Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021

مقاله پژوهشی

ارمغان دانش، مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی یاسوج
دوره ۱۸، شماره ۵، شهریور ۱۳۹۲(شماره پی در پی۷۷)

آنالیز فیلوژنتیک ژن نورآمینیداز ویروس آنفلوانزای پرندگان زیرتیپH5N1 شناسایی شده در ایران در سال ۱۳۹۰

ابراهیم کرد[۱]، عبدالحمید شوشتری[۱*]، هادی فامیل قدکچی[۱]، رضا محمدی[۲]، ابوالقاسم هادی‌نیا[۳]

[۱] بخش بیماری های طیور، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج، کرج، ایران، [۲]مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران،[۳] مرکز تحقیقات سلولی و ملکولی، دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، یاسوج، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۹/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۸

چکیده

زمینه و هدف: دربین زیرتیپ‌های مختلف آنفلوانزای پرندگان، ویروس‌های باقدرت بیماری زایی بالا زیرتیپ H5N1 از اهمیت بالایی برخوردار است. هدف این مطالعه آنالیز فیلوژنتیک ژن نورآمینیداز ویروس آنفلوانزای پرندگان زیرتیپH5N1 شناسایی شده در ایران در سال ۱۳۹۰ بود.

روش بررسی: دراین مطالعه تجربی تعداد دو سوآپ گرفته شده از جوجه‌های دارای علایم مشکوک، از نظر آنفلوانزای پرندگان با تکنیک‌های توصیه شده سازمان بهداشت جهانی بررسی شدند. سپس ژن نورآمینیداز نمونه مثبت باتکنیک RT-PCR تکثیر شد و پس از توالی یابی با استفاده از نرم‌افزارهای Megalign و MEGA5 مورد بررسی فیلوژنتیک قرارگرفت.

یافته‌ها: آنالیزهای فیلوژنتیک نشان دادند که این ویروس متعلق به Clade 2.3.2.1 است وبیشترین شباهت را به ویروس‌های شناسایی شده در مغولستان درسال ۲۰۱۰ دارد. هم‌چنین، در ساقه ی پروتئین نورآمینیداز این ویروس ۲۰ اسیدآمینه درموقعیت ۶۹ـ۴۹ حذف شده است.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های این مطالعه، به نظر می‌رسد که این ویروس‌ها به وسیله پرندگان وحشی مهاجر و از منشاء ویروس‌های مغولستان وارد ایران شده‌اند.

واژه‌های کلیدی: آنفلوانزا، پرندگان، نورآمینیداز

[*]**نویسنده مسئول: دکتر عبدالحمید شوشتری**، کرج، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، بخش بیماری‌های طیور
Email: hamid1342ir@yahoo.com

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021

مقدمه

ویروس‌های آنفلوانزا عضوی از خانواده *اورتومیکسوویریده* هستند. ویریون این ویروس‌ها باقطر ۱۲۰ـ۸۰ نانومتر به شکل پلی‌مورفیک دیده می‌شود. ژنوم این ویروس‌ها RNA تک رشته‌ای سنس منفی و قطعه قطعه است(۱). پروتئین نورآمینیداز به وسیله قطعه ششم ژنوم ویروس کد می‌شود و پس از گلیکوزیله شدن در سطح ویریون قرار می‌گیرد. این پروتئین با جداکردن اسیدسیالیک از هماگلوتینین(HA)، رهایی ویروس‌های تازه تولید شده را تسهیل کرده و به انتشار ویروس‌ها کمک می‌نماید. NA پس از HA مهم ترین گلیکوپروتئین سطحی ویروس است و همانند HA متحمل تغییرات آنتی‌ژنیک می‌شود. این تغییرات می‌توانند برخصوصیات بیولوژیک ویروس اثر بگذارند(۴ـ۲).

