



در نشریه دامپزشکی

پژوهش و سازندگی شماره ۱۱۵ تابستان ۱۳۹۶

DOI: 10.22034/vj.2017.109222

شناسایی آلودگی جوجه‌های گوشتی به سویه‌های بسیار حاد بیماری بورس قبل از واکسیناسیون

• عبدالحمید شوشتری

بخش تحقیقات بیماری‌های ویروسی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم

سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: خرداد ۹۵ تاریخ پذیرش: تیر ۹۵

Email: hamid1342ir@yahoo.com



چکیده

در این مطالعه آلودگی گله‌های گوشتی به ویروس بیماری بورس عفونی قبل از واکسیناسیون مورد بررسی قرار گرفت. از ۲۵ گله مرغ گوشتی در استان تهران ۱۰ پرنده ۱۲-۱۰ روزه قبل از واکسیناسیون انتخاب و پس از وزن‌کشی نمونه‌های بورس گرفته شد. نمونه‌های بورس اخذ شده؛ جهت ردیابی ویروس با آزمایشات مولکولی RT-PCR مورد استفاده قرار گرفتند. نتایج آزمایشات RT-PCR که با استفاده از پرایمرهای اختصاصی؛ قطعه‌ی ۶۴۳ جفت بازی از منطقه‌ی متغیر VP۲ تکثیر شد؛ نشان داد که دو گله ۴ و ۹ از نظر وجود ژنوم ویروس بیماری بورس عفونی مثبت بودند. برای شناخت بیشتر ویروس ردیابی شده چگونگی هضم آنزیمی محصولات PCR توسط آنزیمهای اندونوکلیئاز SspI و SacI مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج هضم آنزیمی نشان داد که محصولات PCR به دست آمده از نمونه‌های ۴ و ۹ توسط آنزیم SacI شکسته نشد. با این همه آنزیم SspI توانست تنها محصولات PCR یکی از جدایه‌ها را برش دهد (گله ۹) در حالی که نمونه ۴ توسط این آنزیم هضم نشد. میانگین شاخص بورس این دو گله کمتر از گله‌های آلوده نشده بود منتهی تنها شاخص بورس گله‌ی ۴ به طور معنی‌دار از گله‌های غیر آلوده کمتر بود ($p < 0.001$). با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان اظهار داشت که امکان آلوده شدن گله‌های مرغ گوشتی به ویروس‌های بسیار حاد این بیماری قبل از واکسیناسیون وجود دارد.

کلمات کلیدی: ویروس بیماری بورس عفونی، جوجه‌های گوشتی، FLP- Nested PCR- RT-PCR، شاخص بورس

• Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 115 pp: 42-49

Survey to Detect Very Virulent Infectious Bursal Disease in Broiler Flocks Before Vaccination

By: Shoushtari, A H., Department of Poultry Viral Diseases, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran-Iran.

Received: 2016-06-09 Accepted: 2016-06-27

Emali: hamid1342ir@yahoo.com

This study was conducted to detect the infection with infectious bursal disease virus (IBDV) in broiler flocks before vaccination in Tehran province. Ten birds of 10 to 12 days olds from each 25 boiler flocks were selected. The mean bursal indexes of all flocks were determined. To detect IBDV genome in bursal samples a RT – PCR test targeting a 643 base pairs segment in VP2 gene were conducted. Two flocks(samples 1 and 2) were positive indicating IBDV infection. For Further identification of IBDV, the RT-PCR products were incubated to be digested by endonuclease enzymes SacI and SspI respectively. The RT-PCR products of positive samples (samples 4 and 9) remained undigested when were incubated with SacI, an indication for non vaccinal viruses. However only the RT-PCR products of sample 9 could be digested by SspI as the RT-PCR of samples 4 remained undigested. Although the mean bursal indexes of these two infected flocks were less than those of noninfected ones, however only mean bursal indexes of the flock 4 were significantly different from those of non-infected flocks. In conclusion, this study showed that infection of broilers with very virulent pathotype of IBDV is probable before vaccination.

Key words: Infectious bursal disease virus, Broilers, FLP- Nested PCR- RT-PCR, Bursal Index

