

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

محسن قربانی^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 پذیرش: ۱۳۹۸/۱۱/۱۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۷/۰۲

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 آلانوتیک، آزمون RT-PCR جهت تشخیص برونشیت عفونی انجام گرفت. پس از RT-PCR نمونه‌های IBV مثبت بر اساس بخشی از توالی ژن S1 بیشتر مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج RT-PCR نشان داد به ترتیب ۳۰ و ۴۰ درصد گله‌های استان گلستان و آذربایجان شرقی دارای کمپلکس‌های تنفسی ویروس IBV جدا گردید. نتایج مقایسه توالی نوکلئیدی و اسیدآمین، سه جدایه به دست آمده از استان گلستان بیش‌ترین شباهت توالی اسیدآمین 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. سویه‌های 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

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 می‌کند: گلیکوپروتئین اسپایک، گلیکوپروتئین 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، دربرگیری‌ها، حذف شدن‌ها و یا ترکیب دوباره RNA از ژن‌های S1 می‌باشند (۱۷،۲۳). میزبان اصلی این ویروس ماکیان می‌باشند و با نشانه‌های کاهش مصرف آب و دان، سرفه، عطسه در گله‌های جوان و در گله‌های مادر با نشانه‌ی افت تولید تخم شناخته می‌شود. برخی سروتیپ‌های 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 لمبه‌گذاری و همچنین افت تولید تخم مرغ 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 گزارش شده است (۸). بعدها، چندین محقق ایرانی، ژنوتیپ 793/B را شناسایی کردند (۲۹). ژنوتیپ‌های سویه‌های IBV جداسازی شده در ایران در طی ۲۰۱۴-۲۰۱۵ به ۷ گروه فیلوژنتیک متمایز (IS-1494, 793/B, Massachusetts (Mass))

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 استفاده شده است (۱۷،۲۹). با این وجود، به دلیل ایمنی متقاطع کم بین ویروس مزرعه و سویه واکسن و ظهور مستمر واریانت‌های 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 ژنوتیپ‌های ویروسی و توسعه و تطبیق استراتژی‌های واکسیناسیون مناسب ضروری است. تعیین خصوصیات آنتی‌ژنی جدایه‌های ویروس برونشیت عفونی برای انتخاب واکسن‌های مناسب و جدید برای نواحی جغرافیایی مرتبط مهم می‌باشد. این مطالعه به منظور 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 منقل شدند و تا هنگام آزمایش در دمای ۷۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند.

3') A- CAC CCT TAC AAA استفاده شد (۸).
نگهداری cDNA ساخته شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد و جهت آزمون PCR در آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی بخش بیماری‌های پرندگان دانشگاه شهید چمران اهواز

واکنش PCR

میزان عوامل شرکت کننده در واکنش شامل: مستر میکس 2X (با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار MgCl₂) (آمپلیکون، کانادا) ۱۰ میکرولیتر، آغازگر XCE1 (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 سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه (واسرشت اولیه)، ۳۵ سیکل شامل واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و امتداد در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۵ ثانیه تکرار شد و به دنبال آن نیز امتداد نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴ دقیقه انجام گردید. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل واکنش PCR یک نمونه کنترل منفی (آب DEPC به جای DNA) و یک نمونه کنترل مثبت (RNA استخراج شده از واکسن‌های ماساچوست H120 و ۹۱/۴) 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 مورد استفاده DNA 100 (ساخت شرکت سیناژن، ایران) بود (تصویر ۱).

