نشریه تازه ها در میکروب‌شناسی دامپزشکی
وبگاه: nfvm.uoz.ac.ir
دو فصلنامه - شاپا چاپی: ۲۶۴۵-۴۴۹۱ شاپا الکترونیکی: ۲۶۷۶-۵۰۰۴
دوره ۸، شماره ۱، بهار ۱٤۰٤، صفحات ۳۲- ٤٥

تعیین هویت ژنتیکی واکسن‌های بیماری بورس عفونی پرندگان در ایران: کمک به انتخاب واکسن مناسب و مطالعات مولکولار اپیدمیولوژی

آرش قلیانچی لنگرودی*[۲]، حسین حسینی[۲]، محمد عبدالشاه[۳]، محمدحسین فلاح مهرآبادی[۳]، علی هژبر راجعونی[۱]، زهرا ضیافتی کافی[۱]، ناصر صدری[۱]، سروش سرمدی[۱]، فهیمه جمیری[۱]، علیرضا بخشی[۱]، امید اقبالی[۱]

۱- گروه میکروبیولوژی و ایمنی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
۲- گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۳- مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.
دریافت مقاله: ۲۱ مرداد ۱۴۰۳، بازنگری: ۰۳ شهریور ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۱۵ شهریور ۱۴۰۳

10.22034/nfvm.2024.472556.1251

چکیده

ویروس بیماری بورس عفونی یا گامبورو سبب بروز یک بیماری عفونی حاد و بسیار واگیردار شده که با سرکوب شدید سیستم ایمنی (به‌ویژه همورال) ماکیان شناخته می‌شود. این ویروس، یک RNA ویروس بسیار مقاوم از خانواده بیرناویریده (*Birnaviridae*) بوده که تنوع ژنتیکی آن به شکل قابل توجهی بر تظاهرات، تشخیص و کنترل بیماری اثرگذار می‌باشد. تقسیم‌بندی جدید ژنتیکی این ویروس بر اساس توالی نوکلئوتیدی قطعات A(VP2) و B (VP1) ژنوم آن صورت می‌گیرد. در سال‌های گذشته به علت برخی از مشکلات و محدودیت‌های واردات واکسن از کشورهای اروپایی، سازمان دامپزشکی کشور با واردات واکسن گامبورو و تولید آن در داخل کشور موافقت نمود. هدف این مطالعه بررسی شجره‌شناسی و تقسیم‌بندی سویه‌های واکسن و میزان مطابقت آنها با ویروس‌های در گردش می‌باشد. در این مطالعه، چهار نوع واکسن زنده تخفیف یافته (IBD07IR، مؤسسه واکسن وسرم‌سازی رازی، ایران)، B87 (QYH، چین)، ایمونوکمپلکس گامبوهچ (GUMBOHATCH) (هیپرا، اسپانیا) و واکسن MyHatch UPM 93 (MVP، مالزی) مورد ارزیابی قرار گرفت و سپس ژن‌های کدکننده دو پروتئین VP2 و VP1 با روش RT-PCR تکثیر و توالی یابی شد. به‌طور خلاصه واکسن‌های زنده تخفیف یافته IBD07IR و B87 (اینترمدیت) و واکسن گامبوهچ (اینترمدیت پلاس) در گروه A1B1 و واکسن MyHatch UPM 93 (اینترمدیت پلاس) در گروه A3B2 قرار گرفتند. نتایج این مطالعه می‌تواند اطلاعات مناسبی را در حوزه واکسن‌های گامبورو و انتخاب واکسن در اختیار محققین و کلینیسین‌ها قرار داده و در مطالعات مولکولار اپیدمیولوژی در ایران مورد استفاده قرار گیرد.

واژگان کلیدی: *ایران، ایمونوکمپلکس، بیماری بورس عفونی، تعیین هویت، واکسن*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: ghalyana@ut.ac.ir

مقدمه

بیماری بورس عفونی پرندگان (Infectious bursal disease)، یک بیماری سرکوب‌کننده سیستم ایمنی و بسیار واگیردار است. این بیماری توسط ویروس بیماری بورس عفونی (IBDV) ایجاد می‌شود که ویروسی با ژنوم RNA دو رشته‌ای و متعلق به جنس بیرناویروس (Avibirnavirus) از خانواده بیرناویریده (Birnaviridae) است (۱). این ویروس دارای ژنوم دو قطعه‌ای مشتمل بر دو قطعه A و B می‌باشد. قطعه A به طول ۳۲۵۹ جفت باز می‌باشد. ناحیه کوچک‌تر، پروتئین VP5 و ناحیه بزرگ‌تر یک پلی‌پروتئین را کد می‌کند که با پروتئولیز خودکار برای تشکیل پروتئین‌های ویروسی بالغ VP2، VP3 و VP4 شکسته می‌شود. قطعه B با طول ۲۸۲۷ جفت باز مسئول کدگذاری پروتئین VP1 می‌باشد (۲-۴). این ویروس برای اولین بار در سال ۱۹۵۷ در شهر گامبورو در ایالت متحده آمریکا گزارش شد؛ سپس در سراسر جهان گسترش یافت و در سال ۱۹۸۱ برای اولین بار در ایران در یک گله مرغ گوشتی گزارش گردید (۵). عفونت تجربی به آن در مرغ، بوقلمون، اردک، مرغ هندی و شترمرغ گزارش شده است، اما علائم بالینی عمدتاً در جوجه‌های جوان در سنین ۶-۳ هفتگی رخ می‌دهد (۱، ۶). به‌وسیله روش آزمایشگاهی خنثی‌سازی ویروس (VN)، سویه‌های ویروس گامبورو در سروتیپ‌های یک و دو طبقه‌بندی می‌شوند که تنها سروتیپ یک آن بیماری‌زا می‌باشد (۴). سویه‌های سروتیپ یک ویروس گامبورو، سلول‌های لنفوسیت B را در بورس فابریسیوس جوجه‌های جوان آلوده می‌کند که باعث سرکوب سیستم ایمنی و گاهی اوقات مرگ و میر می‌شود. سویه‌های این سروتیپ بر اساس میزان بیماری‌زایی و آنتی‌ژنسیته به چهار پاتوتیپ شامل: واریانت آنتی‌ژنی (av)، تخفیف حدت یافته (at)، حاد کلاسیک (cv) و بسیار حاد (vv) تقسیم‌بندی می‌شوند. سویه‌های واریانت باعث آتروفی بافت بورس فابریسیوس، بدون ایجاد التهاب می‌شوند، این در حالی است که سویه‌های تخفیف حدت‌یافته عموماً باعث ایجاد بیماری نمی‌شوند و لذا بعضی از آنها سویه‌های واکسن را شامل می‌شوند. در مقابل، سویه‌های حاد باعث التهاب بافت بورس فابریسیوس و نکروز شدید بافت لنفاوی آن و مرگ و میری بین ۲۰تا۳۰ درصد می‌شوند. سویه‌های بسیار حاد (vv) از سال ۱۹۸۷ ظهور پیدا کردند و در سراسر جهان گسترش یافتند. علائم بالینی ناشی از عفونت با آنها از روز ۲ پس از آلودگی ظاهر می‌شوند و به‌طور معمول شامل پرهای ژولیده، اسهال، کم آبی بدن و تلفات بین ۸۰ تا ۱۰۰ درصد می‌شوند (۷-۱۰). اخیراً دسته‌بندی جدیدی برای طبقه‌بندی سویه‌های مختلف ویروس گامبورو بر اساس ژنوتیپ ارائه شده است. این طبقه‌بندی بر اساس تفاوت در توالی نوکلئوتیدی قطعات A و B ژنوم ویروس می‌باشد که در آن قطعات A به ۹ دسته (A0-A8) و قطعات B به ۵ دسته (B1-B5) تقسیم می‌شوند. از جایگشت‌های مختلف این قطعات، ژنوتیپ‌های مختلف حاصل می‌شوند (۱۱).