مقدمه

بیماری بورس عفونی (Infectious bursal disease) که گامبورو نیز نامیده می‌شود، بیماری بسیار واگیردار در جوجه‌های جوان می‌باشد. عامل بیماری ویروسی متعلق به خانواده بیرناویریده (Birnaviridae) و جنس Avibirnavirus می‌باشد. جوجه‌ها در سن ۳-۶ هفته به بیماری بالینی حساس تر هستند (۱۷). با توجه به سن جوجه‌ها و یا سروتیپ و سویه ویروس این بیماری بصورت کلینیکی یا بصورت سرکوب سیستم ایمنی بروز می‌کند. دو سروتیپ در جنس اوبییرناویروس وجود دارند که تنها سروتیپ باعث بیماری می‌شود. سویه‌های سروتیپ ۱ را می‌توان به چهار گروه سویه‌های کلاسیک حاد (Virulent classic strains)، سویه‌های تخفیف حدت داده شده (Attenuated strains)، سویه‌های واریانت (Variant strains) و سویه‌های بسیار حاد (Very Virulent strains) تقسیم کرد (۳ و ۱۵ و ۱۶). اهمیت اقتصادی این بیماری به دو دلیل می‌باشد، اولاً برخی سویه‌های ویروس در جوجه‌های با سن ۳ هفته و بالاتر باعث تلفات بیش از ۲۰ درصد می‌گردد و ثانیاً در سنن پایین تر موجب تضعیف سیستم ایمنی به مدت طولانی می‌شود، که صدمات اقتصادی بیشتری دارد و به دنبال آن عواقبی نظیر عدم پاسخ مناسب سیستم ایمنی طیور به برنامه‌های واکسیناسیون و بروز بیماری‌های مختلف می‌شود. بنابراین محافظت جوجه‌های جوان در برابر عفونت اولیه کار بسیار مهمی است و این کار معمولاً با انتقال عیارهای مادران واکسینه به جوجه‌هایی که جدیداً از تخم درآمده‌اند انجام می‌گیرد

(۱۱ و ۱۲).

در سال ۱۹۸۷ سویه‌های بسیار حاد بیماری عفونی بورس در اروپا ظاهر شدند که قادر به ایجاد مرگ و میری به میزان ۶۰ تا ۱۰۰ درصد بودند. این سویه‌ها به سرعت به دیگر قاره‌ها مثل آسیا، استرالیا و امریکای جنوبی گسترش پیدا کردند. این سویه‌ها جراحی‌های شبیه جراحی‌های معمول بیماری عفونی بورس ایجاد کرده و از لحاظ آنتی‌ژنتیکی بسیار شبیه سویه‌های کلاسیک هستند (۴ و ۲۶ و ۲۷). نخستین گزارش این بیماری در ایران توسط آقاخان و همکاران در سال ۱۹۸۱ انجام گرفت که توانستند ویروس گامبورو را در ایران جدا کنند. این ویروس با نام G ۳۳۷۲/۸۱ و جزء سروتیپ (I) و از انواع بیماری‌زای کلاسیک بود (۲). وقوع سویه‌های خیلی حاد ویروس بورس عفونی (vvIBDV) در ایران اولین بار در سال ۱۹۹۱ صورت گرفت (۱). بعد از آن نیز در دو مطالعه دیگر نیز این سویه‌ها در ایران شناسایی و تایید شد (۶ و ۱۷).

به دلیل اهمیت سویه‌های بسیار حاد از لحاظ ایجاد مرگ و میر در گله‌های بیش از ۳ هفته، در چندین مطالعات انجام شده در کشور در مورد سویه‌های بسیار حاد بیماری بورس عفونی، پاتوژنیسیته و نیز ویژگی‌های مولکولی این ویروس‌ها بیان شده است (۱۵ و ۱۹ و ۲۲). اما گزارشی از بروز بیماری در کشور ما در سنن کمتر از ۳ هفته که جوجه به شکل کلینیکی بیماری حساس نیستند و بیماری در این سن منجر به سرکوب ایمنی می‌شود وجود ندارد.

از آزمایش RT-PCR با استفاده از کیت یک مرحله ای Titan one tube RT-PCR، ساخت شرکت Roche کشور آلمان استفاده شد. در این آزمایش، یک قطعه ی ۶۴۳ جفت بازی (bp) از ژن VP2 با استفاده از پرایمرهای

Forward-5' - TCACCGTCCTGTCCTCAGCT-
 TCAGGATTTGGGATC- 5' و (TAC-3'(587-604) -
 GC-3'(1212-1229) Reverse انجام گرفت (۱۹).

ن. PCR آشیانه ای (Nested-PCR)

محصولات PCR نمونه های مثبت به نسبت ۱ به ۱۰ و محصولات PCR نمونه های منفی بدون رقیق سازی در واکنش Nested-PCR جهت تکثیر یک قطعه ی (۵۵۲ جفت بازی، bp) مورد استفاده قرار گرفت. پرایمرهای مورد استفاده شامل 5' (1212-1229) GC-3' TCAGGATTTGGGATCGC- و Forward-5' - CTCACCCAGCGACCGATAAC- Reverse-5' (1179-1202) GACG-3' می باشد (۱۹).

