوامل سرکوب کننده ی ایمنی تاثیر می پذیرد(۱و۲). در ایران به دلیل شرایط خاصی همچون خشکی هوا و نوسانات شدید درجه حرارت در طول شبانه روز انتظار وقوع بیماری برونشیت عفونی بسیار زیاد است. زیان های مالی ناشی از بیماری، مثل کاهش تولید و بویژه مرگ و میر در جوجه های گوشتی از اهمیت بالایی برخوردار است (۳). جهت کنترل عوارض و تبعات عفونت با ویروس برونشیت عفونی، ایمن سازی (واکسیناسیون) در کنار ضد عفونی و رعایت اصول امنیت زیستی توصیه می‌گردد (۳).

ژنوم ویروس برونشیت عفونی (IBV) چهار پروتئین ساختاری را کد می کند(اسپایک، پوشینه، غشاء و نوکلئوکپسید) و دو سوم از ژنوم شامل مجموعه ای از ژن‌های موثر در تکثیر مانند پروتئاز، هلیکاز و RNA پلیمراز وابسته به RNA (RNA dependent RNA polymerase) یا RdRp است (٤و٥).

ویروس برونشیت عفونی در گله‌های طیور در سراسر دنیا گزارش شده است (٦). در ایالات متحده، علاوه بر سویه های بومی (نوع Massachusetts یا Mass) سروتایپ‌های دیگری نیز شناسایی شده‌اند و در ابتدای سال ۱۹۵۰ میلادی، انواعی از سویه‌های Mass در اروپا مشاهده شدند. در واقع بسیاری از انواع سروتیپ هایی که در آمریکای شمالی شناسایی شده بودند پس از مدتی در آفریقا نیز مشاهده شدند (۷). این بیماری در کشورهای آسیایی چون هند، ژاپن، کره و چین و همچنین استرالیا و اروپا نیز شایع است. مهم اینکه غالبا شیوع بیماری حتی در گله های واکسینه شده نیز روی می دهد. انواع ویروس‌های جدا شده از گله‌های واکسینه ،اغلب و نه همیشه، از سروتایپ‌های متمایز از واکسن هستند (٤و۷و۹). در ایران، اولین بار در سال ۱۳۷۳ (۱۹۹٤ میلادی) ویروس

۱-گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران(n_sheikhi@srbiau.ac.ir)

۲-گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران)

www.SID.ir

Archive of SID

برونشیت عفونی (IBV) شناسایی شد و در همان زمان به احتمال حضور سویه های متنوع در کشور اشاره شد(۱۰). پس از آن با استفاده از آزمایش واکنش زنجیره ای پلی مراز معکوس (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction) به همراه تحلیل قطعات حاصل از آنزیم‌های محدودالثر(RFLP) حضور سویه‌های (٤/٩١) B/ ٧٩٣ و ماساچوست در ایران شناسایی شدند (۱۱). بر طبق نتایج تحقیق سیفی آبادی و همکاران (۲۰۰٤) شیوع سویه B/ ٧٩٣ در ١٦ استان کشور گزارش شده است. این سویه بیشترین شیوع را درسالهای ۱۹۹۸ الی ۲۰۰۲ در کشور داشته است (۱۲).

تنوع ژنتیکی و تغییرات ژنومی ویروس در طی زمان، گاه بر اثر مدیریت ناصحیح و واکسیناسیون، قابل ملاحظه است. این تغییرات در سطوح پادگنی مانعی بر سر راه ایمنی موثر و محافظت در گله ها محسوب می شوند. از سوی دیگر تنوع در نواحی از ژنوم که برای تشخیص ویروس هدف قرار می گیرند ممکن است باعث عدم توان تشخیص عامل بیماری و کانون یابی بیماری شود(۷).