موثرترین روش پیشگیری از شیوع گامبورو در سطح جهانی از طریق واکسیناسیون می‌باشد. واکسن‌های تجاری موجود علیه ویروس گامبورو، عمدتاً شامل واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته و غیر فعال می‌باشند. البته در برخی کشورها، به استفاده از واکسن‌های نوترکیب و تحت واحد مجوز داده شده است. واکسن‌های زنده، ایمنی هومورال و سلولی قوی ایجاد می‌کنند و زمانی که واکسیناسیون به شکل گروهی از طریق آب آشامیدنی اجرا می‌شود، پاس مطلوبی به همراه خواهد داشت. با این حال و به دنبال کاربرد گسترده این واکسن‌ها، احتمال بازگشت به حدت و اثرات سرکوب ایمنی ناشی از آن وجود دارد (۱۲، ۱۳). واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته به عنوان رایج‌ترین واکسن مورد استفاده در صنعت پرورش ماکیان، بر اساس شدت ضایعات هیستوپاتولوژیک که در جوجه‌های بدون عوامل بیماری‌زای خاص (SPF) ایجاد می‌کند، به سه دسته واکسن‌های با حدت ملایم (Mild)، اینترمیدیت (Intermediate) و اینترمیدیت پلاس (Intermeditate plus) دسته‌بندی می‌شوند. از آنجا که

واکسن‌های ملایم حتی در حضور مقادیر اندک آنتی‌بادی منتقله از مادر به جوجه (آنتی‌بادی مادری یا MAD) خنثی می‌شوند، در مناطق پرخطر و در برابر سویه‌های بسیار حاد، فاقد کارآمدی است. در مقابل واکسن‌های اینترمیدیت (Intermediate) و اینترمیدیت پلاس (Intermeditate plus) به‌طور منظم برای محافظت از جوجه‌ها در برابر سویه‌های بسیار حاد ویروس گامبورو استفاده می‌شوند (۱۴). برنامه اصلی واکسیناسیون علیه ویروس گامبورو در کشور در گله‌های مولد با واکسن زنده تخفیف حدت یافته آغاز و سپس با استفاده از واکسن‌های غیر فعال امولسیون روغنی در پیش از تخم‌گذاری ادامه می‌یابد تا آنتی‌بادی‌های حاصل از آن، به نتاج انتقال یابند (۱۵، ۱۶). در گله‌های گوشتی یا مولد، موثرترین شیوه واکسیناسیون علیه بیماری بورس عفونی بر اساس زمان و با توجه به میزان تیتر آنتی‌بادی مادری باقیمانده مشخص می‌شود؛ بدین صورت که با کاهش تدریجی سطح آنتی‌بادی مادری پس از تولد جوجه‌ها، زمان مناسب جهت واکسیناسیون فرا می‌رسد تا ویروس واکسن بتواند از فعالیت خنثی‌کنندگی آنتی‌بادی مادری عبور و ایمنی مناسبی در گله ایجاد کند. بنابراین با کمک آزمون‌های سرولوژی نظیر الایزا (ELISA)، عیار آنتی‌بادی مادری جوجه علیه ویروس گامبورو را تعیین کرده، با استفاده از روش‌هایی نظیر فرمول دونتر (Deventer) بهترین زمان برای واکسیناسیون را تخمین می‌زنند (۱۷، ۱۸). علاوه بر واکسن‌های ذکر شده، واکسن‌های بر پایه ویروس‌های زنده تخفیف حدت یافته با منشأ مزرعه (واکسن Naked) و واکسن‌های کمپلکس ایمنی (IBD-ICX) نیز به‌صورت تجاری در دسترس هستند. (۱۹-۲۱). واکسن‌های ایمونوکمپلکس نیز با افزودن سرم هایپرایمن علیه ویروس گامبورو به واکسن زنده تخفیف حدت یافته اینترمیدیت پلاس (Intermeditate plus) تهیه می‌شوند (۲۲، ۲۳). مکانیسم تحریک سیستم ایمنی در واکسن‌های IBD-ICX ممکن است به‌دلیل به دام افتادن و حفظ کمپلکس ایمنی بر روی سلول‌های دندریتیک فولیکولی (FDCs) موجود در بورس و طحال باشد (۲۴).

در سال‌های گذشته، مشکلات و محدودیت‌های موجود در تأمین واکسن، سازمان دامپزشکی کشور را مجاب کرده است تا افزون بر تولید واکسن زنده گامبورو در داخل کشور (مؤسسه رازی)، با واردات آن از شرکت‌های متعدد خارجی موافقت کند. لازم به ذکر است واکسن کشته سه‌گانه گامبورودار در شرکت ایرانی پسوک تولید می‌گردد. با توجه به جدید بودن سویه‌ها و پلت فرم‌ها و تنوع ژنتیکی سویه‌های واکسن وارداتی و تولید داخل، هدف از این مطالعه بررسی شجره‌شناسی و تقسیم‌بندی سویه‌های واکسن موجود در واکسن‌های مختلف موجود در کشور است که در جهت افزایش سطح دانش و انتخاب واکسن مناسب توسط محققین و متخصصین می‌تواند بسیار مؤثر و راهگشا باشد.

مواد و روش‌ها

انتخاب واکسن: در این مطالعه چهارنوع واکسن که عبارتند از: واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته IBD07IR (مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، ایران)، B87 (شرکت QYH، چین) و MyHatch UPM 93 (شرکت UPM، مالزی) و واکسن ایمونوکمپلکس گامبوهچ (Gumbohatch) (شرکت هیپرا، اسپانیا) مورد بررسی قرار گرفتند.

استخراج RNA و RT-PCR: استخراج RNA با استفاده از کیت شرکت سیناکلون (Sina pure RNA extractin kit) ساخت ایران و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. RNA استخراج شده تا زمان انجام مرحله بعدی به فریزر ۸۰- منتقل شد. سنتز cDNA (شرکت یکتاتجهیز آزما، ایران) در دو مرحله صورت گرفت. در مرحله اول میزان ۱ میکرولیتر رندوم هگزامر با ۱۰ میکرولیتر از RNA استخراج شده مخلوط شده و برای مدت پنج دقیقه در دمای ۷۰° سلسیوس و پس از آن برای مدت یک دقیقه در دمای ۵° سلسیوس قرار گرفت. در مرحله دوم مقدار ۱ میکرولیتر از آنزیم

ترانس‌کریپتاز معکوس، ۲ میکرولیتر dNTP، ۲ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۴ میکرولیتر بافر آنزیم ریورس ترانس‌کریپتاز مورد استفاده به محصول واکنش مرحله اول افزوده شد و سپس برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵° سلسیوس، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۰° سلسیوس، ۵ دقیقه در دمای ۸۵° سلسیوس و ۱ دقیقه در دمای ۵° سلسیوس قرار داده شد. واکنش PCR برای ساخت بخشی از دو ژن VP1 و VP2 در حجم ۲۵ میکرولیتر با استفاده از پرایمرهای جدول شماره ۱ انجام شد. برای تهیه مخلوط واکنش PCR از کیت شرکت سیناکلون به روش زیر استفاده شد: ۱/۵ میکرولیتر 50mM $MgCl_2$، ۲/۵ میکرولیتر Buffer 10X PCR، ۱ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرها، ۰۵ میکرولیتر dNTPs 10mM، ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم polymerase Taq DNA، ۳ میکرولیتر از cDNA ساخته شده و ۱۵/۲۵ میکرولیتر آب مقطر استریل استفاده شد. در برنامه دمایی PCR ابتدا دمای ۹۵ °C به مدت ۵ دقیقه جهت واسرشت‌سازی اولیه اعمال شد. سپس واکنش PCR با ۳۹ سیکل شامل ۹۵° سلسیوس برای ۳۰ ثانیه جهت واسرشت‌سازی، ۵۲° سلسیوس برای ۳۰ ثانیه برای اتصال پرایمرها، ۷۲° سلسیوس به مدت ۳۰ ثانیه جهت طویل‌سازی ادامه یافت و در پایان واکنش دمای ° ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱۰ دقیقه جهت طویل‌سازی نهایی به واکنش اعمال شد. پس از انجام واکنش PCR، میزان ۵ میکرولیتر از محصول واکنش بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. همچنین تمام نمونه‌ها از نظر مایکوپلاسما، لوکوز j و ویروس کم‌خونی عفونی به روش مولکولی مورد آزمایش قرار گرفت (۲۵-۲۷).