و. هضم آنزیمی (Restriction fragment length polymorphism (RFLP))

به منظور بررسی چگونگی هضم آنزیمی محصول PCR توسط دو آنزیم SspI و SacI (شرکت فرماتز) به ترتیب ۳ میکرولیتر از بافر، ۲ واحد آنزیم، ۱ میکروگرم محصول PCR و تا ۳۰ میکروگرم آب مقطر در یک تیوب ریخته شد و به مدت ۳ ساعت در ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه گردید. در نهایت، محصول نهایی از هضم آنزیمی، در ژل آگاروز ۲ درصد قرار داده شد و الکتروفورز انجام شد، نتایج بصورت عکس برداری قرائت و ثبت شد (۸).

ه. آنالیز آماری

جهت توصیف داده ها، در مورد داده های کیفی، فراوانی و فراوانی نسبی آن و در مورد داده های کمی، میانگین و انحراف معیار آنها بیان شد. جهت مقایسه میانگین های شاخص بورس و نیز میانگین عیار پادتن مادری گله های مختلف از آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون تکمیلی توکی (Tukey) استفاده شد. (p < ۰/۰۵) به عنوان سطح معنی داری در نظر گرفته شد (۲۰).

نتایج

الف. واکنش زنجیره ای پلی مراز - رونوشت برداری معکوس (-RT-PCR) از نمونه های ۲۵ مزرعه آزمایش شده، نمونه های ۲ مزرعه (۸ درصد) مثبت بودند (شکل ۱).

ب. واکنش زنجیره ای پلی مراز آشیانه ای (Nested-PCR): این آزمایش روی محصولات PCR تمام نمونه ها انجام شد و در این آزمایش نیز مانند آزمایش RT-PCR فقط نمونه های همان دو مزرعه مثبت بودند (شکل ۱).

ج. هضم آنزیمی (-RFLP PCR)

در این آزمایش محصولات PCR-Nested مورد هضم آنزیمی قرار گرفتند. آنزیم SacI نتوانسته است محصولات PCR دو جدایه ی مثبت شده

با توجه به نقش بورس پرندگان در توسعه ایمنی اکتسابی از یک طرف و امکان آلوده شدن به این ویروس ها قبل از ۲۰ روزگی و تخریب بورس و به تبع آن عدم ایجاد ایمنی در برابر سایر بیماری ها از طرف دیگر و در نتیجه حساس بودن پرندگان به سایر بیماری های عفونی این مطالعه با هدف بررسی وجود بیماری به صورت تحت بالینی ناشی از آلودگی به سویه های بسیار حاد این ویروس در گله های گوشتی قبل از واکسیناسیون می باشد.

مواد و روش کار

الف. طرح مطالعه و نمونه گیری

این مطالعه به صورت مقطعی انجام گرفت. جامعه آماری مورد مطالعه، مزارع پرورش مرغ گوشتی استان تهران بودند. در این تحقیق از ۲۵ مزرعه مرغ گوشتی که در دوره های پرورش قبلی سابقه ای از ابتلا به بیماری گامبور را داشته نمونه برداری انجام شد. در هر گله در سن ۱۲-۱۰ روزگی و قبل از انجام واکسیناسیون از ۱۰ پرنده نمونه برداری انجام گرفت. کلیه آزمایشات در آزمایشگاه ویروس شناسی بخش تحقیقات بیماریهای ویروسی طیور موسسه رازی انجام گرفت.

ب. تعیین اندکس وزن بورس

پرنده ها بعد از وزن کشی، خون گیری و به روش انسانی کشته شدند و بعد از کالبدگشایی بورس هر کدام خارج شد و وزن آن ثبت گردید و برای ردیابی ویروس مورد استفاده قرار گرفت. شاخص بورس برای هر پرنده با استفاده از فرمول مربوطه (۱۰۰۰ × (وزن بدن / وزن بورس) = شاخص بورس) محاسبه گردید (۸).

ج. آماده سازی نمونه ها و تزریق به تخم مرغ جنین دار SPF

هر ۵ بورس با یکدیگر مخلوط شد با استفاده از بافر سیلین وسیله هموژنایزر (Broodwire) و آنتی بیوتیک ها (پنی سیلین IU/ml ۱۰/۰۰۰، دی هیدرو استرپتومایسین mg/ml ۱۰/۰۰۰)، محلول هموژنیزه ی (۱۵-۱۰ درصد) تهیه شد. محلول هموژنیزه تهیه شده بعد از ۳ بار انجماد و ذوب (Freeze & Thaw)، به مدت ۵ دقیقه در سانتریفوژ دور ۳۰۰۰ قرار داده شد و سپس مایع بالای (حاصل از صلابه ی بورس فابریسیوس) برداشته شد (۸). مایع حاصل از سانتریفوژ به ۵ تخم مرغ جنین دار SPF (۱۰ تا ۱۱ روزه) تولید شرکت venky's هندوستان روی پرده ی کوریوآلنتوئیک (CC) ۰/۲ به ازای هر تخم مرغ) تلقیح شد. تمام نمونه های منفی تا سه بار پاساژ داده شدند.