به نظر می رسد با توجه به تنوع سویه‌های ویروس برونشیت عفونی طیور و ظهور سویه‌های جدید در زمان‌ها و مناطق جغرافیایی مختلف (۹،۱۳) لازم است تا تحقیقات در زمینه شناسایی ویروس به شکلی پیوسته و با روش‌های معتبر در کشور صورت گیرند. به همین منظور در تحقیق حاضر فراوانی و تنوع سویه‌های ویروس برونشیت عفونی در گله‌های طیور گوشتی مازندران مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

نمونه برداری، جداسازی RNA و رونوشت برداری معکوس

روش تحقیق مطالعه مشاهده ای و نمونه برداری از گله های مبتلا کاملا تصادفی بود که مشخصات گله ها در جدول ۱ آورده شده است (جدول ۱). نمونه‌های سواب نای از ۲۸ گله جوجه گوشتی مشکوک به بیماری برونشیت عفونی با علایمی نظیر تنفسی و تلفات ۱۵ تا ۲۵ درصدی در استان مازندران واقع در شمال ایران طی فصول پاییز و زمستان سال ١٣٩٦ جمع آوری و تا زمان استخراج در دمای منفی ۷۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. از هر گله ۳ نمونه تصادفی از جوجه های مبتلا به علامت تنفسی انتخاب و استخراج RNA تام با کیت استخراج DNA/RNA Gene-spin®Viral (بیوتکنولوژی اینترون، کره جنوبی) در آزمایشگاه پاستور انجام شد. پس از آن از نمونه‌های RNA استخراج شده cDNA با روش رونوشت برداری معکوس تهیه شد. در حجم ۲۰ میکرولیتر حاوی ۱ میکروگرم RNA، 200 نانوگرم هگزامر تصادفی و(۰,۵ mM) dNTP اضافه شد. مخلوط به مدت ۵ دقیقه در ٦٥ درجه سانتیگراد حرارت داده شد و سپس مخلوط واکنش شامل ٤٠ واحد ممانعت کننده RNase، بافررونوشت برداری معکوس (50 mM Tris–HCl, 75 mM KCl, 3mM MgCl2, 10mM DTT)، و ۲۰۰ واحد آنزیم M-MLV (Fermentas، آلمان) به آن اضافه گردید. این مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد و بعد از آن ۵۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شد. cDNA به دست آمده در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه حرارت داده شد تا MMLV-RT را دناتوره کرده و سپس در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

افزوده سازی ژن پلی مراز وابسته به RNA ویروس برونشیت عفونی

آغازگرهای اختصاصی برای بخشی از ژن RdRp متعلق به IBV پرندگان (۲۸۸ bp) با تحلیل بیوانفورماتیک طراحی شدند. تمام توالی‌های ژن IBV RdRp موجود در بانک ژن هم ردیف شده و آغازگرها با هدف افزوده سازی منطقه متغیری از توالی های ژن RdRp طراحی شدند. بر اساس داده های پایگاه NCBI برای ویروس برونشیت عفونی پرندگان و سویه مرجع AY692454، توالی آغازگرها به شکلی طراحی شدند

www.SID.ir

Archive of SID

که آغازگر پیشرو (F: 5'-ACCCGATTCTYATGGGTTGGG -3') در پلی پروتئین b۱، nt 14167-14188 ، و برگشتی (R: 5'-AGACGCGCAACATTAGCAGA -3') در پلی پروتئین b۱، nt 14436-14455 ، قرار دارد. افزوده سازی در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۲۰ng از cDNA نمونه، ۱,۵ mM MgCl2، 250µM از هر dNTPs، بافر Tris–HCl (20 mM, pH 8.4, 50 mM KCl)، ۱ واحد آنزیم Taq (CinaClon, Iran) و ۲۰pmol از پرایمرهای اختصاصی بود. مشخصات چرخه حرارتی شامل ۱ چرخه واسرشت در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲ دقیقه، ۳۰ چرخه شامل مراحل ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۶۰,۵ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ٤۰ ثانیه، و بسط نهایی ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتیگراد بود.

