DOI: http://dx.doi.org/10.22034/vj.2017.109222

نشریه دامپزشکی
در
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
Emali: hamid1342ir@yahoo.com

## چکیده

**در این مطالعه آلودگی گله‌های گوشـــتی به ویروس بیماری بورس عفونی قبل از واکسیناسیون مورد بررسی قرار گفت. از ۲۵ گله مرغ گوشـــتی 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 و۹ از نظر وجود ژنوم ویروس بیماری بورس عفونی مثبت بودند. برای شناخت بیشتر ویروس ردیابی شده چگونگی هضم آنزیمی محصولات PCR توســـط آنزیمهای اندونوکلئاز SacI و SspI مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج هضم آنزیمی نشان داد که محصولات PCR به دســـت 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 حالی‌که نمونه ۴ توسط این آنزیم هضم نشد. میانگین شاخص بورس این دو گله کمتر از گله‌های آلوده نشـــده بود منتهی تنها شاخص بورس گله‌ی ۴ به طور معنی‌دار از گله‌های غیر آلوده کمتر بود ($p < ۰/۰۰۱$). با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان اظهار داشـــت 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،RT-PCR- Nested PCR- FLP، 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 provience . 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 posiive indicating IBDV infection. For Further indentification of IBDV , the RT-PCR products were incubated to be digested by endonuclease enzyms SacI and SspI respectively. The RT-PCR products of positive samples ( samples 4 and 9) remaind 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 remaind 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

بیمـــاری بورس عفونـــی (Infectious bursal disease) که گامبورو نیز نامیده می‌شود، بیماری بسیار واگیردار در جوجه‌های جوان می‌باشد. عامل بیماری ویروســـی متعلق به خانواده بیرناویریـــده (Birnaviridae) و جنس Avibirnavirus می‌باشـــد. جوجه‌ها در سنین ۶-۳ هفته به بیماری بالینی حســـاس‌تر هســـتند (۱۷). با توجه به ســـن جوجه‌ها و یا سروتیپ و سویه ویروس این بیماری بصورت کلینیکی یا بصورت سرکوب سیستم ایمنی بروز می‌کند. دو سروتیپ در جنس اویبیرناویروس وجود دارند که تنها سروتیپ ۱ باعث بیماری می‌شـــود. سویه‌های ســـروتیپ ۱ را می‌توان به چهارگروه سویه‌های کلاســـیک حاد (Virulent classic strains) ، سویه‌های تخفیف حدت داده شده(Attenuated strains)، سویه‌های واریانت(Variant strains) و سویه‌های بسیار حاد (Very Virulent strains) تقسیم کرد (۳و۱۵و۱۶).

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 ســـنین پایین‌تر موجب تضعیف سیستم ایمنی به مدت طولانی می‌شود، که صدمات اقتصادی بیشتری دارد و به دنبال آن عواقبی نظیر عدم پاسخ مناسب سیســـتم ایمنی طیور به برنامه‌های واکسیناسیون و بروز بیماری‌های مختلف می‌شود. بنابراین محافظت جوجه‌های جوان در برابر عفونت اولیه کار بسیار مهمّی است و این کار معمولاً با انتقال عیارهای مادران واکســـینه به جوجه‌هایی که جدیداً از تخم درآمده‌اند انجام می‌گیرد (۱۱و۱۲).

در سال ۱۹۸۷ سویه‌های بسیار حاد بیماری عفونی بورس در اروپا ظاهر شـــدند که قادر به ایجاد مرگ و میری به میـــزان ۶۰ تا ۱۰۰ درصد بودند. این سویه‌ها به سرعت به دیگر قاره‌ها مثل آسیا، استرالیا و امریکای جنوبی گســـترش پیدا کردند. این سویه‌ها جراحاتی شبیه جراحات معمول بیماری عفونی بورس ایجاد کرده و از لحاظ آنتی‌ژنتیکی بســـیار شـــبیه سویه‌های کلاسیک هستند (۴و۲۶و۲۷). 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 ســـروتیپ (I) و از انواع بیماری‌زای کلاســـیک بود (۲). وقوع سویه‌های خیلی حاد ویروس بورس عفونی(vvIBDV) در ایران اولین بار در ســـال ۱۹۹۱ صورت گرفت (۱). بعد از آن نیز در دو مطالعه دیگر نیز این ســـویه‌ها در ایران شناسایی و تایید شد (۶ و ۱۷).

