DOI: 10.22092/vj.2020.128577.1659
شماره ۱۳۱ تابستان ۱۴۰۰
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

ردیابی مولکولی آستروویروس بوقلمون در استان زنجان، ایران

• منصور میاحي(نویسنده مسئول)
گروه علوم درمانگاهي، دانشکده دامپزشکي دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
• زهرا برومند
گروه علوم درمانگاهي، دانشکده دامپزشکي دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
• فروغ طلازاده
گروه علوم درمانگاهي، دانشکده دامپزشکي دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
• فرید یگانه
بهداشت و بیماري‌هاي طیور، دانشکده دامپزشکي دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۰-۰۹-۱۳۹۸ تاریخ پذیرش: ۲۸-۱۲-۱۳۹۸
Email: mansoor mayahi@scu.ac.ir

چکیده

آستروویروس‌های بوقلمون (TAstV)، به عنوان یکی از عوامل ایجاد سندرم التهاب روده در جوجه بوقلمون‌ها مطرح هستند. هدف از این مطالعه، بررسی آلودگی تعدادی از گله‌های صنعتی بوقلمون مبتلا به اسهال به آستروویروس‌ها با روش RT-PCR و به دنبال آن تعیین توالی ژنوم ویروس‌های ردیابی شده می‌باشد. برای این منظور ۳۰ گله بوقلمون زیر سه هفته با نشانه‌های اسهال و یا چسبندگی مدفوع در اطراف مقعد ازگله‌های بوقلمون استان زنجان انتخاب شدند. از هر گله ۱۰ بوقلمون انتخاب و از روده کوچک آن‌ها نمونه‌گیری انجام گرفت. RT-PCR و سکانس محصول PCR صورت گرفت و ژن پلیمراز نمونه مثبت تعیین توالی نوکلئوتیدی شد. ویروس در ۸ گله مثبت ارزیابی شد. توالی‌های به‌دست آمده در این مطالعه با توالی‌های موجود در بانک ژن مقایسه شدند و درخت فیلوژنی بر اساس توالی نوکلئوتیدی بخشی از ژن پلیمراز رسم شد و همه‌ی ۸ جدایه به دست آمده در این تحقیق در شاخه آستروویروس بوقلمون ۲ (TAstv) قرار گرفتند. سویه‌های بدست آمده بیشترین شباهت را به آستروویروس بوقلمون تیپ ۲ سویه‌های لهستانی داشتند. بررسی خصوصیات مولکولی آستروویروس‌های ردیابی شده کمک به شناخت تنوع ژنتیکی این ویروس‌ها نموده و در پیشگیری و کنترل بیماری‌های روده‌ای جوجه بوقلمون‌ها موثر است.

کلمات کلیدی: آستروویروس، بوقلمون، RT-PCR، ایران

Veterinary Researches & Biological Products No 131 pp: 14-19

Molecular identification of astrovirus in turkey in Zanjan province, Iran

By: Mayahi, M., (Corresponding Author) Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz; Ahvaz, Iran. Boroomand, Z., Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz; Ahvaz, Iran. Talazade, F., Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz; Ahvaz, Iran. and Yagane, F., Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Email: mansoor mayahi@scu.ac.ir

Received: 2018-01-27 **Accepted: 2018-03-07**

Turkey Astroviruses (TAstV) is one of the key factors in the emergence of the enteritis syndromes in poults. The aim of this study was to investigate the astrovirus contamination of some industrial turkey flocks with diarrhea in Zanjan province of Iran by RT-PCR and then to determine the genome sequence of the detected viruses. For this purpose, Samples were collected from 30 suspected turkeys' flocks less than 3 weeks ages with clinical signs, diarrhea or fecal pest around vent during 2018-2019. From each suspected flock, randomly ten turkeys were collected and after euthanized, post mortem performed and probable gross lesions were noted in special work sheet. The RT- PCR was performed. The analysis of the nucleotide sequences and their related amino acids was performed. The virus was detected in eight (66/26%) out of 30 flocks.The nucleotid sequences obtained in this study were compared with the sequences in the gene bank and the phylogenetic tree was drawn, ased on the polymerase genes and amino acid sequences obtained from GenBank all eight isolates obtained in this study were in the branch of Astrovirus turkey 2 (TAstv). These strains most closely resembled the Polish Astrovirus turkey 2 strains.It was concluded that astrovirus play roles in turkeys flock enteritis and farmer should consider prevention and control of turkey's intestinal diseases.