جداسازی ویروس

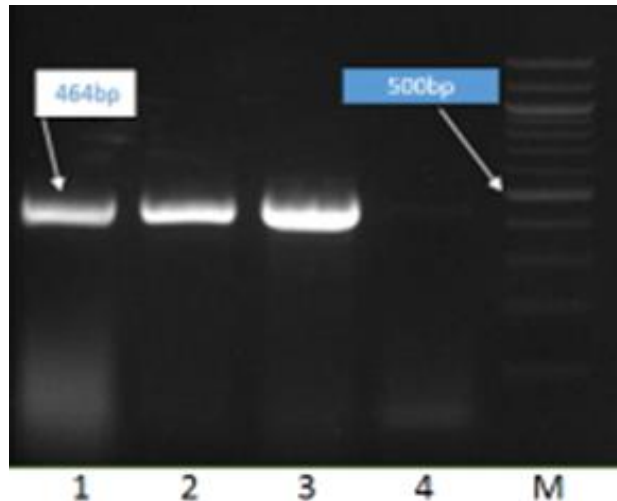
نمونه‌های بافتی به صورت جداگانه خرد شده و در محلول بافر فسفات (PBS) حاوی پنسیلین IU/ml ۱۰۰۰۰، استرپتومايسين ۱۰۰۰۰ μg/ml، جنتامایسین ۵ μg/ml، آمفوتریسین B ۵ μg/ml به صورت مخلوط همگن ۱۰٪ در آمده و مخلوط‌های همگن بافتی در ۱۰۰۰ g به مدت ده دقیقه سانترفیوژ شده و مواد رویین به عنوان مواد تلقیحی مورد استفاده قرار گرفت (۳۰).
۰/۲ میلی لیتر از هر نمونه به درون حفره آلانتوئیک ۵ تخم مرغ جنین دار ۹ روزه ماکیان تلقیح گردید. تخم مرغ‌ها برای ۴۸ ساعت انکوبه شدند در ۳۷ درجه سانتی‌گراد، به منظور احتمال وجود آسیب‌های فیزیکی در زمان تلقیح، تخم مرغ‌هایی 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 به صورت سریالی تا ۳ بار پاساژ داده شدند.

استخراج RNA

جهت استخراج RNA ویروس، ۲۰۰ میکرولیتر از مایع آلانتوئیک به صورت 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 استخراج شده ۵۰ میکرولیتر آب DEPC اضافه شد و تا زمان ساخت cDNA در فریزر ۷۰- نگه‌داری شد.

ساخت cDNA

برای ساختن cDNA از RNA استخراج شده 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 و XCE2 (5' -CTC TAT TTC AGA TGG- 3)



تصویر ۱. محصول RT-PCR اندازه باند ۴۶۴ جفت باز؛ نشانگر ۱۰۰ جفت باز، شماره ۴ کنترل منفی، شماره ۳ کنترل مثبت (سویه واکسن ۴/۹۱) شماره‌های ۱ و ۲ نمونه‌های مثبت

nBLAST (<http://ncbi.nlm.nih.gov>) با استفاده از

و (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>)

نرم‌افزار ClustalW2 مقایسه شد.

نتایج

در بررسی مولکولی نمونه‌های نای، ریه و لوزه سکومی، اخذ شده 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).

تعیین توالی محصول PCR

به میزان ۵۰ میکرولیتر از DNA نمونه‌های مثبت به همراه ۱۰ میکرولیتر از هر کدام 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 جدایه‌های این مطالعه با یکدیگر و با ایزوله‌های قبلی از ایران، کشورهای همسایه و سویه‌های مرجع IBV در مرکز ملی بیوتکنولوژی اطلاعات پایگاه داده