د. استخراج RNA

از کیت تجاری (High pure vired Nucleic Acid) Roche, Germany kit جهت استخراج اسید نوکلئیک از مایع هموژنیزه حاصل از سانتریفوژ، بر اساس روش توصیه شده کارخانه سازنده استفاده گردید. RNA استخراج شده توسط قرائت جذب نوری در طول موج های ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت (۸).

ر. آزمایش Reverse transcription- polymerase chain reaction (RT-PCR)

برای رد یابی وجود ژن VP2 ویروس بیماری بورس عفونی (IBDV)

خونریزی ضخیم در بعضی پرده‌های کوریوآلاتوتیک، پرخونی و خونریزی روی تمام سطح پوست و بیشتر در قسمت‌های انتهایی دست و پا و سر، ادماتوز و پر خون بودن جنین، پرخونی و نکروز کبد و در بعضی موارد قلب کاملاً حالت رنگ پریده داشت.

ه. شاخص وزن بورس

جدول ۱ شاخص وزن بورس را در گله‌های تحت مطالعه نشان می‌دهد. در این جدول میانگین شاخص بورس در دو گله مثبت در واکنش RT-PCR از لحاظ وجود ژن ویروس IBDV (۴ و ۹) کمتر از سایر گله‌هاست. اما فقط میانگین شاخص وزن بورس گله شماره ۴ از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با سایر گله‌ها داشت ($p < 0/001$).

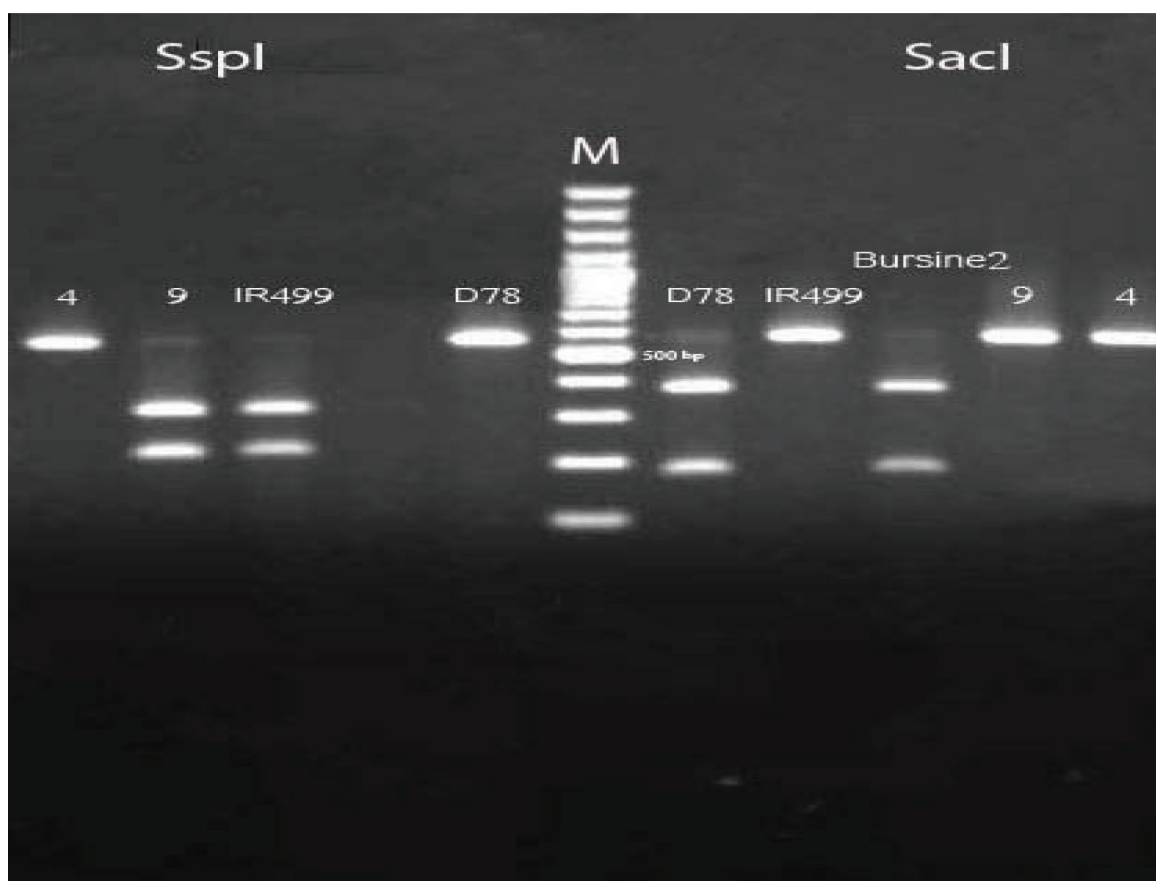
بحث

براساس نتایج بدست آمده از این مطالعه، وجود آلودگی به سویه‌های بسیار حاد بیماری ویروس بورس عفونی (vvIBDV) در جوجه‌های گوشتی در دوره‌ی رشد (در سن ۱۰ تا ۱۲ روزگی و قبل از واکسیناسیون) مشخص