Key words: Astrovirus, Turkey, RT-PCR, Iran

مقدمه

آستروویروس‌ها، ویروس‌های بسیار کوچکی هستند که انتشار جهانی دارند و در پستانداران و بوقلمون به عنوان عوامل ایجادکننده گاستروانتریت حاد شناخته می‌شوند (۱۶). این ویروس‌ها کوچک بدون پوشش و با اندازه ۳۵-۲۵ نانومتر ودارای ژنوم RNA هستند که متعلق به خانواده آستروویریده و جنس آستروویروس می‌باشند. آستروویروس‌ها در گونه‌های مختلفی از پرندگان مانند ماکیان، اردک و بوقلمون وجود دارند. اثرات بیماری‌های روده‌ای به ویژه در صنعت پرورش متراکم طیور قابل توجه است. عواقب ناشی از کاهش وزن، افزایش بیماری و مرگ و میر، ضریب تبدیل مواد غذایی ضعیف و افزایش استفاده از درمان‌های ضد میکروبی، زیان‌های اقتصادی ناشی از این بیماری را بیشتر می‌کند.

آستروویروس‌ها همانند سایر ویروس‌های روده‌ای انتقال مدفوعی-دهانی دارند و باعث اسهال، دهیدراتاسیون و کاهش رشد می‌شوند. در برخی موارد آتروفی ملایم بورس فابریسیوس هم دیده شده است. واژه‌های مختلفی برای توصیف سندرم بیماری‌های روده‌ای مانند سندرم کاهش رشد جوجه‌های گوشتی (RSS)، کمپلکس انتریت جوجه بوقلمون (PEC) و سندرم مرگ و میر التهاب روده (PEMS) استفاده شده است. هر چند که، هیچ یک از این توصیف‌ها به عوامل خاص عفونی مربوط نمی‌باشد و ویروس‌های متعددی در بوجود آمدن آن‌ها دخیل می‌باشند. با این حال، به نظر می‌رسد آسترو ویروس‌ها در اغلب انتریت‌ها نقش دارند. آستروویروس‌های بوقلمون (TAstV) اولین بار در جوجه بوقلمون‌های ۱۱-۶ روزه با علائم اسهال و مرگ و میر فزاینده در انگلستان (۱۹۸۰)

شناسایی شدند (۳). آستروویروس‌های بوقلمون‌ها به دو گروه TAstV۱ و TAstV۲ تقسیم‌بندی می‌شوند. ویروس نفریت پرندگان (ANV) هم که در این جنس قرار دارد، در بوقلمون‌ها شناسایی شده است (, ۵۳). ژنوم آستروویروس‌ها دارای سه جایگاه خوانش (ORF) است که برای ردیابی آن‌ها در روش‌های مولکولی، پرایمر بر اساس ژن کپسید یا ژن پلیمراز طراحی می‌گردد. در تعدادی از بررسی‌ها نشان داده شده که تفاوت‌هایی در سطح نوکلئوتیدی و آمینواسیدی در ژن کپسید و یا پلیمراز آستروویروس‌های گروه ۲ بوقلمون‌ها وجود دارد (۲). تحقیقات نشان می‌دهد RNA، ORF۱b وابسته به RNA پلیمراز ویروس را کد نموده و کمترین تغییرات را به خود اختصاص می‌دهد و جهت ردیابی آستروویروس مورد استفاده قرار می‌گیرد. جهش‌ها می‌توانند باعث تغییر در خواص آنتی ژنی و بیماری‌زایی این ویروس‌ها شوند.

در کشور ایران، صنعت پرورش بوقلمون گوشتی به سرعت در حال رشد و توسعه است و تمرکز و بررسی تخصصی‌تر مشکلات و بیماری‌های مربوط به این صنعت از جایگاه ارزشمندی برخوردار است. تاکنون هیچ‌گونه بررسی و یا مطالعه‌ای برای تعیین نقش عوامل ویروسی ایجاد کننده آنتریت ویروسی در بوقلمون در کشورمان انجام نشده است. در این مطالعه میزان آلودگی تعدادی از گله‌های صنعتی بوقلمون استان زنجان مبتلا به اسهال به آستروویروس‌ها با روش RT-PCR، بررسی شد تا نقش احتمالی این ویروس‌ها در ایجاد انتریت در بوقلمون‌ها مشخص شود. همچنین توالی بخشی از ژنوم آستروویروس ردیابی شده در این مطالعه با برخی از سویه‌های ثبت شده در بانک ژن مقایسه شد تا منشاء احتمالی و قرابت خویشاوندی آن‌ها مشخص شود.