جدول ۱- پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی و سکانس بخشی از ژن‌های VP1 و VP2

Primers	Sequence 5'–3'	Ampliconsize (bp)	Reference
	VP1		
Forward	AATGAGGAGTATGAGACCGA	1051	**(41)**
Reverse	CCTTCTCTAGGTCAATTGAGTACC		
	VP2		
Forward	CCCAGAGTCTACACCATA	473	**(42)**
Reverse	TCCTGTGCCACTCTTTC		

تعیین توالی و آنالیز فیلوژنی: نمونه‌های مثبت برای تعیین توالی به شرکت کدون ژنتیک (تهران، ایران) ارسال شد. تعیین توالی با استفاده از روش سنگر انجام شد. تعیین کیفیت اولیه خوانش‌های انجام شده با استفاده از نرم‌افزار Chromas (version 2.5.0) و پس از آن با استفاده از ابزار BLAST صورت گرفت. ویرایش توالی‌ها همچنین با استفاده از نرم‌افزار Bioedit انجام شد. از نرم‌افزار MEGA 7 برای ترسیم درخت فیلوژنتیک از طریق روش Maximum likelihood استفاده شد. ترسیم این درخت بر اساس توالی‌های ژن VP1 و VP2 به‌دست آمده در این مطالعه و توالی‌های مختلف سویه‌های موجود در بانک جهانی ژن بود.

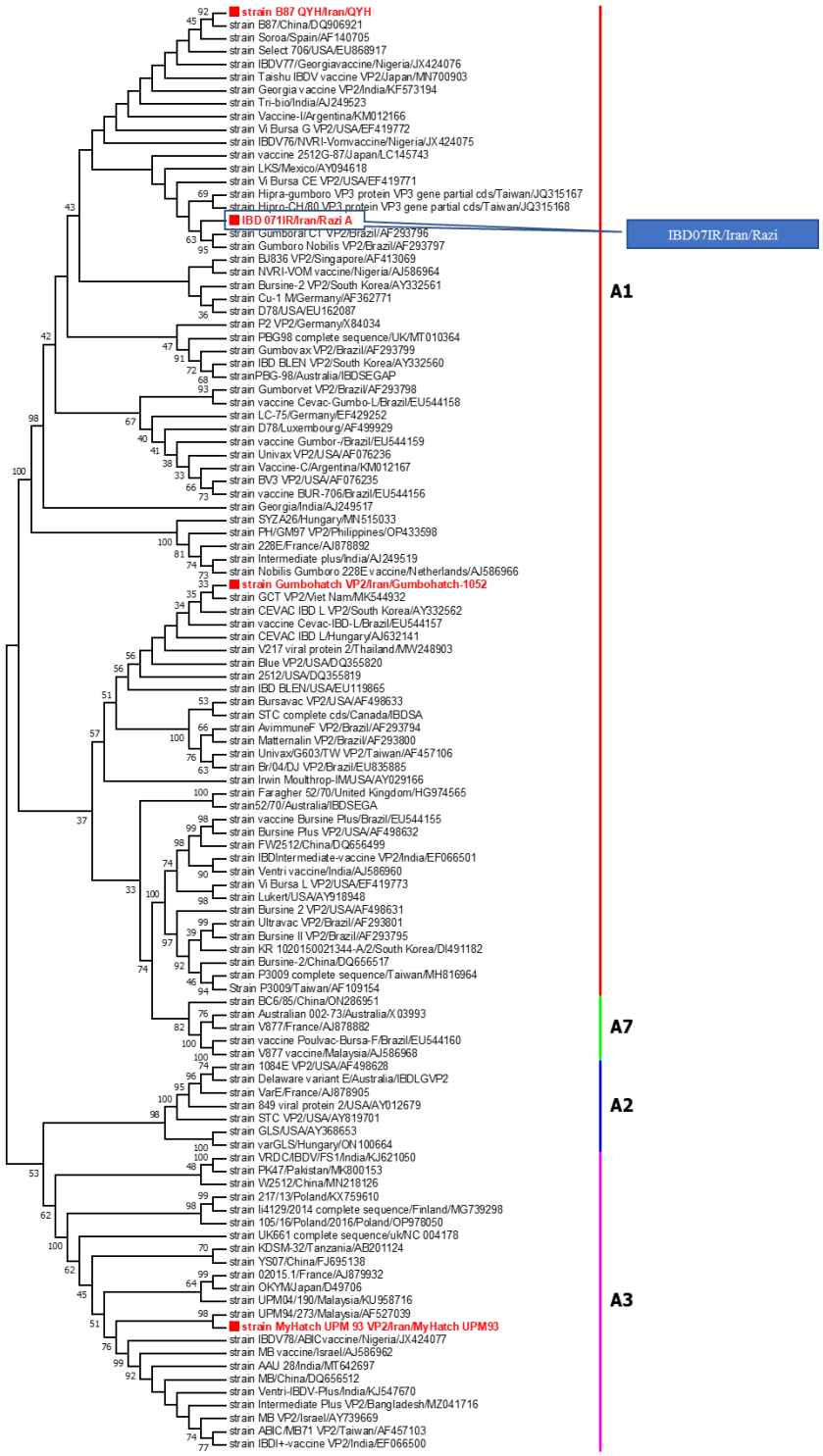
نتایج

در درخت شجره‌شناسی براساس ژن VP1 سویه واکسن B87 QYH در نزدیکی سویه B87 کشور چین (DQ906922)، سویه واکسن IBD07IR رازی در مجاور سویه D78 کشور آمریکا (EU162090) و سویه گامبوهچ (Gumbohatch) (سویه ۱۰۵۲) در مجاور سویه (MF969108) 150127/0.2 کشور الجزایر در گروه B1 قرار گرفتند. همچنین MyHatch UPM 93 در گروه ژنتیکی B2 مجاور سویه (F527040) UPM97/61 کشور مالزی قرار گرفت. از سوی دیگر، در بررسی درخت شجره‌شناسی بر اساس ژن VP2 سویه واکسن B87 QYH در مجاورت سویه B87 کشور چین (DQ906921)، سویه