در آزمایشات قبلی (۴ و ۹) را برش دهد که این از مشخصات جدایه‌های فوق حاد ویروس بیماری بورس عفونی (vvIBDV) می‌باشد، هم چنین این آنزیم نتوانسته است محصولات PCR مربوط به ویروس IR499 که یک ویروس ایرانی بسیار حاد بیماری بورس عفونی می‌باشد (۱۹) را هضم کند. در حالیکه این آنزیم نتوانسته است محصولات PCR دو سویه واکسینال D۷۸ و Bursine۲ را هضم کند. همچنین آنزیم SspI نتوانسته است تنها محصول PCR جدایه‌ی شماره‌ی ۹ را برش دهد و محصول PCR جدایه‌ی شماره ۴ توسط این آنزیم برش داده نشد. محصولات PCR مربوط به ویروس IR۴۹۹ نیز توسط این آنزیم برش خورده است (شکل ۱).

و. نتایج حاصل از تلقیح به تخم مرغ‌های جنین‌دار SPF

در این آزمایش نیز فقط نمونه‌های دو مزرعه مثبت قبلی در RT-PCR، در کشت تخم مرغ مثبت بودند. یکی از نمونه‌ها پس از اولین پاساژ (شماره ۴) و نمونه دیگری بعد از دومین پاساژ (شماره ۹) در جنین ایجاد علائم و تلفات کردند (شکل ۲). ضایعات ایجاد شده در جنین شامل آثار



شکل ۱- الکتروفورز محصولات PCR بعد از هضم آنزیمی، مارکر ۱۰۰ جفت بازی M

تکثیر شد که هویت ویروس مورد مطالعه را به عنوان ویروس بیماری بروس عفونی مشخص کرد.

گرچه تکثیر قطعات ژنومی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی، هویت ویروس را بطور کلی مشخص می سازد ولی خود به تنهایی اطلاع دقیقی از جمله حدت ویروس نمی دهد. در این مطالعه برای شناخت بیشتر ویروس مورد مطالعه (vvIBDV)، چگونگی هضم آنزیمی تکثیر شده محصولات (اصطلاحاً محصولات PCR) توسط آنزیم های اندونوکلاز مورد مطالعه قرار گرفت. مطالعه هضم آنزیمی محصولات PCR حاصل از تکثیر منطقه بسیار متغیر ژن VP2 توسط محققین متعددی انجام شده است (۳ و ۴ و ۲۸). در بررسی حاضر جهت بهبود محصولات PCR، پس از تکثیر محصولات ۶۴۳ جفت بازاری از این محصولات با روش PCR آشیانه ای، محصولات ۵۵۲ جفت بازی تهیه شد و این محصولات درمورد چگونگی هضم آنزیمی مورد مطالعه قرار گرفتند. آنزیم های بکاررفته در این بررسی آنزیم های SacI، SspI بودند. که برای تشخیص سویه های واکسینال از سویه های بسیار حاد بیماری ویروس بروس عفونی استفاده شدند. آنزیم نتوانست محصولات PCR دو جداییه ی ۴ و ۹ را برش دهد، که این از مشخصات جداییه های فوق حاد ویروس بیماری بروس عفونی (vvIBDV) می باشد، با این همه آنزیم SspI توانست تنها محصول PCR جداییه ی شماره ۹ را برش دهد و محصول