تعیین توالی نوکلئوتیدی

روش توالی یابی مستقیم (Direct sequencing) برای تائید تشخیص ویروس و تجزیه و تحلیل ژن RdRp ویروس انجام شد. محصولات PCR با استفاده از کیت خالص سازی (Bioneer، Cat. No.K-3034) تخلیص شده و هر نمونه به طور جداگانه با استفاده از آغازگرهای اختصاصی پیشرو و برگشتی به طور جداگانه توالی یابی شدند. تمام مراحل توالی یابی توسط شرکت ماکروژن (سئول، کره) با استفاده از یک توالی سنج خودکار ABI 3730 XL،DNA انجام شد. توالی ها توسط BLAST در پایگاه اطلاعاتی بیوتکنولوژی (NCBI ،http://www.ncbi.nlm.nih.gov/) مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

در مجموع ۲۳ نمونه از ۲۸ نمونه اخذ شده از مزارع جوجه گوشتی صنعتی مشکوک به بیماری برونشیت عفونی در واکنش زنجیره ای پلی‌مراز مثبت تشخیص داده شدند.

سپس محصولات مثبت در آزمون PCR برای توالی یابی مستقیم انتخاب شدند. در بین نمونه‌های مثبت ۱۹ نمونه بر اساس تفاوت های مشاهده شده با سویه‌های واکسن، ویروس وحشی شناخته شدند. نتایج همردیفی توالی‌های ژن RdRp سویه‌های وحشی نشان داد که این ۱۹ نمونه ویروس وحشی در مجموع ۵ توالی نوکلئوتیدی متفاوت و منحصر به فرد داشتند که با شماره های ٦، ١٤، ١٦، ١٨ و ٢٨ در جدول ١ مشخص شده‌اند. بر این اساس محتوای تنوع ویروس در جمعیت ٢٦٪ محاسبه شد.

چهار نمونه مثبت در تحلیل توالی سویه های واکسن H120 و یا MA5 شناخته شدند. این نتایج با همردیفی توالی‌های بدست آمده با سویه های واکسینال و سویه‌های وحشی گزارش شده در ایران و جهان مشخص شده‌اند. ویروس‌های جدید با توجه به توالی نوکلئوتیدی تفاوت‌های قابل توجهی با سایر سویه‌های واکسن داشتند. داده های توالی نوکلئوتیدی طیفی از شباهت‌های (٩٦ تا ٩٩ درصد) را بین پنج سویه وحشی نشان دادند، در حالی که در مقایسه با سویه‌های واکسینال، شباهت‌ها بین ٩٠ تا ٩٦ درصد بود (جدول ٢). تشابه سویه‌های وحشی ایران با سویه‌های غیر واکسینال گزارش شده در جهان بین ٨٦ تا ٩٥ درصد بود. بیشترین فراوانی در بین سویه های وحشی ایران به سویه ٦ اختصاص داشت که در ٧ گله تشخیص داده شد (جدول ١).

همچنین سویه ٦ در نمونه‌های اخذ شده از اغلب مناطق استان (بابل، قائم شهر، ساری، بهنمیر، امیرکلا و بابلسر) شناسایی شد. این سویه کمترین شباهت را با سویه ٤/٩١ و بیشترین شباهت را با سویه ١٨ نشان داد. تقریبا تمامی سویه های وحشی در نمونه های بابل شناسایی شدند (جدول ١).

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. اطلاعات نوع سویه های شناسایی شده ویروس برونشیت عفونی همراه با مشخصات مزارع گوشتی مورد مطالعه در استان مازندران.