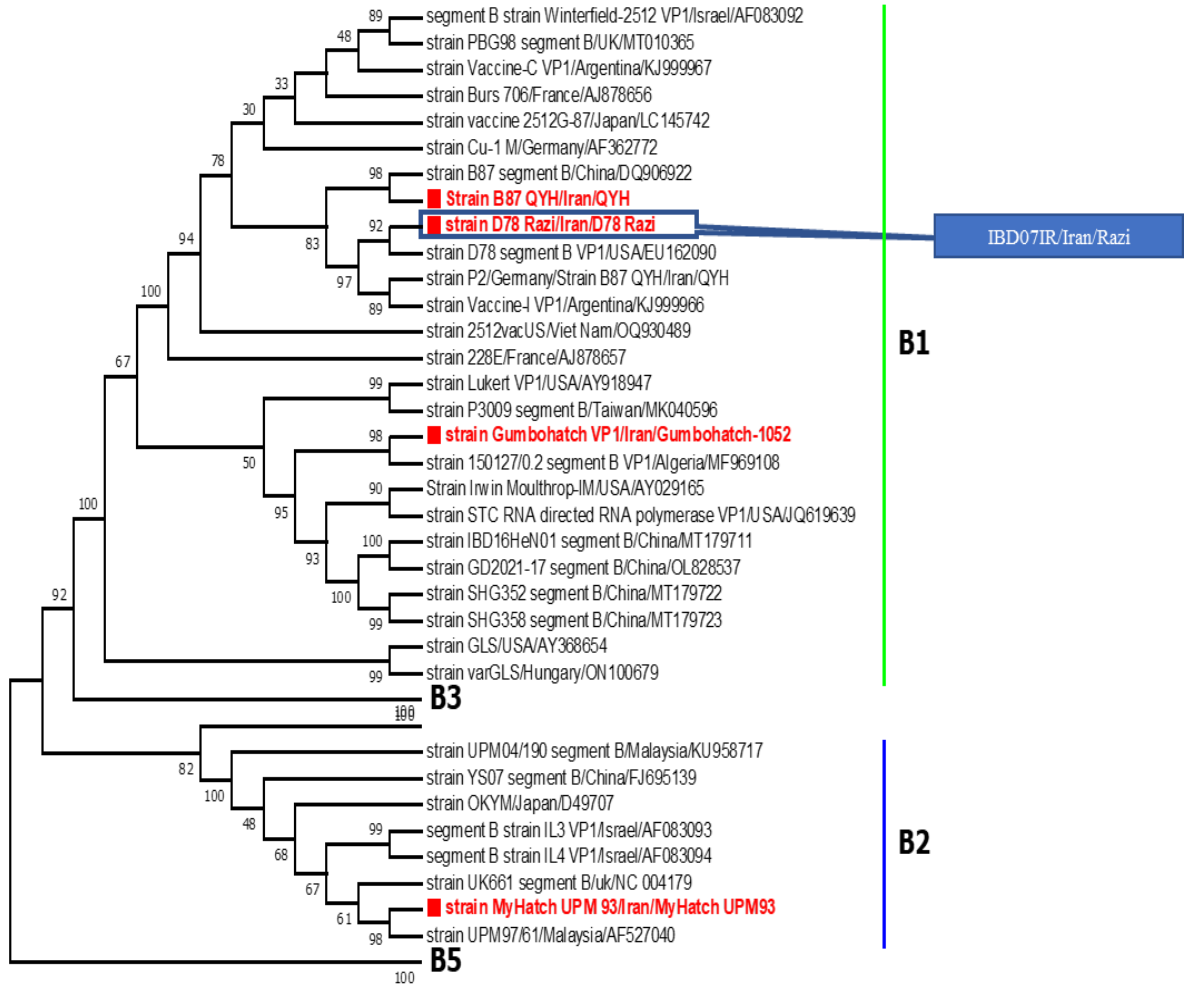
واکسن IBD07IR در مجاور سویه‌های Gumboral CT (AF293796) VP2 و Gumboro Nobilis VP2 (AF293797) کشور برزیل و سویه گامبوهچ (Gumbohatch) در مجاورت سویه GCT (MK544932) کشور ویتنام در گروه A1 قرار گرفتند. سویه MyHatch UPM 93 نیز در گروه A3 و در نزدیکی سویه UPM94/273 (AF527039) کشور مالزی قرار گرفت (شکل ۱ و ۲). در پایان بعد بررسی‌ها براساس ژن‌های VP1 و VP2 بذر واکسن شرکت MyHatch UPM 93 جزو بذرهای حاد واکسن قرار گرفت که بعد از تخفیف حدت به اینترمدیت پلاس کاهش پیدا کرده است. با استفاده درخت فیلوژنی، ژنوتیپ واکسن‌های مورد مطالعه مشخص شدند که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود. همچنین با توجه به برخی از نگرانی‌ها در خصوص آلودگی واکسن‌های وارداتی به عوامل اگزوژن (مایکوپلاسما، لکوز J و ویروس کم‌خونی) این بچ از واکسن‌های مورد بررسی قرار گرفت و حضور این عوامل در این سری تولید از واکسن‌ها منفی اعلام می‌گردد (روش کار و اطلاعات منتشر نشده).

جدول ۲- خلاصه یافته‌ای ژنوتایپینگ واکسن‌های وارداتی و تولید ایران بر اساس دو قطعه A و B ویروس بورس عفونی پرندگان

ردیف	نام واکسن	تیپ واکسن	شرکت تولید کننده	ژنوتایپ
1	IBD07IR	زنده تخفیف حدت یافته	موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی	A1B1
2	B87	زنده تخفیف حدت یافته	QYH	A1B1
3	GUMBOHATCH	ایمونوکمپلکس	HIPRA	A1B1
4	MyHatch UPM93	Naked	UPM	A3B2



شکل ۱- آنالیز فیلوژنی بر اساس قطعه‌ی B (ژن VP1). با نرم‌افزار MEGA 7 مدل ML. تفاوت ژنتیکی سویه‌های واکسن تجاری مورد استفاده در ایران در مقایسه با توالی‌های فیلد و واکسن ثبت شده در بانک جهانی ژن نمایش داده شده است.



شکل ۲- آنالیز فیلوژنی بر اساس قطعه‌ی A (ژن VP2). با نرم‌افزار MEGA 7 مدل ML. تفاوت ژنتیکی سویه‌های واکسن تجاری در مقایسه با توالی‌های فیلد و واکسن ثبت شده در بانک جهانی ژن مورد استفاده در ایران نمایش داده شده است.

بحث و نتیجه‌گیری

ویروس بیماری بورس عفونی همچنان یک تهدید بزرگ برای صنعت طیور در کشورهای مختلف است (۲۸). این بیماری علاوه بر تلفات بالا، به‌ویژه در مورد سویه‌های بسیار حاد، به‌وسیله تضعیف سیستم ایمنی (حتی در موارد فاقد نشانه‌های بالینی) نه تنها پرندگان را نسبت به ابتلا به سایر بیماری‌ها حساس می‌کند، بلکه با واکسیناسیون علیه سایر بیماری‌ها نیز تداخل ایجاد می‌کند و کارآیی واکسن‌ها را کاهش می‌دهد. در نتیجه منجر به تلفات غیر مستقیم، کاهش رفاه حیوانات و کاهش عملکرد آنها و استفاده بیشتر از درمان‌های دارویی، مانند داروهای ضد میکروبی می‌شود و بدین‌ترتیب از جمله بیماری‌های اصلی مؤثر بر اقتصاد مرغداری‌های سراسر دنیا است (۱، ۲۹).