مواد و روش کار

نمونه‌برداری

نمونه‌ها از ۳۰ گله بوقلمون مشکوک استان زنجان در سنین کمتر از ۳ هفته با علائم بالینی، اسهال یا چسبندگی مدفوع در اطراف مقعد در فاصله زمانی بهار ۱۳۹۷ تا بهار ۱۳۹۸ جمع‌آوری شد. از هر گله مشکوک، ۱۰ بوقلمون به روش انسانی کشته شدند. بعد از کالبدگشایی و ثبت نشانه‌های بالینی در کاربرگ مخصوص، روده کوچک (از دوازده تا راست روده) را خارج نموده و در کنار یخ خشک به آزمایشگاه انتقال داده شد در آنجا این نمونه‌ها به قطعات ۵ تا ۱۰ سانتی‌متر تقسیم شد و در داخل ظرفی حاوی سرم فیزیولوژی قرار گرفت و به آرامی مخلوط شد

شناسایی و تعیین هویت ویروس

استخراج RNA

استخراج RNA با استفاده از محلول RNX plus (سیناژن، ایران) از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ نمونه‌های بافتی طبق دستورالعمل شرکت سازنده در آزمایشگاه صورت گرفت:

RT-PCR

جهت سنتز cDNA از RNA استخراج شده، آغازگر تصادفی و کیت شرکت Revert aid first stand cDNA Synthesis kit استفاده شد. این آغازگرها به‌صورت غیراختصاصی به RNA متصل می‌شوند و در نتیجه کل RNA موجود به cDNA تبدیل شد. cDNA سنتز شده در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. برای انجام فرآیند RT-PCR یک جفت ژن پلیمراز پرایمرهای آستروویروس (۱۵) T۲ pol 2F (۵' - TGGACCGACCCRRTTTTYACCA - ۳) و T۲ pol 2R (۵'- GGCCCGACYTCAGGMAGTTGT -۳') استفاده شد. میزان عوامل شرکت‌کننده در واکنش شامل: بافر ۱۰X، ۲ میکرولیتر، $MgCl_2$ (۵۰ mM/ µL) یک میکرولیتر، dNTPs (۱۰ mM/µL)، ۰/۲۵ میکرولیتر، آغازگرها هر کدام ۰/۲۵ میکرولیتر (۱۰ mM/µL)، آنزیم تک پلیمراز (۵ IU/µL) ۰/۲۵ میکرولیتر، DNA الگو ۶ میکرولیتر، آب ۱۰ میکرولیتر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر و با استفاده از دستگاه ترموسایکلر و شرایط دمایی ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه (early Denaturation)، ۳۵ سیکل شامل واسرشت (Denaturation) دردمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ ثانیه، اتصال پرایمر (Annealing) دردمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه و امتداد (Extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه تکرار شد و به دنبال آن نیز امتداد نهایی (FinalExtension) در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام گردید. لازم به ذکر است که در تمامی مراحل واکنش PCR یک نمونه کنترل منفی (آب DEPC به‌جای DNA) و یک نمونه کنترل مثبت (RNA استخراج‌شده از نمونه ای که قبلا در آزمایشگاه بعنوان آستروویروس شناخته شده بود.) قرار داده شد. جهت شناسایی و رویت محصول PCR از الکتروفورز نمونه‌ها در ژل و بافر TBA استفاده شد. به منظور مقایسه توالی نوکلئوتیدی ویروس‌های سکانس شده در این مطالعه با ویروس های دیگر، توالی نوکلئوتیدی ژن‌های مشخص شده تعدادی از ویروس‌های مختلف موجود در Gene bank کسب شد. سپس Multiple Alignment با بهره گیری از روش CLUSTAL W بر روی تمام توالی‌های نوکلئوتیدی اخذ شده صورت گرفت.