به دلیل اهمیت ســـویه‌های بســـیار حاد از لحاظ ایجاد مرگ ومیر در گله‌های بیش از ۳ هفته، در چندین مطالعات انجام شده در کشور در مورد سویه‌های بسیار حاد بیماری بورس عفونی، پاتوژنیسیتی و نیز ویژگی‌های مولکولی این ویروس‌ها بیان شـــده است (۱۵و۱۹و۲۲). اما گزارشی از بروز بیماری در کشور ما در سنین کمتر از ۳ هفته که جوجه به شکل کلینیکی بیماری حســـاس نیســـتند و بیماری در این ســـن منجر به سرکوب ایمنی می‌شود وجود ندارد.

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

## مواد و روش کار

### الف. طرح مطالعه و نمونه‌گیری

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 دوره‌های پرورش قبلی سابقه‌ای از ابتلا به بیماری گامبورو را داشته نمونه‌برداری انجام شد. در هر گله در سن ۱۲-۱۰ روزگی و قبل از انجام واکسیناسیون از ۱۰ پرنده نمونه‌برداری انجام گرفت. کلیه آزمایشات در آزمایشگاه ویروس‌شناسی بخش تحقیقات بیماریهای ویروسی طیور موسسه رازی انجام گرفت.

### ب. تعیین اندکس وزن بورس

پرنده‌ها بعد از وزن کشی ، خون‌گیری 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.آماده‌سازی نمونه‌ها و تزریق به تخم مرغ جنین‌دار SPF

هر ۵ بورس با یکدیگر مخلوط شد با استفاده از بافر سیلین وسیله هموژنایزر (Broodwire) و آنتی بیوتیک‌ها (پنی سیلین۱۰/۰۰۰ IU/ml، دی هیدرو استرپتومایسین۱۰/۰۰۰ mg/ml)، محلول هموژنیزه‌ی(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 بالایی (حاصل از صلایه‌ی بورس فابریسیوس) برداشته شد (۸). مایع حاصل از سانتریفیوژ به ۵ تخم مرغ جنین‌دار SPF (۱۰ تا ۱۱ روزه ) تولید شرکت venky's هندوستان روی پرده‌ی کوریوآلانتوئیک (cc ۰/۲ به ازای هر تخم‌مرغ) تلقیح شد. تمام نمونه‌های منفی تا سه بار پاساژ داده شدند.

### د.استخراج RNA

از کیت تجاری Roche, Germany (High pure vired Nucleic Acid) kitجهت استخراج اسید نوکلئیک از مایع همونیژه حاصل از سانتریفیوژ، بر اساس روش توصیه شده کارخانه سازنده استفاده گردید.

RNA استخراج شده توسط قرائت جذب نوری درطول 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) 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 VP۲ 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 نمونه‌های مثبت به نسبت ۱ به ۱۰و محصولات PCR نمونه‌های منفی بدون رقیق‌سازی در واکنش Nested- PCR جهت تکثیر یک قطعه‌ی (۵۵۲ جفت بازی ، bp) مورد استفاده قرارگرفت. پرایمرهای مورد استفاده شامل 5' (1212-1229) TCAGGATTTGGGATCGC-3' -Forward و CTCACCCCAGCGACCGATAAC-5'- Reverse GACG-3'(1179-1202) می‌باشد (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. درنهایت، محصول نهایی از هضم آنزیمی، در ژل آگاروز ۲ درصد قرارداده شد و الکتروفورز انجام شد، نتایج بصورت عکس برداری قرائت و ثبت شد (۸).

### ه. آنالیز آماری

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

## نتایج

الف. واکنش زنجیره‌ای پلی مراز- رونوشت برداری معکوس (RT-PCR)

از نمونه‌های ۲۵ مزرعه آزمایش شده، نمونه‌های۲ مزرعه (۸ درصد) مثبت بودند (شکل ۱).