پروتئین VP2 که در بیماری‌زایی ویروس نقش دارد و پروتئین VP1 که در فرآیند همانندسازی و همچنین تعیین میزان حدت ویروس نقش دارد و به‌ترتیب توسط قطعات A و B کدگذاری می‌شوند، در سال‌های گذشته مبنای تجزیه و تحلیل‌های فیلوژنی ویروس گامبورو قرار گرفته‌اند (۳۰، ۳۱). Michel و Jackwood در سال ۲۰۱۷ و Jackwood و همکاران در سال ۲۰۱۸، شیوه جدیدی برای تقسیم‌بندی سویه‌های مختلف ویروس گامبورو ارائه دادند که در آن سویه‌های مختلف ویروس گامبورو را بر اساس توالی‌یابی ناحیه بسیار متغییر VP2

(Hypervariable Region HVR) که در ناحیه آمینواسیدی ۳۵۰-۲۰۶ پروتئین VP2 قرار دارد و متغیرترین ناحیه این پروتئین است، در ۷ گروه ژنتیکی متفاوت قرار دادند (۳۲-۳۴). در سال ۲۰۲۱ نیز Islam و همکاران، سویه‌های مختلف ویروس گامبورو را بر اساس توالی‌یابی و جایگشت‌های مختلف دو قطعه A و B به ۱۵ گروه ژنتیکی تقسیم‌بندی کردند که در آن ناحیه HVR در پروتئین VP2 و ناحیه‌ای تحت عنوان نشانگر-B (ناحیه آمینواسیدی ۲۵۲-۱۱۰) در پروتئین VP1 مورد بررسی فیلوژنی قرار گرفت (۱۱، ۳۴). در این مطالعه Islam و همکاران، در تقسیم‌بندی سویه‌های جدا شده بر اساس توالی A، سویه‌های متعلق به سروتیپ یک را در ۸ گروه ژنتیکی که عبارتند از: A1 (کلاسیک)، A2 (واریانت آنتی‌ژنی ایالات متحده آمریکا)، A3 (بسیار حاد)، A4 (سویه متمایز)، A5 (مکزیکی غیر معمول)، A6 (ایتالیایی غیر معمول)، A7 (استرالیایی اولیه) و A8 (واریانت استرالیایی) تقسیم‌بندی کردند. همچنین گروه ژنتیکی A را به سویه‌های سروتیپ دو نسبت دادند؛ و سپس سویه‌ها را بر اساس توالی‌یابی قطعه B در ۵ گروه ژنتیکی متفاوت طبقه‌بندی کردند. قاعدتاً از جایگشت این گروه‌های ژنی، باید ۴۵ نوع ژنوتیپ متفاوت حاصل شود اما در این مطالعه سویه‌ها را توانستند در مجموع در ۱۵ نوع ژنوتیپ متفاوت (A1B1، A1B2، A1B3، A2B1، A3B1، A3B2، A3B3، A3B4، A3B5، A4B1، A5Bx، A6B1، A7B3، A8B3 و A0B1) تقسیم‌بندی کنند. در مطالعه حاضر نیز دو توالی HVR و نشانگر-B که در مطالعات گذشته بسیار مورد بررسی‌های فیلوژنی قرار گرفتند، در تقسیم‌بندی سویه‌های واکسن‌های موجود در داخل کشور ایران (برخی از واکسن‌های وارداتی گامبورو در کشور در جدول شماره چهار آورده شده است) و رسم درخت فیلوژنی مورد استفاده قرار گرفتند. البته لازم به ذکر است که به‌دلیل ژنوم دو قطعه‌ای ویروس گامبورو، پدیده بازآرایی ممکن است رخ دهد که در سراسر جهان نیز گزارش‌های زیادی از آن وجود دارد. این پدیده می‌تواند باعث شکل‌گیری ژنوتیپ‌های جدید ویروس شود. در مطالعه انجام شده توسط Wang و همکاران در سال ۲۰۲۱، سویه جدیدی را به نام IBDV-JS19-14701 در کشور چین جداسازی و گزارش کردند که دارای ژنوتیپ جدید A2B3 بود و بررسی‌های فیلوژنی نشان دادند که این سویه قطعه A2 خود را از ویروس سویه نوظهور nVarIBDV با ژنوتیپ A2B1 در کشور چین و قطعه B3 خود را از سویه‌های شبه HLJ0504 با ژنوتیپ A3B3، که در چین در حال گردش است، دریافت کرده است (۳۵). در مطالعه انجام شده توسط Legnardi و همکاران در سال ۲۰۲۲، سویه‌ای را جداسازی کردند که با هیچ‌یک از گروه‌های ژنی موجود شباهت کافی نداشت، بنابراین در این مطالعه یک گروه ژنتیکی جدید تحت عنوان A9 معرفی شد و ژنوتیپ این سویه جدید، A9B1 گزارش شد اما پاتوژنسیته این ژنوتیپ هنوز مشخص نشده است (۳۶).

از راه‌های اصلی کنترل بیماری بورس عفونی، رعایت امنیت زیستی و واکسیناسیون است که در این بین واکسیناسیون بهترین روش کنترل بیماری به شمار می‌رود (۱۵). واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته، غیر فعال، بر پایه سویه تخفیف حدت یافته از سویه مزرعه (Naked)، ایمونوکمپلکس و واکسن‌های نوترکیب بر پایه وکتور HVT به‌صورت تجاری در کشور ایران استفاده می‌شوند (۱، ۳۷). در حال حاضر برنامه اصلی مورد استفاده در کشور، شامل واکسیناسیون با واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته و به جهت تقویت ایمنی علیه ویروس، القای ایمنی یکنواخت و انتقال آنتی‌بادی مادری به جوجه‌ها، تزریق واکسن‌های غیر فعال پیش از تخم‌گذاری در گله‌های مولد است. اما واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته می‌توانند باعث تضعیف سیستم ایمنی شده و همواره خطر بازگشت حدت و بیماری‌زایی را دارند. همچنین به‌دلیل دارا بودن میکروارگانسیم زنده می‌توانند خود باعث بازآرایی و ایجاد ژنوتیپ جدید ویروس شوند. این قضیه باعث معرفی انواع جدیدتر واکسن شامل واکسن‌های بر پایه DNA، نوترکیب بر پایه هرپس ویروس بوقلمون

(HVT) و کمپلکس ایمنی شده است که مشخصات و مزایای استفاده از آنها در جدول ۳ به اختصار ذکرشده است (۱۰، ۲۱، ۳۷).

جدول ۳- مشخصات و مزایای نسبی پلت فرم‌های مختلف واکسن بورس عفونی پرندگان (۳۷)

	سازگاری با واکسیناسیون مارک	کاربرد در هچری		تنظیم شده بر اساس میزان آنتی‌بادی مادری انفرادی	شروع اولیه تکثیر در بورس	طیف حفاظت سویه‌های مختلف ویروس گامبورو		
		داخل تخم‌مرغی	زیر جلدی			واریانت	سویه خیلی‌حاد	کلاسیک
واکسن‌های برهنه (Naked)	بله	بله	بله	++	+++	+++	+++	+++
کمپلکس ایمنی	بله	بله	بله	+	++	++	++	++
واکسن نو ترکیب بر پایه هرپس ویروس بوقلمون	بله	بله	بله	_	++	++	++	++