شد. چندین گزارش از جداسازی و شناسایی این ویروس ها در کشور وجود دارد (۱، ۲، ۱۵، ۱۰، ۲۰۲۲). ظهور سویه های بسیار حاد ویروس بیماری بروس عفونی (vvIBDV) در اواخر دهه ۸۰ در اروپا و گسترش سریع آن به آسیا در اوایل دهه ۹۰ چالش جدید و جدی در مقابل برنامه واکسیناسیون موجود قرارداد (۱۱ و ۱۲ و ۲۴). ظهور دوباره ی فرم های واریانت یا بسیار حاد متعاقب با شکست واکسیناسیون علت اصلی ضررهای اقتصادی عمده وارد شده به صنعت پرورش طیور است. با ظهور سویه های بسیار حاد، واندنبرگ و همکاران (۱۹۹۱) و واندنبرگ (۲۰۰۰) گزارش دادند که این سویه ها قادرند سد ایمنی مادری را بسیار زودتر از سویه های کلاسیک حاد و البته سویه های متوسط واکسن شکسته و باعث ضایعات و مرگ و میر پس از آن در سطح گله شوند (۵ و ۲۶). همچنین فاراگر و همکاران (۱۹۷۴) گزارش کرده اند، اثر سرکوب ایمنی در سنین پایین تر از سنین بالاتر شدیدتر است (۱۴). نانویا و همکاران نیز گزارش کردند که به علت انتشار ویروس های بسیار حاد بیماری بروس عفونی در ژاپن و آلودگی گله ها به این ویروس ها، بروز نیوکاسل حاد و آلودگی های باکتریایی گسترده قابل توضیح است (۷). تکثیر قطعات ژنتیکی یک ویروس ناشناخته به کمک پرایمرهای اختصاصی و با روش PCR می تواند هویت آن ویروس را مشخص کند. در این مطالعه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی محصولات PCR ۶۴۳ جفت بازی (bp)



شکل ۲- در هر دو جنین ضایعات به صورت قلب نیمه پخته، نکروز وسیع کبد و خونریزی گسترده روی جنین مشاهده می شود.

بنابراین جدایه‌های ۴ و ۹ هر دو مثبت و جزء جدایه‌های فوق حاد بیماری ویروس بارس عفونی هستند.

شاخص بارس یکی از مشخصه‌های مهم تشخیص به شمار می‌رود. اندازه گیری شاخص بارس، اثرات احتمالی توسط سویه‌های بسیار حاد را روی بارس مشخص می‌سازد (۷). میانگین شاخص بارس در دو گله آلوده به ویروس‌های بسیار حاد بیماری بارس عفونی کمتر از سایر گله‌های نمونه‌برداری شده بود اما این میانگین فقط در یک گله (گله شماره ۴) از لحاظ آماری کمتر از سایر گله‌ها بود. بنابراین به نظر می‌رسد پایین بودن شاخص بارس در این دو گله مربوط به آلودگی به ویروس بیماری بارس عفونی می‌باشد. از طرفی پایین بودن میانگین شاخص بارس در یک گله مثبت نسبت به گله‌ی مثبت دیگر احتمالاً می‌تواند به دلیل متفاوت بودن زمان آلوده شدن این دو گله باشد و گله‌ی دارای شاخص کمتر زودتر از گله‌ی دیگر به ویروس آلوده شده باشد و در نتیجه‌ی اثرات مخرب ویروس در آتروفی بارس در زمان نمونه‌گیری باشد.

با توجه به اینکه سویه‌های بسیار حاد می‌توانند بسیار زودتر از سویه‌های واکسن، سد ایمنی مادری را شکسته و پرنده را مبتلا سازند، اثری که بصورت کاهش مقاومت در برابر بیماری‌ها یا عدم تأثیر مناسب سایر واکسن‌ها و شکست واکسیناسیون بروز خواهد کرد. و نتیجه‌ی آن، درگیری مداوم مخصوصاً با مشکلات تنفسی و کاهش عملکرد گله و در

PCR جدایه‌ی شماره ۴ توسط این آنزیم برش داده نشد. در مطالعات هضم آنزیمی آنچه که باید مورد توجه قرار گیرد محدوده‌ی منطقه‌ی جغرافیایی مورد مطالعه می‌باشد. این بدان معنی است که ضمن پذیرفتن یک قاعده در مورد هضم آنزیمی محصولات مشخص PCR توسط یک آنزیم بخصوص، باید به استثناهای هم توجه کرد. مثلاً موارد SspI منفی در بعضی از سویه‌های حاد گزارش شده است. طرفی گزارش کرده است که بعضی از سویه‌های کلاسیک حاد هند SspI مثبت هستند (۲۲). همچنین یک سویه بسیار حاد آفریقایی SspI مثبت می‌باشد (۹). زرنبرگ و همکاران (۲۰۰۱) اختلاف بین سویه‌های بسیار حاد از سویه‌های کلاسیک حاد را با استفاده از هضم SspI گزارش کرده‌اند. با توجه به این که این استثناهای معمولاً در مورد یک آنزیم رخ می‌دهد، لذا توصیه می‌گردد هضم آنزیمی با بیش از یک آنزیم انجام گیرد (۱۳). بررسی این مطالعه نشان می‌دهد آنچه در مورد سویه‌های بسیار حاد یعنی مثبت بودن هضم آنزیمی در مورد آنزیم SspI و منفی بودن هضم آنزیمی در مورد آنزیم SspI گفته شده در مورد یکی از جدایه‌های این مطالعه صدق نمی‌کند. بدین معنی که بر خلاف گزارش قبلی در مورد جدایه‌های vvIBDV جدایه‌هایی در ایران یافت می‌شود که توسط آنزیم SspI هضم نمی‌شوند. بر اساس اینکه در مورد آنزیم SspI استثنایی گزارش نشده است (۹ و ۲۳) و این آنزیم هیچ کدام از جدایه‌های ۴ و ۹ را هضم نمود، پس می‌توان در ایران هضم توسط آنزیم SspI را ملاک قرار داد.