نقش ویروس برونشیت عفونی در کمپلکس های تنفسی... ۵۷

جدول ۱. اطلاعات و نتایج گله های گوشتی تحت مطالعه استان گلستان

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

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

شماره گله	سن گله	H120	Vac Ma5	Vac 4/91	نای	ریه	سکال	کد نمونه +	شماره جدایه در genbank	سویه جداسازی شده
۱	۴۰	۴/۹۱+H120	۷IB88روژه آشامیدنی	-	-	-	-	-	-	-
۲	۱۹	۱ روزگی اسپری	۸ روزگی	-	-	-	۵/۱۰	IBV-۲۹ +	MK850425	۴/۹۱
۳	۳۳	اسپری ۱ روزگی	آشامیدنی ۷ روزگی	۱۶ روزگی	-	-	-	-	-	-
۴	۲۸	اسپری ۱ روزگی	۸IB88 روزگی	۱۸ روزگی	-	-	-	-	-	-
۵	۱۲	اسپری	-	-	-	-	-	-	-	-
۶	۲۴	۱ روزگی اسپری	۶ روزگی آشامیدنی	-	-	-	۹/۱۰	IBV-۳۲ +	-	-
۷	۳۷	اسپری	۶ روزگی	۱۸ روزگی	-	-	-	-	-	-
۸	۸	-	-	-	۶/۱۰	-	۸/۱۰	IBV-۳۴ +	MK850426	V2
۹	۲۰	۱ روزگی اسپری	آشامیدنی	۱۸ روزگی آشامیدنی	-	-	۷/۱۰	IBV-۵۶ +	MK850431	۴/۹۱
۱۰	۳۹	۱ روزگی	۸ روزگی	-	-	-	-	-	-	-

محصول PCR نمونه های مثبت (از هر گله یک نمونه مثبت) جهت تعیین توالی به شرکت BIONEER ارسال گردید و توالی به دست آمده در برنامه ی Blast سایت NCBI قرار گرفت. همچنین توالی های مورد نظر با سایر سرو تپ های شناسایی شده در ایران، کشورهای همسایه

نهایتاً از ۶۰۰ نمونه ای که به مایع آلائتوئیک تخم مرغ جنین دار 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 نمونه ی مثبت از هر گله جهت تعیین توالی فرستاده شد.

و جهان مقایسه شدند و درصد شباهت‌های نوکلئوتیدی و آمینواسیدی به دست آمد. توالی‌های به دست آمده در بانک ژن ثبت شده و شماره دسترسی گرفتند (جدول ۳).

جدول ۳- اطلاعات مربوط به ویروس‌های مورد بررسی به دست آمده در این مطالعه

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

بحث

امروزه متأسفانه به دلیل وجود ضعف‌های مدیریتی و ساختاری بسیاری از مرغداری‌های ایران و به دنبال آن چالش زود هنگام با واریانت‌های جدید و نوظهور ویروس برونشیت عفونی به خصوص 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 قابل ملاحظه 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 به صورت مداوم در حال تغییر و تحول هستند منجر به ایجاد نوترکیب‌ها، واریانت‌ها و سروتیپ‌های 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

نتایج نشان داد مقایسه توالی نوکلئیدی سه جدایه به دست آمده از استان گلستان (IBV-8) MK850423، MK850430 (IBV-16) و MK850424 (IBV-17) در شاخه ویروس‌های شبه QX قرار گرفته ۹۸ تا بیش از ۹۹ درصد به QX‌های عراق و ایران شباهت داشتند. از چهار جدایه به دست آمده از استان آذربایجان شرقی، یک جدایه موفق به تعیین توالی نشده و سه جدایه دیگر (IBV-29) MK850425 و (IBV-56) MK850431 از ۹۸/۵۶ تا ۹۹/۵۹ به سویه‌ی پاکستانی شباهت داشتند. یک جدایه (IBV-34) MK850426 در شاخه ویروس‌های واریانت ۲ قرار می‌گیرد با جدایه‌های واریانت ۲ که قبلاً از ایران جدا شده است ۹۵ تا ۹۷ درصد شباهت داشتند. در مقایسه توالی اسید آمینه 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 اسید آمینه را با ویروس‌های QX عراق داشتند. یک جدایه وابسته به واریانت ۲، ۹۶ تا ۹۸ درصد شباهت با جدایه‌های ایران داشتند.