آنالیز فیلوژنی

تمام اطلاعات مربوط به توالي نوكلئوتيدي توسط نرم‌افزارهاي DNA STER Software package Version ۵,۲ Edit seq ويرايش شد. قطعه قابل ترجمه به پروتئين ORF: Open Reading Frame ژن پليمراز با استفاده از روش ClustalW با ساير ژن‌هاي ثبت شده در بانك ژن از ايران، كشورهاي منطقه، آسيا و جهان همتراز شد. درخت فيلوژنتي با استفاده از نرم‌افزار MegAlin رسم شد.

نتایج

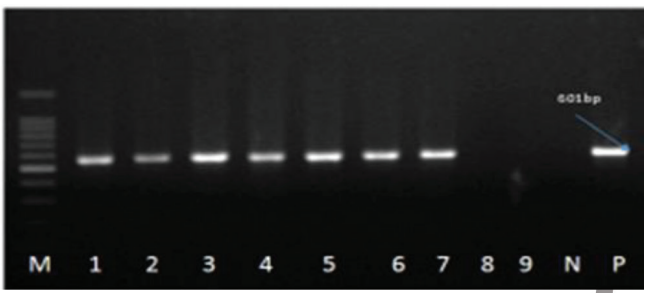
در بررسی مولکولی نمونه‌های روده کوچک اخذ شده در ۳۰ گله بوقلمون، آستروویروس در ۸ گله (۲۶٪) با آزمون RT-PCR مثبت ارزیابی شد (شکل ۱). محصول PCR نمونه‌های مثبت جهت تعیین توالی به شرکت BIONEER ارسال گردید و توالی به‌دست آمده در برنامه‌ی Blast سایت NCBI قرار گرفت. همچنین توالی‌های موردنظر با سایر سویه‌های شناسایی‌شده در ایران، کشورهای همسایه و جهان مقایسه شدند و درصد تفاوت‌های نوکلئوتیدی به‌دست آمد. سویه‌های بدست آمده در این تحقیق از ۸۹/۷ تا ۱۰۰ درصد شباهت نوکلئوتیدی با یکدیگر داشتند. این جدایه‌ها بیشترین شباهت را به آستروویروس بوقلمون تیپ ۲

سویه‌های لهستانی داشتند (از۸۸/۹ ٪ تا ۴ /۹۹ ٪). توالی نوکلئوتیدی این جدایه‌ها حدود ۵۰ درصد با سویه‌های تیپ یک آستروویروس بوقلمون و ۴۰ درصد با عامل نفریت پرندگان (ANV) اختلاف داشتند.

درخت فیلوژنی بر اساس توالی نوکلئوتیدی بخشی از ژن پلیمراز آستروویروس با استفاده از روش NJ و بهره گیری از مدل Tamura-NEI انجام شد. اعتبار و صحت درخت فیلوژنی با روش bootstrapping و منظور نمودن ۱۰۰۰ تکرار ارزیابی شد (شکل ۲). همه‌ی ۸ جدایه بدست آمده در این تحقیق در شاخه آستروویروس بوقلمون ۲ (TAstv) قرار گرفتند.