با وجود واکسیناسیون گسترده علیه بیماری بورس عفونی، گزارشات فراوانی از عدم کارآیی واکسن‌های موجود در کنترل بیماری در سراسر جهان وجود دارد که احتمال می‌رود به‌دلیل رخداد بازآرایی‌های متعدد و جهش در ژنوم ویروس (به‌ویژه در ناحیه HVR) باشد، بنابراین یک مطالعه جامع در جهت بررسی محافظت متقاطع بین ژنوتیپ‌های متفاوت سویه‌های واکسن و سویه‌های فیلد بسیار مورد نیاز است. در مطالعه انجام شده توسط Reddy و همکاران در سال ۲۰۲۲، با استفاده از تست سرولوژی VN، میزان خنثی‌سازی ویروس‌های سویه‌های مختلف از گروه‌های ژنتیکی A1 تا A8 (به‌جز A7) را توسط سویه واکسن گروه ژنتیکی A1 در دو روش درون‌تنی (در ۹ جوجه SPF) و برون‌تنی (کشت در رده سلولی DT40 لنفوسیت B) بررسی کردند. نتایج حاکی از آن بودند که در هردو بخش درون‌تنی و برون‌تنی، واکسن A1 بیشترین شباهت آنتی‌ژنی را به گروه‌های ژنتیکی A1، A3 و A4 داشت و میزان خنثی‌سازی ویروس‌های A6 و A8 در مقایسه با ویروس‌های A1، A3 و A4 به‌طور قابل توجهی کمتر بود. این داده با داده‌های منتشر شده توسط Lupini و همکاران در سال ۲۰۱۵ مطابقت داشت که عفونت با سویه‌ای جدید را در گله‌های مرغ واکسینه شده علیه بیماری بورس عفونی توسط واکسن‌های معمول موجود در ایتالیا گزارش کردند که امروزه این سویه را در گروه ژنتیکی A6 طبقه‌بندی می‌کنیم. در مطالعه‌ی Reddy و همکاران، واکسن مورد استفاده، بیشترین اختلاف آنتی‌ژنی و کمترین میزان کارآیی و تیتر خنثی‌سازی علیه سویه‌ای از گروه ژنتیکی A2 را در دو آزمایش درون و برون‌تنی نشان داد (۳۸، ۳۹).

مطالعه حاضر نیز با استفاده از توالی‌یابی و بررسی فیلوژنی نواحی نشانگر B- در قطعه B ژنوم و ناحیه بسیار متغیر HVR در قطعه A ژنوم، به تعیین ژنوتیپ چهار واکسن تجاری مورد استفاده در صنعت پرداخته و اطلاعات مربوط به آن در جدول شماره ۲ آمده است. در کشور واکسن‌های مختلف گامبورو (اینترمدیت، اینترمدیت پلاس و ایمنوکمپلکس) مورد استفاده قرار می‌گیرد (جدول شماره ۴). از سال ۱۳۹۷ که مشکل واردات واکسن از کشورهای اروپایی برای صنعت طیور کشور، ایجاد شد سازمان دامپزشکی تصمیم به تأمین واکسن‌های مورد نیاز از کشورهایی با مبدأ غیر اروپا و همچنین تقویت تولید واکسن زنده در داخل کشور گرفت. در این مطالعه

چهار نوع از این واکسن‌ها شامل: سه واکسن زنده تخفیف حدت یافته IBD07IR (مؤسسه رازی، ایران)، B87 (شرکت QYH، چین) و MyHatch UPM93 (شرکت UPM، مالزی) و واکسن ایمونوکمپلکس گامبوهچ (Gumbohatch) (شرکت هیپرا، اسپانیا) مورد بررسی واقع شدند.

جدول ۴- برخی از واکسن‌های وارداتی بیماری بورس عفونی پرندگان به جمهوری اسلامی ایران

ملایم - اینترمدیت		اینترمدیت پلاس	
نام تجاری	شرکت	نام	شرکت
CH80	هیپرا	GM97	هیپرا
ND IBD INT	جنرا	AVIVAC-IBD	اویواک
D78	اینتروت	CEVA IBDL	سوا
B87	QYH	E228	اینتروت
CEVAC GUMBO L	سوا	Avipro IBD Xtreme	لوهمن
Bursine – 2	زئوتیس	Transmune	سوا
INMUGAL I.B.A. GUMBORO	اوژرو	Novamune	سوا
Avipro Precise	لوهمن	GUMBOHATCH	هیپرا
ORNIBUR INTERMEDIATE	بیووتا	Bursaplex Poulvac	زئوتیس
Bur-706	بوهرینگر		
IBD07IR	رازی	Myhatch UPM (Naked vaccine)	UPM

هر دو واکسن زنده تخفیف حدت یافته IBD07IR (مؤسسه رازی) و B87 (شرکت QYH) از نوع واکسن‌های اینترمدیت (Intermediate) می‌باشند که در بررسی توالی نوکلئوتیدی پروتئین VP2، در گروه ژنتیکی A1 طبقه‌بندی می‌شوند که در این بررسی واکسن B78 در مجاورت سویه B78 کشور چین (DQ906921) و واکسن IBD07IR در مجاورت سویه‌های (AF527039) Gumboral CT VP2 و Gumboro Nobilis VP2 (AF293797) کشور برزیل قرار می‌گیرند. در رسم درخت فیلوژنی بر اساس توالی پروتئین VP1، سویه واکسنB87 در نزدیکی سویه B87 کشور چین (DQ906922) و سویه واکسن IBD07IR در مجاور سویه D78 کشور آمریکا (EU162090) طبقه‌بندی می‌شود. این واکسن به‌عنوان یکی از پرفروش‌ترین واکسن‌های زنده تحفیف حدت یافته در چین مصرف می‌گردد و بسیاری از شرکت‌های چینی از این بذر در جهت تولید واکسن‌های زنده خود استفاده می‌کنند. این دو نوع واکسن B87 و واکسن IBD07IR مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی بر اساس تجربیات قبلی دارای عملکرد و همچنین ایمنی مناسب می‌باشند و به‌عنوان یک گزینه استفاده در اختیار گله‌های مادر، تخم‌گذار و گوشتی قرار گرفته‌اند. در مطالعه نبی‌نژاد، واکسن IBD07IR مؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی سبب ایجاد تیتر مناسب در جوجه گوشتی آرین شد؛ شاخص بورسی (وزن بورس به وزن بدن) مناسب از خود نشان داد و همچنین فاقد اثرات سوء تضعیف سیستم ایمنی بود (۴۰).

واکسن جدیدی که در سال ۱۴۰۲-۱۴۰۱ ثبت و وارد کشور شده است، واکسن MyHatch UPM 93 شرکت UPM کشور مالزی مباشد. این واکسن یک واکسن زنده تخفیف حدت یافته اینترمیدیت پلاس (intermediate plus) می‌باشد که هم قابلیت مصرف در یک‌روزگی در هچری را دارا می‌باشد و هم به مستندات شرکت

تولیدکننده امکان مصرف برخی از مدل‌های تولید آن در روز ۳ تا ۵ وجود دارد. در ساخت این واکسن یک جدایه بومی مالزیایی از ویروس گامبورو با نام UPM 93273 (MyHatch UPM 93) انتخاب، بهینه و با موفقیت در تخم‌مرغ جنین‌دار SPF و کشت سلول برای توسعه و تولید واکسن اینترمیدیت پلاس (Intermediate Plus) تخفیف حدت داده شده است. این واکسن با روش‌های قطره چشمی، آشامیدنی یا تزریق داخل تخم‌مرغ بکار می‌رود و تحت شرایط آزمایشگاهی، برای ایجاد محافظت در برابر سویه‌های خیلی حاد در جوجه‌های SPF و جوجه‌های تجاری موفق بوده است. MyHatch UPM 93 قادر به عبور از سطوح بالای آنتی‌بادی‌های مادری و تحریک سیستم ایمنی علیه ویروس گامبورو است. این واکسن فاقد اثرات سرکوب کننده سیستم ایمنی بوده، تنها ضایعاتی خفیف در بورس ایجاد می‌کند. در این مطالعه، سویه این واکسن در بررسی توالی پروتئین VP2 در گروه ژنتیکی A3 و در نزدیکی سویه UPM94/273 (AF527039) کشور مالزی و در بررسی توالی نوکلئوتیدی پروتئین VP1 در مجاورت سویه UPM97/61 (F527040) کشور مالزی دسته‌بندی شد.