بر اساس نوکلئوپروتئین و پروتئین ماتریکس، این ویروس‌ها به ۵ جنس (تیپ) تقسیم می‌شوند که شامل؛ آنفلوانزاهای A، B، C و جنس‌های توگوتوویروس و ایزاویروس می‌باشند. در تقسیم‌بندی دیگر، ویروس‌های آنفلوانزای A بر اساس تفاوت‌های آنتی‌ژنیک دردو گلیکوپروتئین سطحی HA و NA به زیرتیپ‌ها تقسیم می‌شوند(۲). تاکنون ۱۶ زیر تیپ HA و ۹ زیر تیپ NA تعریف شده است(۳). این ویروس‌ها دارای طیف میزبانی متنوعی هستند. تاکنون همه زیرتیپ‌ها از پرندگان شناسایی شده‌اند، اما تعداد محدودی ازآنها در پستانداران شناسایی شده اند. لذا معتقدند که مخزن طبیعی اصلی این ویروس‌ها، پرندگان آبزی به ویژه پرندگان متعلق به راسته‌های Anseriforms و Charadriforms هستند(۷ـ۵).

ویروس‌های آنفلوانزای پرندگان برپایه قدرت بیماری‌زایی در بوقلمون و جوجه‌ها به دو گروه تقسیم می‌شوند. گروه باقدرت بیماری‌زایی پایین[1] که اکثرویروس‌ها را شامل می‌شود به صورت موضعی در دستگاه تنفس و گوارش پرندگان تکثیر می‌شوند و ممکن است عفونت‌های تحت بالینی یا بیماری خفیف با کاهش تخم‌گذاری و علایم تنفسی ایجاد کنند، البته ممکن است با اضافه شدن عفونت باکتریایی ثانویه علایم شدیدتری ایجاد شود. اما گروه با قدرت بیماری زایی بالا[2] که عامل بیماری حاد سیستمیک در جوجه‌ها و بوقلمون‌ها هستند می‌توانند سبب مرگ و میر زیادی در گله‌ها در طی چند روز بیماری شوند. این ویروس‌ها به زیر تیپ‌های H5 و H7 محدودند و البته تمام ویروس‌های متعلق به این زیرتیپ‌ها متعلق به گروه با قدرت بیماری‌زایی بالا نیستند(۸ و ۲).

ویروس‌های HPAI H5N1 برای اولین بار در سال ۱۹۹۶ در چین از غازها جداسازی شدند و در سال‌های ۱۹۹۷ـ۱۹۹۶ به مناطق جنوب شرق چین و هنگ کنگ در مزارع و فروشگاه‌های پرندگان زنده محدود ماندند، اما از سال ۲۰۰۳ به بعد این ویروس‌ها با متحمل شدن تغییرات ژنتیکی وسیع توان تطابق با انواع میزبان‌ها را کسب کرده و به کشورهای همسایه و سپس به مناطق وسیعی از جهان انتشار پیدا کردند

1-Low Pathogenic Avian Influenza(LPAI)
2- High Pathogenic Avian Influenza(HPAI)

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021

و در کشورهای مختلف از گونه‌های مختلفی شامل؛ انواع پرندگان آبزی اهلی و وحشی و پستاندارانی مانند انسان شناسایی شده‌اند(۱۰ و ۹). انتشار به وسیله پرندگان مهاجر و جابه جایی ماکیان یا محصولات آنها، دومکانیسم عمده انتشار جغرافیایی این ویروس‌ها است. انتقال از پرنده به پرنده با تماس مستقیم با ترشحات تنفسی و فضولات آلوده حیوان رخ می‌دهد. هم‌چنین، این ویروس‌ها دربرخی پرندگان آبزی ایجاد عفونت‌های بدون علامت می‌کنند و حیوان بدون بروز علایم به انتشار ویروس می‌پردازد و دیگر حیوانات حساس ممکن است از طریق آب آلوده با فضولات حیوان مبتلا شوند. این مکانیسم‌های انتشار ویروس به مناطق جدید با آنالیزهای فیلوژنتیک و ترسیم مسیرهای شناخته شده مهاجرت پرندگان و نیز الگوهای دامپروری و تجارت محصولات دامی‌بررسی می‌شوند(۱۱و۸، ۲).