بحث

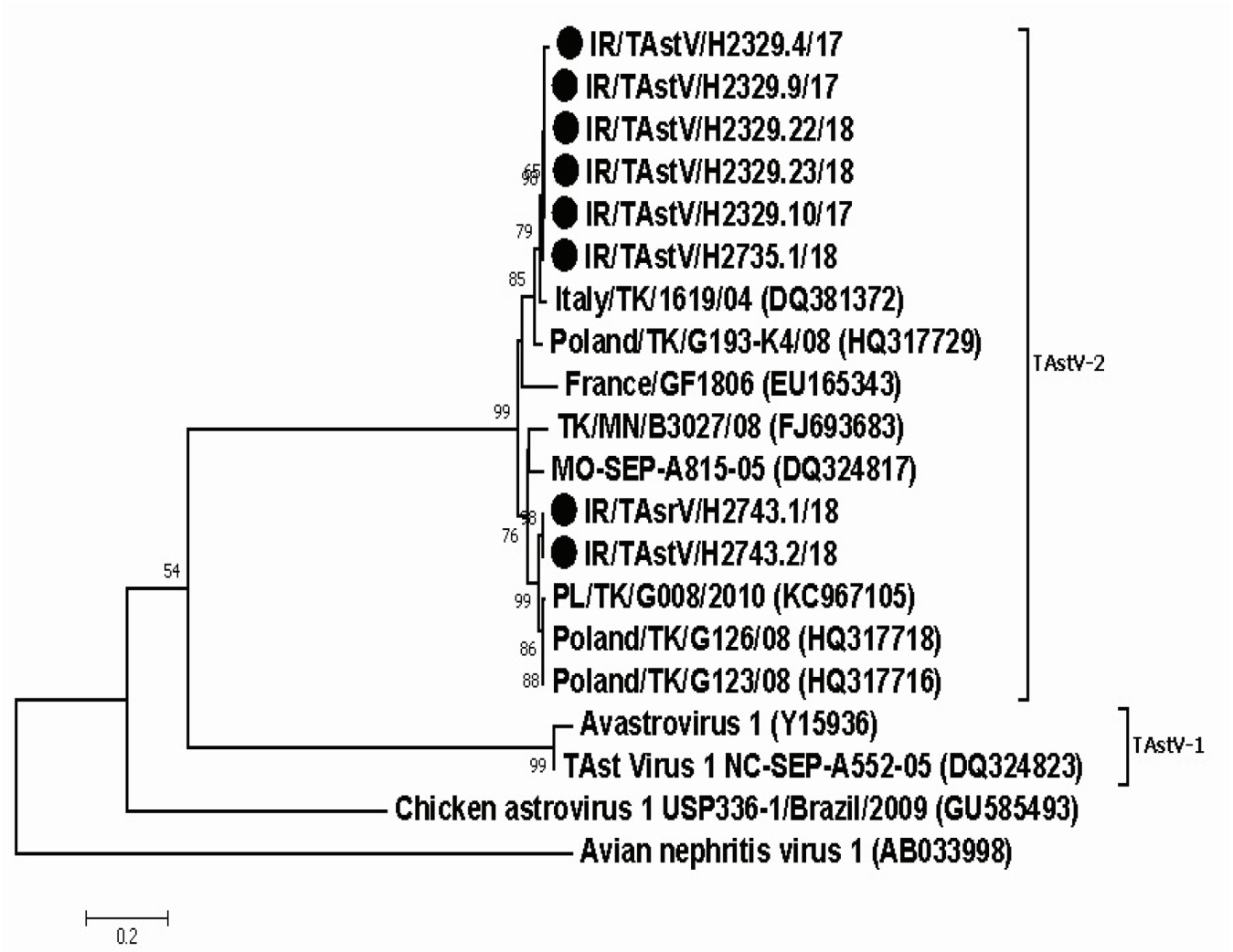
سندرم انتریت و مرگ و میر جوجه بوقلمون‌ها (PEMS) یک بیماری چند عاملی است که شامل ویروس‌های انتروپاتوژن و باکتری‌ها می‌باشد (۱). تحقیقات زیادی بر روی آستروویروس‌های بوقلمون (TAstV)، به عنوان یکی از فاکتورهای ایجاد این سندرم انجام گرفته است (۱). در سالیان اخیر و در پی کشف روش‌های نوین مولکولی و رواج آنها در تشخیص عوامل عفونی ویروس‌های مختلف طیور و با توجه به سرعت و دقت بالای آن‌ها به‌ویژه در مقایسه با روش‌های سرولوژی این روش‌ها در تشخیص آستروویروس‌ها توسعه و کاربرد روز افزون یافته‌اند (۱۲). در این مطالعه از مجموع ۳۰ گله بوقلمون در نقاط مختلف استان زنجان، در فاصله زمانی بهار ۱۳۹۷ تا بهار ۱۳۹۸، هشت گله از نظر آستروویروس مثبت بود (۲۶٪). مطالعات مشابه دیگري نیز در سایر نقاط جهان به منظور ردیابی و بررسي خصوصیات مولکولي و آنالیز فیلوژنیتك آستراویروس‌ها انجام گرفته که نتایج آن‌ها با نتایج به دست آمده در این مطالعه در بسیاري از موارد مطابقت دارد اما بنظر می‌رسد با توجه به گزارش‌های موجود، شیوع آستروویروس در گله‌های صنعتی بوقلمون ایران کمتر از سایر کشورها باشد. رینولد و همکاران (۱۹۸۶) برای بررسی ویروس‌های روده‌ای دخیل در انتریت جوجه بوقلمون‌ها در امریکا، نمونه‌های روده ۹۱ گله بوقلمون ۵-۱هفته را با استفاده از میکروسکوپ الکترونی و الکتروفوروتایپینگ بررسی کردند. این نمونه‌ها از گله‌های بیمار و سالم اخذ شدند. بیش‌ترین ویروس جدا شده از گله‌های بیمار آستروویروس (۷۸٪) بود (۱۳). دا و همکاران (۱۹۸۷) در ایالت کوبک، با نمونه‌گیری از جوجه بوقلمون‌های ۱-۸ هفته مبتلا به اسهال ملایم تا بسیار شدید از ۱۱۴ گله، به روش میکروسکوپ الکترونی و الیزا، ۵۵/۳ درصد نمونه‌های مدفوع را از لحاظ وجود ویروس‌های روده‌ای مثبت ارزیابی کردند. در بررسی با روش الایزا، آستروویروس ۱۴/۵ درصد، روتاویروس ۱۸/۱ درصد و کروناویروس ۱۶/۴ درصد گزارش شد (۴). آلودگی به ویروس‌های روده ای ۳۳ گله‌ی تجاری بوقلمون در ایالات متحده بین سال‌های ۲۰۰۶-۲۰۰۵ توسط جک وود (۲۰۰۸) به روش RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت و ۱۰۰ درصد گله‌ها از نظر وجود آستروویروس، مثبت بودند. این مطالعه نشان داد که آستروویروس‌ها در سراسر ایالات متحده پراکنده هستند، اما اهمیت بالینی بیشتر آنها هنوز نامشخص است (۶). جیندال و همکاران (۲۰۱۰) برای ردیابی و تعیین هویت مولکولی ویروس‌های روده‌ای شامل آستروویروس، روتاویروس، کروناویروس و رئوویروس در مزارع بوقلمون‌های مولد در مینه‌سوتا، از ۵ گله در سن یک هفتگی و به صورت یک هفته در میان تا سن ۹ هفتگی نمونه مدفوع جمع‌آوری نمودند؛ با استفاده از روش RT-PCR میزان آلودگی به آستروویروس ۴۷/۲٪ تعیین شد (۱۱). بررسي خصوصیات مولکولي و آنالیز فیلوژنیتك ژن پلیمراز ویروس آستروویروس در گله‌های بوقلمون استان زنجان نشان داد ویروس‌هاي این مطالعه بر اساس ژن پلیمراز در گروه مشترك با آستروویروس‌های بوقلمون تیپ ۲ قرار دارند. این یافته با نتایج کار سایر محققین در دیگر نقاط جهان مطابقت دارد. وجود آسترو ویروس در ۴۴/۱۵٪ از گله‌های بوقلمون لهستان در سال ۲۰۰۸ گزارش شده است. بیشترین موارد شناسایی شده، TAstV-۲ بود، با ۳۰ نمونه مثبت از ۷۷ گله (۳۸,۹٪)، TAstV-۱ تنها در نه گله (۱۱/۶) تشخیص داده شد و ANV در یک گله (۱,۲۹٪) شناسایی شد (۵). جک وود و همکاران ۲۰۰۸ شیوع TAstV-۲، TAstV-۱ و ANV در گله‌های تجاری بوقلمون را به ترتیب برابر با ۱۰۰، ۱۵/۴ و ۱۲/۵ درصد گزارش کردند (۶). آستروویروس ۲ بوقلمون اغلب با کمپلکس التهاب روده‌ای، سندرم تلفات التهاب روده‌ای و سندرم التهاب روده جوجه بوقلمون‌ها همراه بوده است (۱و ۶و ۹ و ۱۰). آسترو ویروس تیپ ۲ بوقلمون‌ها رایج هست و در یک بررسی در ۷۸٪ از گله‌های بوقلمون دارای بیماری‌های روده‌ای در ایالت اوهایو توسط رینولد و سیف سال ۱۹۸۶ تشخیص داده شده است (۱۳)، همچنین با سندرم مرگ و میر ناشی از التهاب روده‌ای جوجه بوقلمون‌ها همراه بوده است که یک بیماری است که موجب زیان‌های اقتصادی شدید در صنعت بوقلمون می‌شود (۱). اگر چه TAstV-۲ نه تنها در گله‌های مبتلا به انتریت، بلکه در گله‌های ظاهرا سالم بوقلمون‌ها نیز دیده شده است (۸ و ۱۱). آستروویروس بوقلمون را می‌توان در محتویات روده جوجه بوقلمون قبل از شروع بیماری بالینی و تغییرات پاتولوژیک شدید ردیابی کرد. به همین ترتیب، جوجه بوقلمون‌ها در مراحل بعدی عفونت آستروویروسی علائم بالینی را نشان می‌دهند درحالی‌که ممکن است ویروس در روده آن‌ها قابل ردیابی نباشد (۱۴). این ممکن است توضیح دهد که چرا برخی از گله‌های ظاهرا طبیعی در ردیابی ویروس، مثبت هستند در حالی که گله نشانه‌های معمول عفونت این ویروس را ندارد. در بررسی - جک وود در سال ۲۰۰۷ در گله‌های بوقلمون، TAstV-۲