واکسن گامبوهچ (Gumbohatch)که تولید شده در شرکت هیپرا کشور اسپانیا می‌باشد، یک واکسن ایمونوکمپلکس و از سویه ۱۰۵۲ (اینترمدیت پلاس intermediate plus) می‌باشد. طبق نتایج این مطالعه، این واکسن بر اساس توالی نوکلئوتیدی VP2 در گروه ژنتیکی A1 و در مجاورت سویه GCT (K544932) VP2 کشور ویتنام و بر اساس توالی VP1 در مجاورت سویه 150127/0.2 (MF969108) کشور الجزایزو در گروه ژنتیکی B1 طبقه‌بندی شد. این واکسن به‌علت سویه مورد استفاده و همچنین میزان آنتی‌بادی همراه ویروس تنها واکسن ایمونوکمپلکس می‌باشد که قابلیت استفاده در سویه‌های تجاری گوشتی و تخم‌گذار را در هچری دارا می‌باشد. واکسن‌های مشابه این واکسن که قبل از آن در کشور مورد استفاده قرار می‌گرفت شامل واکسن ترانسمیون (سویه Winterfield 2512) شرکت سوا (یکی از پرمصرف‌ترین واکسن‌های قابل استفاده در هچری) و همچنین بورساپلکس (سویه Winterfield 2512) شرکت زئوتیس می‌باشد. اخیراً شرکت سوا واکسن نوامیون (سویه SYZA 26) را که یک واکسن ایمنوکمپلکس می‌باشد جهت استفاده در جوجه‌های تخم‌گذار شروع به پخش در کشور نموده است. همچنین شرکت واکسینووا واکسن ایمنوکمپلکس خود را (Vaxxon IBD imc) بر پایه سویه Winterfield 2512 به بازار دنیا و ایران معرفی کرده است. بر اساس دیتای ژنتیکی موجود این واکسن‌ها و تازه وارد بودن آنها، در این تحقیق مورد بررسی قرار نگرفتند.

هدف از این مطالعه تعیین ژنوتیپ واکسن‌های تجاری ویروس گامبورو بود که اخیراً در کشور مجوز استفاده دریافت نموده‌اند. امید است در آینده مطالعاتی در زمینه بررسی ژنوتیپ سویه‌های در حال گردش در مناطق مختلف کشور انجام گیرد تا با اطلاعات به دست آمده، بتوان به انتخاب بهترین واکسن ممکن در هر منطقه اقدام نمود و بدین ترتیب گامی بزرگ در کنترل این بیماری عفونی در کشور برداشت. همچنین اطلاعات این مقاله می‌تواند به‌عنوان یک تاریخچه مکتوب در زمینه سیر تحول واردات واکسن و شناخت انواع واکسن‌های وارداتی گامبورو در ایران در جهت مطالعات مختلف و همچنین اپیدمیولوژی مولکولی تحت بررسی قرار گیرد.

سپاسگزاری

در اینجا لازم می‌دانیم از زحمات آقای بهروز اسدی که در انجام این طرح تحقیقاتی یاری‌گر ما بودند، سپاسگزاری گردد. همچنین از شرکت‌های ویواپارس (جناب آقای دکتر مراد محمدزاده)، پارس فاطم (جناب آقای مهندس محمدرضا نوذری)، سرور فجر (جناب آقای مصطفی عالقیان) و همچنین از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی در انجام این طرح تحقیقاتی سپاسگزاری می‌شود.

References

1- Dey S, Pathak DC, Ramamurthy N, Maity HK, Chellappa MM. Infectious bursal disease virus in chickens: prevalence, impact, and management strategies. *Vet Med-Res Rep*. 2019: 85-97.

2- Sun JH, Lu P, Yan YX, Hua XG, Jiang J, Zhao Y. Sequence and analysis of genomic segment A and B of very virulent infectious bursal disease virus isolated from China. *J Vet Med., B*. 2003; 50(3): 148-54.

3- Mahgoub HA. An overview of infectious bursal disease. *Arch Virol*. 2012; 157: 2047-57.

4- Orakpoghenor O, Oladele SB, Abdu PA. Infectious bursal disease: Transmission, pathogenesis, pathology and control-an overview. *Worlds Poult Sci J*. 2020; 76(2): 292-303.

5- Razmyar J, Peighambari S. Molecular characterization of Iranian infectious bursal disease viruses. *Avian Dis*. 2008; 52(4): 665-9. [In Persian]

6- Dohms J, Jaeger J. The effect of infectious bursal disease virus infection on local and systemic antibody responses following infection of 3-week-old broiler chickens. *Avian Dis*. 1988: 632-40.

7- Jackwood DJ, Crossley BM, Stoute ST, Sommer-Wagner S, Woolcock PR, Charlton BR. Diversity of genome segment B from infectious bursal disease viruses in the United States. *Avian Dis*. 2012; 56(1): 165-72.

8- Cao Y, Yeung W, Law M, Bi Y, Leung F, Lim B. Molecular characterization of seven Chinese isolates of infectious bursal disease virus: classical, very virulent, and variant strains. *Avian Dis*. 1998: 340-51.

9- Van den Berg T, Morales D, Eterradossi N, Rivallan G, Toquin D, Raue R, *et al.* Assessment of genetic, antigenic and pathotypic criteria for the characterization of IBDV strains. *Avian Pathol*. 2004; 33(5): 470-6.

10- Li G, Kuang H, Guo H, Cai L, Chu D, Wang X, *et al.* Development of a recombinant VP2 vaccine for the prevention of novel variant strains of infectious bursal disease virus. *Avian Pathol*. 2020; 49(6): 557-71.

11- Islam MR, Nooruzzaman M, Rahman T, Mumu TT, Rahman MM, Chowdhury EH, *et al.* A unified genotypic classification of infectious bursal disease virus based on both genome segments. *Avian Pathol*. 2021; 50(2): 190-206.

12- Eterradossi N, Saif YM. Infectious bursal disease. *Dis Poult*. 2013: 219-46.

13- Rautenschlein S, von Samson-Himmelstjerna G, Haase C. A comparison of immune responses to infection with virulent infectious bursal disease virus (IBDV) between specific-pathogen-free chickens infected at 12 and 28 days of age. *Vet immunol immunopathol*. 2007; 115(3-4): 251-60.

14- Thomrongsuwannakij T, Charoenvisal N, Chansiripornchai N. Comparison of two attenuated infectious bursal disease vaccine strains focused on safety and antibody response in commercial broilers. *Vet World*. 2021; 14(1): 70.

15- Müller H, Mundt E, Eterradossi N, Islam MR. Current status of vaccines against infectious bursal disease. *Avian Pathol*. 2012; 41(2): 133-9.

16- Maas RA, Venema S, Oei HL, Pol JM, Claassen IJ, ter Huurne AA. Efficacy of inactivated infectious bursal disease (IBD) vaccines: comparison of serology with protection of progeny chickens against IBD virus strains of varying virulence. *Avian Pathol*. 2001; 30(4): 345-54.

17- De Wit J. Gumboro disease: estimation of optimal time of vaccination by the Deventer formula. Annual report and proceedings of COST Action. 2001; 839: 170-8.

18- Ahmed Z, Akhter S. Role of maternal antibodies in protection against infectious bursal disease in commercial broilers. *Int J Poult Sci*. 2003; 2(4): 251-5.

19- Iván J, Velhner M, Ursu K, Germán P, Mató T, Drén CN, *et al.* Delayed vaccine virus replication in chickens vaccinated subcutaneously with an immune complex infectious bursal disease vaccine: quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. Can. *J Vet Res*. 2005; 69(2): 135.

20- Giambrone J, Dormitorio T, Brown T. Safety and efficacy of in ovo administration of infectious bursal disease viral vaccines. *Avian Dis*. 2001: 144-8.

21- Hsieh MK, Wu CC, Lin TL. Priming with DNA vaccine and boosting with killed vaccine conferring protection of chickens against infectious bursal disease. *Vaccine*. 2007; 25(29): 5417-27.