ب. واکنش زنجیره ای پلی مراز آشیانه‌ای (Nested – PCR):

این آزمایش روی محصولات PCR تمام نمونه ها انجام شد و دراین آزمایش نیز مانند آزمایش RT-PCR فقط نمونه‌های 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 جدایه‌ی مثبت شده

در آزمایشـــات قبلی (۴ و ۹ ) را برش دهد که این از مشخصات جدایه‌های فوق حاد ویروس بیماری بورس عفونی (vvIBDV) می‌باشد، هم چنین این آنزیم نتوانســـته اســـت محصولات PCR مربوط به ویروس IR499 که یک ویروس ایرانی بسیار حاد بیماری بورس عفونی می‌با شد(۱۹) را هضم کند. در حالیکه این آنزیم توانســـته اســـت محصولات PCR دو سویه واکسینال D۷۸ و Bursin۲ را هضـــم کند. همچنین آنزیم SspI توانســـته اســـت تنها محصول PCR جدایه‌ی شـــماره‌ی ۹ را برش دهد و محصول PCR جدایه‌ی شـــماره ۴ توســـط این آنزیم برش داده نشـــد. محصولات PCR مربوط به ویروس IR۴۹۹نیز توسط این آنزیم برش خورده است (شکل ۱).

و. نتایج حاصل از تلقیح به تخم مرغ‌های جنین‌دار SPF

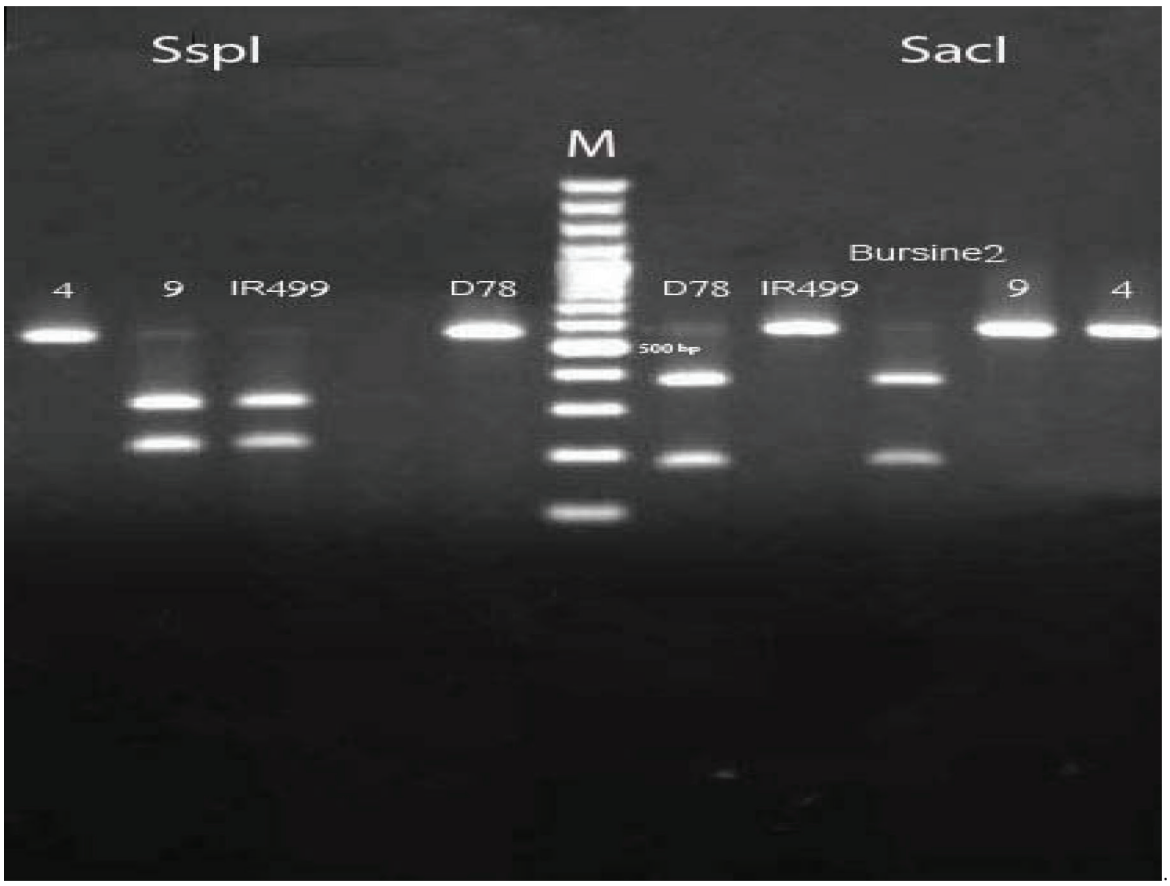
در ایـــن آزمایش نیـــز فقط نمونه‌های دو مزرعه مثبـــت قبلی در RT-PCR، در کشـــت تخم مرغ مثبت بودند. یکی از نمونه‌ها پس از اولین پاساژ (شـــماره ۴) و نمونه دیگری بعد از دومین پاساژ (شماره ۹) درجنین ایجاد علائم و تلفات کردند (شـــکل ۲). ضایعات ایجاد شـــده در جنین شامل آثار خونریـــزی ضخیم در بعضی پرده‌های کوریوآلانتوئیک، پرخونی و خونریزی روی تمام سطح پوست و بیشـــتر در قسمت‌های انتهایی دست و پا و سر، ادماتـــوز و پرخون 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 شـــاخص بـــورس در دو گله مثبت در واکنش RT-PCR از لحاظ وجود ژن ویروس IBDV ( ۴ و ۹ ) کمتر از سایر گله‌هاست. اما فقط میانگین شـــاخص وزن بورس گله شماره ۴ از لحاظ آماری تفاوت معنی-داری با سایر گله‌ها داشت ($p < ۰/۰۰۱$).