واکسن‌های مصرفی	محل اخذ نمونه	سن در زمان نمونه گیری (روز)	تعداد مزارع آلوده	سویه ویروس*
NOBILIS® MA5 + CLONE 30	بابل بابلکنار	۲۲	۲	٤/۹۱
NOBILIS® MA5 + CLONE 30 NOBILIS® IB 4-91 BRONHOPEST® B1 SPF CEVAC® Ibird	بابل قائم شهر ساری بهنمیر امیرکلا بابلسر	۳٦ تا ۲۸	۷	٦
NOBILIS® MA5 + CLONE 30	بابلسر قائم شهر	۲۸	۲	۱٤
NOBILIS® MA5 + CLONE 30 BRONHOPEST® B1 SPF	بابل بهنمیر	۲۸ تا ۳۹	۲	۱٦
NOBILIS® MA5 + CLONE 30 BRONHOPEST® B1 SPF	بابل بابلکنار کیاکلا	۲۱ تا ۲۹	۳	۱۸
NOBILIS® IB MA5 NOBILIS® IB 4-91 CEVAC® VITABRON L	بابل جویبار	۲۱ تا ۲۳	۳	۲۸

*سویه ویروس بر اساس تحلیل توالی ژن RdRp تعیین شده است

چهار نمونه مثبت در تحلیل توالی سویه های واکسن H120 و یا MA5 شناخته شدند. این نتایج با همردیفی توالی‌های بدست آمده با سویه های واکسینال و سویه‌های وحشی گزارش شده در ایران و جهان مشخص شده‌اند. ویروس‌های جدید با توجه به توالی نوکلئوتیدی تفاوت‌های قابل توجهی با سایر سویه‌های واکسن داشتند. داده های توالی نوکلئوتیدی طیفی از شباهت‌های (۹٦ تا ۹۹ درصد) را بین پنج سویه وحشی نشان دادند، در حالی که در مقایسه با سویه‌های واکسینال، شباهت‌ها بین ۹۰ تا ۹٦ درصد بود (جدول ۲). تشابه سویه‌های وحشی ایران با سویه‌های غیر واکسینال گزارش شده در جهان بین ۸٦ تا ۹۵ درصد بود.

بیشترین فراوانی در بین سویه های وحشی ایران به سویه ٦ اختصاص داشت که در ۷ گله تشخیص داده شد (جدول ۱). همچنین سویه ٦ در نمونه‌های اخذ شده از اغلب مناطق استان (بابل، قائم شهر، ساری، بهنمیر، امیرکلا و بابلسر) شناسایی شد. این سویه کمترین شباهت را با سویه ٤/۹۱ و بیشترین شباهت

www.SID.ir

Archive of SID

را با سویه ۱۸ نشان داد. تقریبا تمامی سویه های وحشی در نمونه های بابل شناسایی شدند (جدول ۱).

جدول ۲. نتایج بررسی تشابه نوکلئوتیدی ویروس‌های شناسایی شده با توالی ویروس‌های واکسینال

تشابه توالی نوکلئوتیدی (٪)								
	H120	Ma5	٤/٩١	٦	١٤	١٦	١٨	٢٨
H120		١٠٠	٩٤	٩٤	٩٢	٩٣	٩٣	٩٦
Ma5			٩٤	٩٤	٩٢	٩٣	٩٣	٩٦
٤/٩١				٩١	٩٠	٩٢	٩٠	٩٢
٦					٩٨	٩٨	٩٩	٩٦
١٤						٩٨	٩٩	٩٦
١٦							٩٩	٩٦
١٨								٩٧
٢٨								

بحث

به دلیل آنکه بیماری برونشیت عفونی یکی از معضلات مهم صنعت پرورش طیور در ایران است، مطالعات اپیدمیولوژی، مولکولی و شناسایی مداوم تغییرات ژنتیکی در میان ویروس‌های شایع در مزارع پرورشی نقش مهمی در کنترل، پیشگیری و طراحی واکسن‌های موثر بر علیه بیماری دارد. در آزمون مقدماتی (افزوده سازی) در ۸۲ درصد (۲۳/۲۸) از مزارعی که مشکوک به عفونت ویروس برونشیت بودند حضور ویروس برونشیت عفونی تشخیص داده شد.