شکل ۱- الکتروفورز محصول ۶۰۱ جفت بازی RT-PCR: M نشانگر DNA ، ۱۰۰ جفت باز ، P: کنترل مثبت ، N: کنترل منفی ، شماره ۱ تا ۷: نمونه های مثبت و شماره ۸ و ۹: نمونه منفی.

رایج‌ترین آستروویروسی بود که یافت شد و این ویروس‌ها به گروه‌های متمایزی بر اساس توالی ژنتیکی تفکیک شدند. تغییرات ژنتیکی بالا در میان ویروس‌های TAstV-۲ یافت شده است(۸). این تغییرات ژنتیکی ممکن است بر بیماری‌زایی و آنتی ژنیسیتی ویروس‌ها تاثیر بگذارد. علاوه بر این، مطالعات زیادی در مورد تغییرات پروتئین و اثر آن بر بیماری‌زایی سویه‌های مختلف TAstV-۲ منتشر نشده است. جک وود و همکاران ۲۰۰۸ به بررسی بیماری‌زایی ۳ واریته مختلف آستروویروس بوقلمون ۲ در جوجه بوقلمون‌های دو روزه SPF پرداختند این ویروس‌ها از نظر توالی ژنی پروتئین‌های پلیمراز و نوکلئوکپسید با یکدیگر متفاوت بودند. در نهایت این محققین گزارش کردند که، بیماری‌زایی سه ویروس TAstV-۲ مورد مطالعه بسیار مشابه بود، به رغم تنوع ژنتیکی قابل توجهی که در بین این ویروس‌ها یافت شد (۷).

با توجه به نتایج تحقیقات اخیر تغییر پذیری فراوانی در توالی نوگلئوتیدهای قطعات ژنوم ویروس مشاهده می‌شود، که این مسأله باعث تنوع فراوان پروتئین‌های ویروس و بالطبع اپی‌توپ‌های ویژه سروتیپ‌ها شده است و این تنوع سروتیپی انتخاب سویه‌های مناسب



شکل ۲- درخت فیلوژنیک بر اساس توالی نوکلئوتیدی بخشی از ژن پلیمراز. آستروویروس‌های شناسایی شده در این مطالعه (با □ نشاندار شده‌اند) و ۱۲ آسترو ویروس جدا شده در بوقلمون‌های بانک ژن (فاصله بین شاخه ها نشان دهنده میزان تفاوت بین توالی ها) است.

جهت واکسیناسیون گله‌های بوقلمون علیه بیماری اسهال حاصل از ویروس‌ها را با مشکل مواجه می‌کند (۱۲).

نتیجه‌گیری کلی

این بررسی نشان داد بر اساس درخت فیلوژنی و توالی نوکلئوتیدی، همه‌ی ۸ جدایه شناسایی شده در شاخه آستروویروس بوقلمون ۲ (TAstv) قرار دارند. شناسایی مولکولی آستروویروس‌ها می‌تواند در پیش‌گیری و کنترل بیماریهای روده‌ای بوقلمون‌ها موثر باشد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب پژوهانه (GN:26247)در انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع مورد استفاده

1. Barnes, H.J. and J.S. Guy. 2003. Poult enteritis- mortality syndrome. pp.320-326, In: Y.M. Saif, , H.J. Barnes, J.R. Glisson, A.M. Fadly, L.R. McDougald and D.E. Swayne (Eds.), Diseases of poultry, 11th ed. Ames, Iowa State University Press.