انتقال ویروس‌های HPAIH5N1 به انسان با میزان مرگ و میر بالا به یکی از تهدیدات مهم سلامت جوامع انسانی تبدیل شده است. اولین انتقال به انسان در سال ۱۹۹۷ در هنگ کنگ گزارش شد و ۱۸ نفر به این ویروس مبتلا شدند که ۶ نفرشان جان باختند. عفونت‌های انسانی با این ویروس‌ها نادرند و به صورت اسپوراديک رخ می‌دهند، اما میزان مرگ و میر بالایی دارند(۱۲).

در ایران، ویروس‌هایHPAIH5N1 در سال‌های ۲۰۰۶ و ۲۰۰۸ گزارش شدند(۱۳). مجدداً در سال ۲۰۱۱ این ویروس‌ها در شمال ایران شناسایی شدند.

هدف این مطالعه آنالیز فیلوژنتیک ژن نورآمینیداز ویروس آنفلوانزای پرندگان زیرتیپH5N1 شناسایی شده در ایران در سال ۱۳۹۰ بود.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی پس از مشاهده علایم مشکوک به آنفلوانزای پرندگان در جوجه‌ها در مازندران، تعداد دو نمونه با استفاده از سوآپ از کلوآک جوجه‌ها جمع‌آوری شده و به وسیله روش‌های مولکولی توصیه شده سازمان بهداشت جهانی با استفاده از کیت RT-PCR یک مرحله ای[1](شرکت روش، آلمان) از نظر زیرتیپ‌های H5N1 و H9N2 آنفلوانزا و هم‌چنین ویروس نیوکاسل مورد بررسی قرار گرفتند.

استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNA با خلوص بالا[2](شرکت روش، آلمان) بر اساس دستورالعمل کیت انجام شد.

آزمایش RT-PCR به صورت تک مرحله‌ای جهت تکثیر قطعه ژنی نورآمینیداز با استفاده از پرایمرهای طراحی شده به وسیله هافمن و همکاران (۲۰۰۱) انجام شد(۱۴). محلول واکنش به حجم ۵۰ میکرولیتربه‌صورت مخلوطی از۲۷/۵میکرولیترآب مقطر دیونیزه ، ۱۰ میکرولیتر بافر PCR، ۲/۵ میکرولیترDTT، ۱ میکرولیترdNTPs ، ۱ میکرولیترDNA

1-One Step RT-PCR
2-High Pure Viral RNA kit

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021

پلـی‌مـراز (High fidelity Expand DNA polymerase)، ۴ میکرولیترRNA، ۲ میکرولیتـر پرایمـر جلـو(Forward) ۲ میکرولیتر پرایمر معکوس(Reverse) تهیـه شـد. برنامـه حرارتی شامل مرحله رونویسی معکوس بـا دمـای ۴۵ درجه سـانتی‌گـراد بـه مـدت ۴۵ دقیقـه، دناتوراسـیون اولیه به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۴ درجه سـانتی‌گـراد، سپس ۳۵ سیکل شامل دناتوراسیون به مدت یک دقیقه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، اتصال پرایمر به مدت یک دقیقه در دمای ۵۰ درجـه سـانتی‌گـراد، گسترش به مدت ۵ دقیقه در دمای ۶۸ درجه سانتی‌گراد و در انتها، گسترش انتهایی به مـدت۱۰ دقیقـه در دمـای ۶۸ درجه سانتی‌گراد بـا اسـتفاده از ترموسـایکلر(شـرکت اپندروف)انجام شد.

محصول واکنش RT-PCR بـر روی ژل آگـارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد و عمـل اسـتخراج DNA از روی ژل با استفاده از کیت استخراج محصول PCR با خلوص بالا[1] (شرکت روش، آلمان) انجام شد.

برای ویرایش توالی‌هـا و نیـز ترجمـه آنهـا بـه پروتئین از نرم افزارBioEdit استفاده شد. تشابه تـوالی به دست آمده بـا تـوالی‌هـای موجـود در بانـک ژن از طریـق Multiple alignment بـا اسـتفاده از برنامـه Megalign بررسی شد. هم‌چنـین بـا اسـتخراج تـوالی از بانـک ژن از نـرم افـزار MEGA5 اسـتفاده و بـه روش distance-based Neighbor-Joining(NJ) درخـت فیلوژنتیک ترسیم شد.