## بحث

براســـاس نتایج بدست آمده از این مطالعه، وجود آلودگی به سویه‌های بسیار حاد بیماری ویروس بورس عفونی (vvIBDV) درجوجه‌های گوشتی دردوره‌ی رشـــد (درسن ۱۰ تا ۱۲ روزگی و قبل از واکسیناسیون) مشخص




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

شد. چندین گزارش از جداسازی و شناسایی این ویروس‌ها در کشور وجود دارد (۱،۲،۱۰،۱۵،۲۲). ظهور سویه‌های بسیار حاد ویروس بیماری بورس عفونی (vvIBDV) در اواخر دهه ۸۰ در اروپا و گسترش سریع آن به آسیا دراوایل دهه ۹۰ چالش جدید و جدی درمقابل برنامه واکسیناسیون موجود قرارداد(۵و۱۱و۲۱و۲۴). ظهور دوباره‌ی فرم‌های واریانت یا بسیار حاد متعاقب با شکست واکسیناسیون علت اصلی ضررهای اقتصادی عمده وارد شده به صنعت پرورش طیور است. با ظهور سویه‌های بسیار حاد، واندنبرگ و همکاران(۱۹۹۱) و واندنبرگ (۲۰۰۰) گزارش دادند که این سویه‌ها قادرند سد ایمنی مادری را بسیار زودتر از سویه‌های کلاسیک حاد و البته سویه‌های متوسط واکسن شکسته و باعث ضایعات و مرگ و میر پس از آن درسطح گله شوند (۵و۲۶). همچنین فاراگر و همکاران (۱۹۷۴) گزارش کرده‌اند، اثر سرکوب ایمنی درسنین پایین تر از سنین بالاتر شدیدتر است (۱۴). نانویا و همکاران نیزگزارش کردند که به‌علت انتشار ویروس‌های بسیار حاد بیماری بورس عفونی در ژاپن و آلودگی گله‌ها به این ویروس‌ها، بروز نیوکاسل حاد و آلودگیهای باکتریایی گسترده قابل توضیح است (۷). تکثیر قطعات ژنتیکی یک ویروس ناشناخته به کمک پرایمرهای اختصاصی و با روش PCR می‌تواند هویت آن ویروس را مشخص کند. در این مطالعه با استفاده از پرایمرهای اختصاصی محصولات PCR۶۴۳ جفت بازی (bp) تکثیر شد که هویت ویروس مورد مطالعه را به عنوان ویروس بیماری بورس 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. دراین مطالعه برای شناخت بیشتر ویروس مورد مطالعه (vvIBDV)، چگونگی هضم آنزیمی تکثیر شده محصولات ( اصطلاحاً محصولات PCR) توسط آنزیم های اندونوکلئاز مورد مطالعه قرارگرفت. مطالعه هضم‌آنزیمی محصولات PCR حاصل ازتکثیر منطقه بسیار متغیر ژن VP۲ توسط محققین متعددی انجام شده است(۴و۱۳و۲۸). در بررسی حاضر جهت بهبود محصولات PCR ، پس ازتکثیر محصولات ۶۴۳ جفت بازی از این محصولات با روش PCR آشیانه‌ای ، محصولات ۵۵۲ جفت بازی تهیه شد و این محصولات درمورد چگونگی هضم آنزیمی مورد مطالعه قرارگرفتند. آنزیم‌های بکاررفته دراین بررسی آنزیم‌های SacI, SspI بودند. که برای تشخیص سویه‌های واکسینال از سویه‌های بسیار حاد بیماری ویروس بورس عفونی استفاده شدند. آنزیمSacI نتوانست محصولات PCR دو جدایه‌ی ۴ و ۹ را برش دهد، که این از مشخصات جدایه‌های فوق حاد ویروس بیماری بورس عفونی(vvIBDV) می‌باشد، با این همه آنزیم SspI توانست تنها محصول PCR جدایه‌ی شماره ۹ را برش دهد و محصول