طبق گزارش صیفی آباد و همکاران شیوع ویروس برونشیت عفونی در کشور حدود ٤٢ درصد است که نشان دهنده بالا بودن میزان آلودگی با ویروس است(۱۲). البته باید توجه داشت که رقم ۸۲ درصد مربوط به مزارعی است که علائم بالینی بیماری را نشان داده بودند. تحقیق مشابه در مورد سویه های غالب در گردش داخل ایران نتایج مثبتی بالغ بر ۵۵٪ (۱۱/۲۰) را در میان نمونه های جمع آوری شده از ۲۰ مورد مشکوک نشان داده است (۱۳).

در حال حاضر برای پیشگیری از بیماری برونشیت عفونی، جوجه‌های گوشتی بر علیه این بیماری واکسینه می‌شوند. به طور معمول واکسیناسیون جوجه‌های تجاری درسن یک روزگی با واکسن زنده تخفیف حدت یافته انجام می گیرد. درامریکا بیشتر از سروتیپ ماساچوست، کانکتیکوت و ارکانزاس و در اروپا از سروتیپ هلند به منظور تولید واکسن های زنده استفاده کرده‌اند(۱). در ایران از واکسن‌های حاوی سویه های ٤/٩١، H120 و MA5 در ایمن سازی جوجه های گوشتی استفاده می‌شود (۱۲).

زمان مناسب واکسیناسیون بسته به شرایط محیطی وسایر عوامل متفاوت است. باید توجه کرد که جدایه های واکسن زنده ممکن است درشرایطی به شکل حاد و یا به واریانت‌های مختلفی از ویروس واکسن تبدیل شوند.

یکی از چالش‌های مهم در تشخیص برونشیت عفونی تمایز موارد مبتلا به سویه های وحشی از سویه‌های واکسن است. تشخیص عفونت به انجام آزمایش‌های سرمی و یا جداسازی و شناسایی ویروس بستگی دارد. روش های تشخیص مبتنی بر پاسخ پادتنی مانند ممانعت کننده هماگلوتینین(HI)، آزمون الایزا(ELISA) و خنثی سازی ویروس (VN) ممکن است مفید باشند، اما اغلب قادر به تفکیک پادتن‌های تولید شده بر علیه واکسن از پادتن‌های سویه‌های وحشی نیستند و تلاش‌ها در این زمینه بیشتر بر ویژگی‌های مولکولی و توالی نوکلئوتیدی ژن‌های خاصی از ویروس متمرکز بوده است(٤،١١، ١٣).

عمدتا تشخیص مستقیم و شناسایی ویروس از طریق واکنش زنجیره ای پلیمراز (RT-PCR) و تکنیک های توالی یابی (sequencing techniques) انجام می شود. البته پروتکل PCR–RT و تحلیل دقیق دمای شکافت (HRM) نیز برای تشخیص و طبقه بندی سویه های IBV مورد استفاده قرار گرفته است (١٤). این روش‌ها تاکنون بر اساس شناسایی ژن S1 ویروس و

www.SID.ir

Archive of SID

طبقه بندی سویه ها با تکیه بر تنوع توالی‌های این ژن طراحی شده‌اند. با این وجود گروه بندی براساس منطقه S1 برای شناسایی و تمایز سویه های وحشی از سویه های واکسن کافی و قابل اعتماد نیستند (۱۵;۱٤).

در رویکردهای اپیدمیولوژی مولکولی، تنوع زیاد در شاخص بررسی (ژن هدف) گیج کننده بوده و تنوع کم نیز با درجه پایینی از قدرت تفکیک پذیری سویه ها همراه است. مشکل تنوع زیاد و یا کم به این معنی است که احتمال کمی وجود دارد که یک نوع جدید، دارای مشخصات قابل اعتماد و متمایز برای طبقه بندی قابل استفاده باشد.