2. Canelli, E., P. Cordioli, I. Barbieri, A. Catella, D.Pennelli, and R. Ceruti. 2012. Astroviruses as causative agents of poultry enteritis: genetic characterization and longitudinal studies on field conditions. Avian Diseases 56: 173-82.

3. De wit, J., G. ten Dam, J. van de Laar, Y. Biermann, I. Verstegen, and F. Edens. 2011. Detection and characteriza-tion of a new astrovirus in chicken and turkeys with enteric and. Avian Pathology 40: 453-61.

4. Dea, S. and P. Tijssen. 1988. Viral Agents Associated with Outbreaks of Diarrhea in Quebec. *Canadian Journal of Veterinary Research* 52: 53-57.

5.Domanska-Blicharz, K., A. Seroka and Z. Minta. 2011. One-year molecular survey of astrovirus infection in turkeys in Poland. Archive of Virology 156:1065–1072.

6. Jackwood, M.J., J.M. Day, M.W. Jackwood and E.Spackman. 2008a. Enteric viruses detected by molecular methods in commercial chicken and turkey flocks in the United States between 2005 and 2006. Avian Diseases 52:235–244.

7. Jackwood, M.J., E. Spackman and J.M. Day. 2008b. Pathogenesis of type 2 turkey astroviruses with variant capsid genes in 2-day-old specific pathogen free poults. Avian Pathology 37: 193-201.

8. Jackwood, M.J., E.Spackman, J.M. Day and D. Rives. 2007. Periodic monitoring of commercial turkeys for enteric viruses indicates continuous presence of astrovirus and rotavirus on the farms. Avian Diseases 51: 674–680.

9. Jindal, N., D.P Patnayak, A.F. Ziegler, A.Lago and S.M. Goyal. 2009. A retrospective study on poult enteritis syndrome in Minnesota. Avian Diseases 53:268–275.

10. Jindal, N., D.P. Patnayak, Y. Chander, A.F. Ziegler and S.M. Goyal. 2010a. Detection and molecular characterization of enteric viruses from poult enteritis syndrome in turkeys. Poultry Sciences 89: 217–226.

11. Jindal, N., D.P. Patnayak, Y.Chander, A.F. Ziegler and S.M. Goyal. 2010b. Detection and molecular characterization of enteric viruses in breeder turkeys. Avian Pathology 39: 53–61.

12. Liu, H. J. and J. Giambrone. 1997. Molecular characterization of avian reovirus using nested PCR and nucleotide sequence analyses. *Journal of Virological Methods* 65:159-167.

13. Reynolds, D.L. and Y.M. Saif. 1986. Astrovirus: a cause of an enteric disease in turkey poults. Avian Diseases 30:728-735.

14. Reynolds, D.L. and S.L. Schultz-Cherry. 2003. Astrovirus infections. pp.320-326, In: Y.M. Saif, , H.J. Barnes, J.R. Glisson, A.M. Fadly, L.R. McDougald, D.E. Swayne (Eds.), Diseases of poultry, 11th ed. Ames, Iowa State University Press.

15. Roussan, D.A., I.A. Shaheen, G.Y. Khawaldeh, W.S. Totanji and R.H. Al-Rifai. 2012. Simultaneous detection of astrovirus, rotavirus, reovirus and adenovirus type I in broiler chicken flocks. *Polish Journal of Veterinary Sciences* 15:337-344.

16. Villarreal, L.Y.B., M.S. Assayag, P.E. Brandão, J.L.V. Chacón, A.N.D. Bunger, C.S. Astolfi-Ferreira, C.R. Gomes and R.C. Jones, A.J.P. Ferreira. 2006. Identification of Turkey Astrovirus and Turkey Coronavirus in an Outbreak of Poult Enteritis and Mortality Syndrome. *Brazilian Journal of Poultry Science* 8: 131 – 135.