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

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

شاخص بورس یکی از مشخصه‌های مهم تشخیص به شمار می‌رود. اندازه گیری شاخص بورس، اثرات احتمالی توسط سویه‌های بسیار حاد را روی بورس مشخص می‌سازد (۷). میانگین شاخص بورس در دو گله آلوده به ویروس‌های بسیار حاد بیماری بورس 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 بورس در این دو گله مربوط به آلودگی به ویروس بیماری بورس عفونی می‌باشد. از طرفی پایین بودن میانگین شاخص بورس در یک گله‌ی مثبت نسبت به گله‌ی مثبت دیگر احتمالا 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 بورس 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

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

| شماره گله | میانگین شاخص بورس | انحراف معیار شاخص بورس | شماره گله | میانگین شاخص بورس | انحراف معیار شاخص بورس |
|---|---|---|---|---|---|
| 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 | ۱/۷۳ | 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 | | | |

نتیجه زیان‌های اقتصادی است.

در نهایت اینکه پیشنهاد می‌شـــود، اقداماتی جهت پیشگیری از شیوع بیماری درگله‌ها در سنین پایین انجام شود. از جمله توجه به زمان مناسب واکسیناسیون در گله‌های گوشتی و واکسیناسیون کارامدتر درگله‌های مادر که عیار بالاتر و طولانی‌تـــری از عیارهای مادری درجوجه را القا کند. تهیه واکســـن‌های با منشـــأ بورس که تولید عیارهای بیشـــتری را القاء می‌کند، تولید و استفاده از واکســـن‌های روغنی کاراتر علیه سویه‌های حاد بیماری، تولید واکســـن‌هایی که هم به این ســـویه‌ها قرابت آنتی‌ژنی بیشتری داشته (ســـویه‌های فیلد) و هم قادر باشند تولید عیار بیشتری را در مرغ‌های مادر القاء کنند و به تبع آن میزان بالاتری آنتی‌بادی مادری به جوجه‌ها منتقل گردد از دیگر اقدامات مناسب می‌باشد (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 Raz*i, 46/47: 55-63

3- Eterradossi 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. Toguin 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). "Immunosupressive 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 viruse 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 Singhb (2008). Molecular characterization of field isolates and vaccine strains of infectious bursal disease virus. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases*. 31: 11–23.

10- Kabell1S, K. J., Handberg1, Y. Li1, M. Kusk1 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 Sicence 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. Giambrone 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 vrus 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 infectiousbursal 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

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., Eterradossi 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 of monoclonal antihodies(abst)", *Deutshe Tierrarzt 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 ranscription- polymerase chain reation combined with restriction enzyme analysis", *Avian Pathology*, 30: 55-62.