یافته ها

جوجه‌هایی که مشکوک به آنفلوانزای پرندگان بودند علایمی هم‌چون افسردگی شدید، عـدم تعـادل و همـاهنگی، لـرز و تکـان خـوردن‌هـای بـدون کنتـرل، ناتوانی در ایستادن، کاهش توانایی برداشت آب و غذا، ورم صورت و تورم سیانوتیک شانه‌هـا و سـاق‌هـا را نشان می‌دادند.

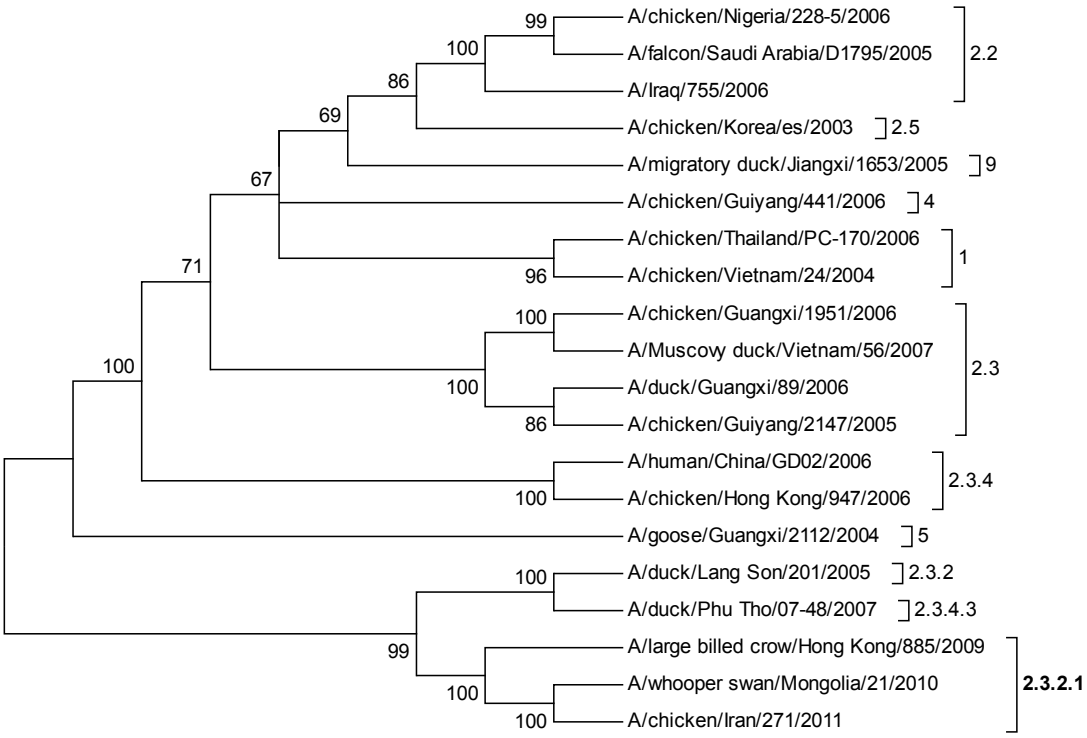
نمونه‌ها از نظر H9N2 و نیوکاسل منفی بودنـد و فقط یکی از نمونه‌ها از نظرH5N1 مثبت بود.

بـر اسـاس نتـایج بـه دسـت آمـده از آنـالیز فیلوژنتیـک تـوالی ژن نورآمینیـداز، ویـروس مـورد مطالعه در Clade 2.3.2.1 قرارگرفت. درخت فیلوژنتیـک رسم شده در تصویر ۱ نشان داده شده است.

در بررسی همولوژی انجام شده، این ویروس بیشترین تشابه را با ویروس جدا شـده در مغولـستان (A/whooper swan/Mongolia/21/2010) نـشان داد. تـوالی پروتئین نورآمینیداز این ویروس با توالی این پروتئین در ویـروسA/goose/Guangdong/1/96 مقایـسه شـد کـه حذف ۲۰ اسیدآمینه ای (در موقعیت۶۹ـ۴۹) در سـاقه NA را نشان داد. اسیدآمینه‌های مهـم ایـن پـروتئین در موقعیت‌های مؤثر برخصوصیات آن مثل مقاومت‌های دارویـی درایـن ویـروس‌هـا بـه صـورت E119,Y274,C292,R293,D294 بودنـد و موتاسـیون‌هـای H274Y و N294D در توالی این پروتئین مشاهده شدند.