جدول ۱- میانگین و انحراف معیار شاخص وزن بارس در گله‌های تحت مطالعه

شماره گله	میانگین شاخص بارس	انحراف معیار شاخص بارس	شماره گله	میانگین شاخص بارس	انحراف معیار شاخص بارس
۱	۱/۶۳	۰/۲۰	۱۴	۱/۶۶	۰/۱۷
۲	۱/۶۸	۰/۱۸	۱۵	۱/۷۶	۰/۲۳
۳	۱/۷۱	۰/۲۵	۱۶	۱/۸۱	۰/۱۵
۴	۱/۰۴	۰/۲۶	۱۷	۱/۶۵	۰/۱۸
۵	۱/۷۰	۰/۱۹	۱۸	۱/۷۹	۰/۲۷
۶	۱/۶۲	۰/۱۹	۱۹	۱/۷۸	۰/۳۳
۷	۱/۷۵	۰/۲۰	۲۰	۱/۷۲	۰/۲۹
۸	۱/۷۰	۰/۲۵	۲۱	۱/۷۵	۰/۲۵
۹	۱/۴۵	۰/۴۷	۲۲	۱/۶۷	۰/۲۳
۱۰	۱/۹۱	۰/۳۷	۲۳	۱/۸۰	۰/۲۱
۱۱	۱/۸۱	۰/۲۵	۲۴	۱/۸۳	۰/۱۳
۱۲	۱/۸۴	۰/۲۲	۲۵	۱/۷۷	۰/۱۹
۱۳	۱/۸۷	۰/۱۴			

ogy, *Microbiology & Infectious Diseases*. 31: 11–23.

10- Kabell IS, K. J., Handberg I, Y. Li, M. Kusk and M. Bisgaard (2005). Detection of vvIBDV in vaccinated SPF chickens. *Acta Veterinaria Scandinavica*. 46, 219-227.

11- Lasher H.N., and S.M. Shane (1994). "Infectious bursal disease", *World Poultry Science Journal*, 50: 133–165.

12- Lasher H.N., and V.S. Davis (1997). "History of infectious bursal disease in the U.S.A – The first two decades", *Avian Disease*, 41: 11-19.

13- Liu H.J., J.J. Giambone and T. Dormitorio (1994). "Detection of genetic variations in serotype I isolates of infectious bursal disease virus using polymerase chain reaction and restriction endonuclease analysis", *Journal Virological Methods*, 48: 281-291.

14- Nunoya T., Y. Otaki, M. Tajima, M. Higara and T. Saito (1992). "Occurrence of acute infectious bursal disease with highly mortality in Japan and pathogenicity of field isolates in SPF chickens", *Avian Disease*, 36: 597–609.

15- Razmyar B.J. and Peighambari S. M (2010). Molecular Characterization of Iranian Infectious Bursal Disease Viruses. *Avian Diseases*. 52:665–669, 2008.

16- Schnitzler D., F. Bernstein, H. Muller and H. Becht (1993). The genetic basis for the antigenicity of the VP2 protein of the infectious bursal disease virus. *Journal General Virology*, 74 :1563-1571.

17- Shamsara, M., S. A. Ghorashi, and G. Ahmadian. Cloning and nucleotide analysis of the VP2 gene of a very virulent infectious bursal disease virus isolate from Iran. *Acta virologica*. 50:229–234. 2006.

18- Sharma, J. M., I. J. Kim, S. Rautenschlein, and H. Y. Yeh. (2000). Infectious bursal disease virus of chickens: pathogenesis and immunosuppression. *Developmental & Comparative Immunology*. 24:223–235.

19- Shoushtari, A.H., Pourbakhsh, S.A., Dadras, H.A., Bahmani M., Toroghi R. (2005). Pathogenicity study and restriction enzyme profile of a recently isolated infectious bursal disease virus in Iran, *Archives of Razi Institute*, 58:9-18.

20- Shoushtari, A.H., Pourbakhsh, S.A., Dadras, H.A., Husseini, (2003) Evaluation of an experimental inactivated infectious bursal disease virus vaccine using a local very virulent pathotype strain. *Archives of Razi Institute*, 56:47-58.

21- Stuart Y.C., (1989). "Acute infectious bursal disease in poultry", *Veterinary Record*, 125: 281.