در نتیجه، با توجه به درجه بالایی از پلی مورفیسم، تعیین گروه های ژنتیکی متنوع بر اساس توالی S1، با تاریخ فیلوژنتیک سازگار نیست. در مطالعه حاضر، تشخیص بر اساس ژن پلی‌مراز وابسته به RNA یا RdRp صورت گرفت. این ژن برای اولین بار توسط ما برای تایپینگ ویروس مورد استفاده قرار گرفته است. انتخاب ژن RnRP مبتنی بر تحلیل های دقیق بیوانفورماتیک بود و می تواند اطلاعات جدیدی از تنوع ویروس و اختلافات گسترده سویه‌های واکسن و وحشی به دست دهد. تجزیه و تحلیل ژنتیکی RdRp می‌تواند در ردیابی تاریخ تکامل و مهاجرت ویروس مفید باشد. ژن رپلیکاز ویروس برونشیت عفونی تعیین کننده پاتوژنیسته بیماری نیز هست و توالی متمایز از سویه واکسن ممکن است منعکس کننده احتمال همبستگی بین این ژن و حدت ویروس باشد (۱٦). علاوه بر این داده‌های به دست آمده از ژن RdRp ممکن است برای طراحی و توسعه واکسن مناسب باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که روش تشخیص و توالی مستقیم بر اساس توالی ژن RdRp، قادر به شناسایی سویه های وحشی و سویه های واکسن بودند. تجزیه و تحلیل توالی نیز نشان داد که ٦ سویه کاملا متمایز از واکسن و سویه‌های گزارش شده در جهان در استان مازندران حضور دارند. مطالعه انجام شده بر روی سویه‌های برونشیت عفونی ایران در بین سال‌های ۲۰۱۰ تا ۲۰۱٤ که با داده‌های توالی ژن S1 ویروس تحلیل شده اند، هفت ژنوتیپ Mass, 793/B, IS720, Variant , 2, QX, IR-I, و IR-II گزارش شده اند (۱۱;۹;۷). در مقایسه با تنوع ویروسی شناسایی شده در کشور این حجم از تنوع ویروس در یکی از استان‌های کشور (مازندران) می‌تواند ناشی از دو عامل اصلی در بروز سویه‌های جدید باشد. عامل اول تراکم مزارع پرورشی (۲٤۰۰ مزرعه) در مساحت کم است که گردش و بقای ویروس را تضمین می‌کند. عامل دوم استفاده گسترده و مکرر از واکسن است که احتمال بازگشت به حدت سویه واکسن و یا نوترکیبی ویروس وحشی و ویروس واکسینال بالا می‌برد (۲،٤،٦،۱۷). حضور پادتن‌های ناشی از واکسن نیز به خودی خود عاملی برای گریز سویه‌های موتانت از پاسخ دستگاه ایمنی و بروز تنوع بیشتر در سویه‌های وحشی است. این دو عامل نقشی کلیدی در بقا و تنوع ویروسی دارند که رونوشت برداری RNA آن تابع اصلاح خوانش (Proof reading) نیست (۱۸). حضور سویه وحشی ٦ در مزارعی که از واکسن‌های متنوعی برای ایمن سازی استفاده کرده‌اند (جدول ۱) به فرضیه‌ی ظهور سویه‌های جدید در نتیجه واکسیناسیون قوت می‌بخشد.

در پایان خاطر نشان می گردد که روش تشخیص بر مبنای ژن پلی مراز ویروس برونشیت باتوجه به تنوع مناسب از امکانات بیشتری برای تایپینگ ژنتیکی ویروس در مناطق جغرافیایی گوناگون و تفکیک سویه ویروس وحشی از سویه واکسن برخوردار است.

www.SID.ir

Archive of SID

فهرست منابع

1. Najafi H, Ghalyanchi LA, Hashemzadeh M, Karimi V, Madadgar O, Khaltabadi FR, et al. Pathogenicity study of Iranian genotype of avian infectious bronchitis virus (IR-1). Vet Res Forum 2017;8(1):35-41.

2. Okino CH, Mores MA, Trevisol IM, Coldebella A, Montassier HJ, Brentano L. Early immune responses and development of pathogenesis of avian infectious bronchitis viruses with different virulence profiles. PLoS One. 2017;12(2):e0172275.