در سال‌های ۱۹۹۸ تا ۲۰۰۸ از نمونه‌های نای و ریه طیور گوشتی با نشانه‌های بالینی مشکوک به برونشیت عفونی جدا شده بودند، مورد بررسی 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 در نهایت 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 مرنندی 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 تخم مرغ و بدون تلفات گزارش شده است. گرچه در برخی از گزارشات، کاهش تولید مشخص همراه با بدشکلی تخم مرغ و تلفات نیز نشان داده شده است (۱). امروزه این سروتیپ علاوه بر این نشانه‌ها باعث درگیری سیستم تنفسی به صورت رال تنفسی، سرفه و نفس کشیدن با دهان باز و همچنین مشکلات کلیوی به صورت تورم و رنگ پریدگی کلیه و همچنین افسردگی به صورت کاهش مصرف آب و دان 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 آنتی‌سرم

جدایه‌ها از نظر توالی بخشی از ژن S1 مورد بررسی قرار گرفتند؛ و تیپ B/793 سروتیپ غالب در استان آذربایجان شرقی و QX سروتیپ غالب در استان گلستان بود. از سال ۱۳۷۷ سروتیپ‌های B/793 و ماساچوست شایع‌ترین ویروس‌های موجود در مرغداری‌های 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 بررسی‌ها (۲۰۱۴-۲۰۱۵) و دیگر گزارش‌ها از ایران ژنوتایپ‌های IR1، IS-720 و IR-2 IB ناپدید شده‌اند (۲۴). در گزارش همایونی مهر و همکاران (۲۰۱۶) ده سویه ویروسی از نمونه‌های نای، غدد سکومی و کلیه طیور گوشتی و تخم‌گذار 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 BV9۳/ قرار گرفتند (۶). قهرمانی و همکاران (۲۰۱۱) تعداد ۱۰ جدایه ویروس برونشیت عفونی را که

QX را در بسیاری از کشورهای اروپایی و آسیایی نشان می‌دهد که گرچه این ویروس‌ها از نظر ژنتیکی شبیه و نزدیک هم می‌باشند ولی نشانه‌های بالینی، بیماری‌زایی، واگیری و تلفات آن‌ها متغیر می‌باشند و گاهی ارتباطی با سابقه واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی ندارند. پس از آن QX یکی از شایع‌ترین ژنوتیپ‌های 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 جدا شده در عراق، شباهت زیادی به سویه JX۴۷۷۸۲۷ که در ایران جدا شده، دارد (۱۰). این اطلاعات بیانگر انتقال گسترده ویروس QX از سایر کشورها از جمله ایران به عراق می‌باشد. برومند و همکاران (۲۰۱۸) ویروس‌های برونشیت عفونی جدا شده از گله‌های گاو گاوستان خوزستان را مورد تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک قرار دادند و این ویروس‌ها به عنوان 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

اختصاصی ویروس سروتیپ ماساچوست خنثی نمی‌شوند که بیانگر حضور سروتیپ‌های دیگر می‌باشد (۲۵). نوری و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی سواب نایی ۳۰ گله طیور گوشتی استان فارس در سنین ۷ تا ۸ هفتگی از نظر 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) به منظور بررسی شیوع ویروس برونشیت عفونی در ایران سواب‌هایی 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 تأیید کردند (۵). در این مطالعه در استان گلستان هر سه جدایه به دست آمده از لحاظ 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. با این حال این جدایه به عنوان 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 مورد بررسی قرار دادند و نتیجه به دست آمده نشان داد که واریانت‌های شبه QX یک سویه جدید نفروپاتوژنیک هستند (۲۱). مطالعات اخیر وجود واریانت جدید برونشیت عفونی به نام سویه‌های مشابه

چون واکنش های فعلی به طور کامل در برابر ویروس های شبه IS-1494 محافظت ایجاد نمی کند، احتمال گسترش بیشتر این واریانت زیاد است (۱۶). همانگونه که در جداول یک و دو تاریخچه گله هایی که ویروس برونشیت عفونی در آن ها ردیابی و جدا شده است نشان می دهد این گله ها در هر دو استان فقط واکنس ماساچوست دریافت کرده اند و از آنجایی که محافظت متقاطع در مورد این بیماری ضعیف است، این امر سبب بروز و شیوع این بیماری در این گله ها شده است. مطالعات اپیدمیولوژیک تجزیه و تحلیل IBV در ایتالیا و اسپانیا نشان داد که رابطه مثبتی بین استفاده از واکنس های ماساچوست به علاوه B/793 و کاهش شیوع QX است (۱۲). در مجموع شایع ترین 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 سویه های در گردش IBV به ما کمک می کند تا بینیم آیا وارته جدیدی ظهور کرده است و در هر منطقه چه سویه ها و سروتیپ هایی بیشتر در گردش است. ما می توانیم اثربخشی واکنسیناسیون خود را بر اساس سویه های در گردش ارزیابی کنیم.