22- Johnston P, Liu H, O'Connell T, Phelps P, Bland M, Tyczkowski J, *et al.* Applications in in ovo technology. *Poult Sci*. 1997; 76(1): 165-78.

23- Whitfill C, Haddad E, Ricks C, Skeeles J, Newberry L, Beasley J, et al. Determination of optimum formulation of a novel infectious bursal disease virus (IBDV) vaccine constructed by

mixing bursal disease antibody with IBDV. *Avian Dis*. 1995: 687-99.

24- Jeurissen SHM, Janse EM, Lehrbach PR, Haddad A, Avakian C, Whitfill DLO. The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. *Immun*. 1998; 95(3): 494-500.

25- Health WOfA. Chapter 3.3.5. Avian mycoplasmosis (Mycoplasma gallisepticum, M. synoviae). Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 2008.

26- Hosseini H, Majidi S, Kafi ZZ, Dizaji RE, Ghalyanchilangeroudi A. Molecular characterization and the first full sequencing genome of chicken infectious anemia virus (CIAV) in Iran. *Vet Res*. 2021; 22(4): 331. [In Persian]

27- Zhang Q, Mo G, Xie T, Zhang Z, Fu H, Wei P, *et al*. Phylogenetic Analysis of ALV-J Associated with Immune Responses in Yellow Chicken Flocks in South China. *Mediat Inflamm*. 2021; 1.

28- Wagari A. A review on infectious bursal disease in poultry. *Health Econ Outcome Res Open Access*. 2021; 7(2): 167.

29- Jackwood DJ, Sommer-Wagner SE, Stoute ST, Woolcock PR, Crossley BM, Hietala SK, *et al*. Characteristics of a very virulent infectious bursal disease virus from California. *Avian Dis*. 2009; 53(4): 592-600.

30- Liu M, Vakharia VN. VP1 protein of infectious bursal disease virus modulates the virulence in vivo. *Virol*. 2004; 330(1): 62-73.

31- Huang Z, Elankumaran S, Yunus AS, Samal SK. A recombinant Newcastle disease virus (NDV) expressing VP2 protein of infectious bursal disease virus (IBDV) protects against NDV and IBDV. *Virol*. 2004; 78(18): 10054-63.

32- Michel LO, Jackwood DJ. Classification of infectious bursal disease virus into genogroups. *Arch Virol*. 2017; 162: 3661-70.

33- Jackwood DJ, Schat KA, Michel LO, de Wit S. A proposed nomenclature for infectious bursal disease virus isolates. *Avian Pathol*. 2018; 47(6): 576-84.

34- Jiang N, Wang Y, Zhang W, Niu X, Huang M, Gao Y, *et al*. Genotyping and molecular characterization of infectious bursal disease virus identified in important poultry-raising areas of China during 2019 and 2020. Front. *Vet sci*. 2021; 8: 759861.

35- Wang Y, Jiang N, Fan L ,Niu X, Zhang W, Huang M, *et al*. Identification and pathogenicity evaluation of a novel reassortant Infectious Bursal Disease Virus (genotype A2dB3). *Viruses*. 2021; 13(9): 1682.

36- Legnardi M, Franzo G, Tucciarone CM, Koutoulis K, Duarte I, Silva M, *et al*. Detection and molecular characterization of a new genotype of infectious bursal disease virus in Portugal. *Avian Pathol*. 2022; 51(1): 97-105.

37- Berinstein A. Recombinant vaccines and infectious bursal disease virus. *Anim Sci Rev*. 2012; 215.

38- Lupini C, Giovanardi D, Pesente P, Bonci M, Felice V, Rossi G, *et al*. A molecular epidemiology study based on VP2 gene sequences reveals that a new genotype of infectious bursal disease virus is dominantly prevalent in Italy. *Avian Pathol*. 2016; 45(4): 458-64.

39- Reddy VR, Nazki S, Brodrick AJ, Asfor A, Urbaniec J, Morris Y, *et al*. Evaluating the breadth of neutralizing antibody responses elicited by infectious bursal disease virus genogroup A1 strains using a novel chicken B-cell rescue system and neutralization assay. *Virol*. 2022; 96(18):e01255-22.

40- NabiNejhad A, Noaman V, Allameh K. Evaluation of Bursa index of Razi Institute Gamburo vaccine in broilers breeding. *NFVM*. 2022; 4(2): 73-82. [In Persian]

41- Islam M, Zierenberg K, Müller H. The genome segment B encoding the RNA-dependent RNA polymerase protein VP1 of very virulent infectious bursal disease virus (IBDV) is phylogenetically distinct from that of all other IBDV strains. *Arch Virol*. 2001; 146: 2481-92.

42- Lin Z, Kato A, Otaki Y ,Nakamura T, Sasmaz E, Ueda S. Sequence comparisons of a highly virulent infectious bursal disease virus prevalent in Japan. *Avian Dis*. 1993: 315-23.

New Findings in Veterinary Medicine
Homepage: nfvm.uoz.ac.ir
Semiannual - Print ISSN: 2645-4491 Online ISSN: 2676-5004

Volume 8, Issue 1, Spring 2025, pages: 32-45

Genetic Characterization of Infectious Bursal Disease Virus Vaccines in Iran: Helping to make the right decision in choosing the right vaccine and molecular epidemiology studies

Arash ghalyanchi langeroudi[1*], Hossein Hosseini[2], Mohammad Abdoshah[3], Mohammad Hossein Fallah Mehrabadi[3], Ali Hojabr Rajeoni[1], Zahra Ziafati Kafi[1], Naser Sadri[1], Soroush Sarmadi[1], Fahimeh Jamiri[1], Alireza Bakhshi[1], Omid Eghbali[1]

1- Department of microbiology and immunology, Faculty of veterinary medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.
2- Department of clinical science, Faculty of veterinary medicine, Karaj Branch, Islamic Azad university, Karaj, Iran.
3- Razi Vaccine & Serum Research Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization, Karaj, Iran.

Receive: August 11, 2024; Revise: August 24, 2024; Accept: September 5, 2024

10.22034/nfvm.2024.472556.1251

Summary

Infectious bursal disease virus (IBDV) or Gumboro causes an acute and highly contagious infectious disease characterized by a severe suppression of the immune system (especially humoral) of chickens. This virus is a highly resistant RNA virus of the Birnaviridae family, whose genetic diversity has significant implications for disease manifestations, diagnosis and control. The new genetic classification of this virus is based on the nucleotide sequence of the A (VP2) and B (VP1) parts of its genome. Due to some problems and restrictions in importing vaccines from European countries, the Iranian veterinary organization has agreed in recent years to import Gumboro vaccine and produce it locally. The aim of this study is to investigate the phylogenetic and classification of vaccine strains and their compatibility with circulating viruses. In this study, four types of live attenuated vaccines (IBD07IR, Razi Vaccine and Serology Institute, Iran), B87 (QYH, China), GUMBOHATCH immunocomplex (Hypera, Spain) and MyHatch UPM 93 vaccine (MVP, Malaysia) were evaluated and then the genes encoding for two proteins VP2 and VP1 were amplified by RT-PCR method and sequenced. In brief, the live attenuated vaccines IBD07IR and B87 (Intermediate) and the Gumbohatch vaccine (Intermediate Plus) were categorized as group A1B1 and the MyHatch UPM 93 vaccine (Intermediate Plus) was classified as group A3B2. The results of this study can provide researchers and clinicians with appropriate information in the field of Gumboro vaccines and vaccine selection and can be used in molecular epidemiologic studies in Iran.

Keywords: *Iran, Identification, Immune complex, Infectious bursal disease, Vaccine*