22- Toroghi R., Kataria J and Balamurugan. M, V(2003). Differentiation of classical very virulent strain of infectious bursal disease. *Virus . Acta virologica* 47: 259 –263

نتیجه زیان های اقتصادی است.

در نهایت اینکه پیشنهاد می شود، اقداماتی جهت پیشگیری از شیوع بیماری در گله ها در سنین پایین انجام شود. از جمله توجه به زمان مناسب واکسیناسیون در گله های گوشتی و واکسیناسیون کارآمدتر در گله های مادر که عیار بالاتر و طولانی تری از عیارهای مادری در جوجه را القا کند. تهیه واکسن های با منشأ بورس که تولید عیارهای بیشتری را القاء می کند، تولید و استفاده از واکسن های روغنی کارتر علیه سویه های حاد بیماری، تولید واکسن هایی که هم به این سویه ها قرابت آنتی ژنی بیشتری داشته (سویه های فیلد) و هم قادر باشند تولید عیار بیشتری را در مرغ های مادر القاء کنند و به تبع آن میزان بالاتری آنتی بادی مادری به جوجه ها منتقل گردد از دیگر اقدامات مناسب می باشد (۱۰).

منابع مورد استفاده

- 1- Aghakhan, S.M., N. Abshar, S.R. Fereidouni, C. Marunesi, and M. Khodashenas (1994). "Studies on avian viral infectious bursal disease in Iran", *Archives de L'Institute Razi*, 44/45: 1-5.
- 2- Aghakhan, S.M., S.R. Fereidouni, N. Abshar, C. Marunesi, and Z. Sami (1996). "Characterization of a highly virulent infectious bursal disease virus", *Archives de L'Institute Razi*, 46/47: 55-63
- 3- Etteradossi N and Saif Y.M (2013). Infectious bursal disease. pp:219-246. Swayne D E. Disease of poultry , 13th ed. Iowa 50010, USA: Blackwell Publishing Ltd. Iowa
- 4- Etteradossi N., G. Rivallan, D. Toguini and M. Guittet (1997b). "Limited antigenic variation among recent infectious bursal disease virus isolates from France", *Archive of Virology*, 142: 267–2087.
- 5- Faragher J.T., W.H. Allan, and C.J. Wyeth, (1974). "Immunosuppressive effect of infectious bursal agent on vaccination against Newcastle disease", *Veterinary Record*, 95: 385–388.
- 6- Hosseini, S. D., A. R. Omar, and I. Aini. Molecular characterization of an infectious bursal disease virus isolate from Iran. *Acta virologica*. 48:79–83.2004.
- 7- Jackwood D.J., and R.J. Jackwood (1997). "Molecular identification of infectious bursal disease virus strains", *Avian Disease*, 41: 97– 104.
- 8- John K Rosenberger , Y.M. Saif, and Daral J. Jackwood . Infectious bursal disease virus (2008) ,P: 188-190 in Dufour-Zavala Louise et al A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and characterization of Avian Pathogen. Wagner B, Gardner I, Cameron A, and Doherr M G. (2003). Statistical analysis of data from surveys, monitoring, and surveillance systems. pp:67-86. Salman M.D. Animal Disease Surveillance and Survey Systems, Methods and Applications (1st ed.). Blackwell Publishing. Iowa.
- 9- Junejaa S.S., Ramneeka, D. Dekaa, M.S. Oberoia, Amarjit Singh (2008). Molecular characterization of field isolates and vaccine strains of infectious bursal disease virus. *Comparative Immunol-*

- 23- Toroghi R., (2001). "Molecular characterization of classical and in vivo and in vitro passaged recent IBDV isolates", Ph.D, Thesis, IVRI, Bareilly, India,
- 24- Van den Berg I.P., N., Etteradossi D. Toquin and G. Meulemans (2000). "infectious bursal disease", *Rev. Sci. Tech. OIE.*, 19(2): 527-543.
- 25- Van den Berg T.P. (2000). "Acute infectious bursal disease in poultry: A review", *Avian Pathology*, 20: 175-194.
- 26- Van den Berg T.P., M. Gonze and, G. Meulemans (1991). "Acute infectious bursal disease in poultry: Isolation and characterization of a highly virulent strain", *Avian Pathology*, 20: 133-143.
- 27- Van den marel P., D. Snyder and D. Lutticken (1990). "Antigenic characterization of IBDV field isolates by their reactivity with a panel of monoclonal antibodies(abst)", *Deutsche Tierarzt wochenschrift*, 97: 81-83.
- 28- Zierenberg K., R. Raue, and H Muller (2001). "Rapid identification of very virulent strains of infectious bursal disease virus by reverse transcription- polymerase chain reaction combined with restriction enzyme analysis", *Avian Pathology*, 30: 55-62.