منابع

۱. اکبری آزاد، گ. (۱۳۸۲). شناسایی و تعیین خصوصیات مولکولی ویروس های برونشیت عفونی طیور با استفاده از روش RT-PCR/RFLP، پایان نامه جهت دریافت دکترای تخصصی بیماری های طیور. دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، شماره ۱۷۷.
۲. برومند، ز. جعفری، ر.ع. و میاحی، م. (۱۳۹۴). بررسی سرولوژیک و ردیابی مولکولی ویروس های عامل آنفلوآنزا (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 عفونت های تنفسی شایع در ماکیان گوشتی

و وقوع IBV طی سال های ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۵ داشتند، به عنوان دومین کشور گزارش شد (۱۹)، پس از آن نجفی و همکاران در تحقیقات مولکولی خود این واریانت را غالب ترین نوع IBV در سال ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۵ گزارش نمودند (۲۶).

حسینی و همکاران (۲۰۱۰ تا ۲۰۱۴) با انجام یک مطالعه ایپیدمیولوژیک از ۲۵۰ گله ای مشکوک و جمع آوری ۲۵۰۰ نمونه از نای، کلیه و سکال تونسیل و انجام آزمایشات مولکولی بر روی قطعه ای گلیکو پروتئین S1، ۷ ژنوتیپ مجزا در ایران را شناسایی کردند که واریانت ۲ هم شامل آن ها بود (۱۹). سرپیل کاهیا و همکاران (۲۰۱۳) در مطالعه ای فیلوژنیکی که بر روی گله های مادر و گوشتی در کشور ترکیه انجام دادند که ویروس های جدا شده از این گله ها با سویه ای IS/1494/06 تا ۹۹٪ شباهت دارند که این سویه خود در شاخه ای واریانت ۲ قرار می گیرد (۲۰). سوزان المهدی و همکاران (۲۰۱۰) در مطالعه ای فیلوژنیکی که بر روی گله های مزارع طیور در سه شهر مختلف مصر انجام دادند و نشان دادند که ویروس های جدا شده از طیوری که از جراحات کلیوی شدید رنج می برند با سویه ای نفروپاتیک IS/1494/06 تا حد زیادی شباهت داشتند که این سویه خود در شاخه ای واریانت ۲ قرار می گیرد (۱۱). ویروس های شبه واریانت ۲ هنوز جزء سویه های اصلی در اردن، مصر، ترکیه، فلسطین اشغالی و سایر کشورها در خاورمیانه می باشد (۲۳، ۲۹). در سال ۲۰۱۱، هشت IBV از نمونه های سواب نای گله های مولد و گوشتی در ترکیه، جدا شد که همگی با ۹۹٪ شباهت به سویه IS/1494/06 مرتبط اند (۲۰). نویسندگان معتقدند که این سویه از کشورهای خاورمیانه به ترکیه منتقل شده است. از آنجایی که واکنس IBV شبه IS-1494 در ایران استفاده نمی شود و

- 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 Advance*, 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 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 زود هنگام 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.ح. 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 شناسایی ویروس‌های برونشیت عفونی طیور در بین سال‌های 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. Bozorgmehri-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., Nofrarias, M., Biarnés, M., Cortey, M., Majó, N., Catelli, E., Cecchinato, M., (2016). Effect of different vaccination strategies on IBV QX population dynamics

- 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 virology*, 151: 1133-1148
22. Mahdavi, S., Tavasoly, A., Pourbakhsh, S.A., Momayez, 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 Medicine*, 42: 51-57
29. Seyfi Abad Shapouri, M., M. Mayahi, K. Assasi, and S. Charkhkar. (2004). A survey