3. Dhama K, Singh SD, Barathidasan R, Desingu PA, Chakraborty S, Tiwari R, et al. Emergence of Avian Infectious Bronchitis Virus and its variants need better diagnosis, prevention and control strategies: a global perspective. Pak J Biol Sci 2014 Jun;17(6):751-67.

4. Fraga AP, Graf T, Pereira CS, Ikuta N, Fonseca ASK, Lunge VR. Phylodynamic analysis and molecular diversity of the avian infectious bronchitis virus of chickens in Brazil. Infect Genet Evol 2018 Jul;61:77-83.

5. Jiang L, Han Z, Chen Y, Zhao W, Sun J, Zhao Y, et al. Characterization of the complete genome, antigenicity, pathogenicity, tissue tropism, and shedding of a recombinant avian infectious bronchitis virus with a ck/CH/LJL/140901-like backbone and an S2 fragment from a 4/91-like virus. Virus Res 2018 Jan 15;244:99-109.

6. Bande F, Arshad SS, Omar AR, Hair-Bejo M, Mahmuda A, Nair V. Global distributions and strain diversity of avian infectious bronchitis virus: a review. Anim Health Res Rev 2017 Jun;18(1):70-83.

7. Khataby K, Fellahi S, Loutfi C, Mustapha EM. Avian infectious bronchitis virus in Africa: a review. Vet Q 2016 Jun;36(2):71-5.

8. Jakhesara SJ, Nath B, Pal JK, Joshi CG, Kumar S. Emergence of a genotype I variant of avian infectious bronchitis virus from Northern part of India. Acta Trop 2018 Jul;183:57-60.

9. Li TT, Li JY, Huang T, Ge XY. Complete Genome Sequence of a Novel Strain of Infectious Bronchitis Virus, Isolated from Chickens in China in 2016. Genome Announc 2017 Nov 9;5(45).

10. Aghakhan S, fshar M, Fereidouni N, Manuresi C, Khodashenas M. Studies on avian viral infections in Iran. Archive de L, Institute Razi 1994;44(45):1-10.

11. Hosseini H, Fard MH, Charkhkar S, Morshed R. Epidemiology of Avian Infectious Bronchitis Virus Genotypes in Iran (2010-2014). Avian Dis 2015 Sep;59(3):431-5.

12. Seyfi Abad Shapouri MR, Mayahi M, Charkhkar S. A survey of the prevalence of infectious bronchitis virus type 4/91 in Iran. Acta Vet Hung 2004;52(2):163-6.

13. Masoudian A, Sheikhi N, Bozorgmehri-Fard MH. Identification of new avian Infectious Bronchitis virus variants in Iranian poultry flocks by High Resolution Melting curve analysis. Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society 2018; 69(1):783-90.

14. Hewson KA, Browning GF, Devlin JM, Ignjatovic J, Noormohammadi AH. Application of high-resolution melt curve analysis for classification of infectious bronchitis viruses in field specimens. Aust Vet J 2010 Oct;88(10):408-13.

15. Hewson K, Noormohammadi AH, Devlin JM, Mardani K, Ignjatovic J. Rapid detection and non-subjective characterisation of infectious bronchitis virus isolates using high-resolution melt curve analysis and a mathematical model. Arch Virol 2009;154(4):649-60.

16. Armesto M, Cavanagh D, Britton P. The replicase gene of avian coronavirus infectious bronchitis virus is a determinant of pathogenicity. PLoS One 2009 Oct 9;4(10):e7384.

17. Okino CH, Montassier MFS, Oliveira AP, Montassier HJ. Rapid detection and differentiation of avian infectious bronchitis virus: an application of Mass genotype by melting temperature analysis in RT-qPCR using SYBR Green I. J Vet Med Sci 2018 Apr 27;80(4):725-30.

www.SID.ir

Archive of SID

18. Mousavi FS, Ghalyanchilangeroudi A, Hosseini H, Nayeri FB, Ghafouri SA, Abdollahi H, et al. Complete genome analysis of Iranian IS-1494 like avian infectious bronchitis virus. Virusdisease 2018 Sep;29(3):390-4.

www.SID.ir