1- High Pure PCR Product Purification Kit

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021



تصویر۱: درخت فیلوژنتیک ژن نورآمینیداز(NA) ویروس HPAIH5N1 شناسایی شده در ایران درسال ۱۳۹۰(این درخت با استفاده از نرم افزار MEGA 5 و با روش Distance-based Neighbor- Joining(NJ) ترسیم شده است).

بحث

ویروس‌های HPAIH5N برای اولین بار در سال۱۹۹۶ در چین ظاهرشدند(۹)، اما در پی گردش مداوم در بین میزبان‌های مختلف متحمل تغییرات ژنتیکی شده و در سال۲۰۰۳ به مناطق وسیعی از آسیا، اروپا، خاورمیانه و آفریقا انتشاریافتند(۱۰). در ایران، برای اولین بار این ویروس‌ها در شمال کشور شناسایی شدند(۱۳). وجود دریای خزربا تالاب‌های متنوع در شمال ایران، زیستگاه بسیار مناسبی را برای انواع پرندگان فراهم نموده است. به طوری که گونه‌های مختلفی از پرندگان در این ناحیه زندگی می‌کنند. هم‌چنین، این منطقه یکی ازتوقف‌گاه‌های اصلی پرندگان مهاجرمی‌باشد. انتشار ویروس به وسیله پرندگان مهاجریکی از راه‌های اصلی معرفی ویروس به مناطق جدید است(۸ و۲). بنابراین، این منطقه می‌تواند به عنوان دروازه ورودی این ویروس‌ها به داخل کشور مطرح باشد. این ادعا را شناسایی مجدد این ویروس‌ها در این منطقه در سال‌های ۲۰۰۸ و۲۰۱۱ تأیید می‌کند. از سویی، در این ناحیه مرغداری‌های صنعتی زیادی وجود دارد که احتمال ورود این ویروس‌ها به مرغداری‌ها و تحمیل خسارت‌های اقتصادی فراوان به صنعت مرغداری افزایش می‌یابد.

بر اساس گزارش سازمان بهداشت جهانی موارد شیوع HPAIH5N1 در بین پرندگان وحشی و ماکیان از اواسط سال۲۰۰۸ رو به افزایش گذاشت و

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021

در سال‌های۲۰۰۹ تا۲۰۱۱ افزایش چشم‌گیری از شیوع این ویروس‌ها در کشورهای آسیایی گزارش شد. با توجه به افزایش گزارش‌هایی از مناطق مختلف، جهت تسهیل بررسی‌های فیلوژنتیک و اپیدمیولوژیک ایزوله‌های شناسایی شده به گروه‌های ژنتیکی (Clades) تقسیم شدند. بر اساس گزارش گروه نام‌گذاری سازمان بهداشت جهانی درسال‌های ۲۰۰۵ـ۲۰۰۸ Clade غالب در گردش در آسیا Clade 2.2 بوده است، اما از سال ۲۰۰۸ به بعد Clade 2.3.2.1 به طور فزاینده‌ای از پرندگان وحشی و ماکیان در بسیاری از کشورها جداسازی گردید. این ویروس‌ها ازویروس‌هایClade 2.3.2 که قبلاً در بین ماکیان در شرق آسیا از سال ۲۰۰۵ در گردش بوده‌اند مشتق شده‌اند و واگرایی نوکلئوتیدی بیشتری نسبت به Clade های دیگر دارند که این امر به دلیل سازگار شدن این ویروس‌ها به گونه‌های مختلف پرندگان و نیز معارفه آنها به مناطق جغرافیایی مختلف به وسیله پرندگان وحشی می‌باشد(۱۷ـ۱۵). بررسی خصوصیات فیلوژنتیک ژن نورآمینیداز ویروس(H5N1) A/Chicken/Iran/271/2011 نشان داد که این ویروس در2.3.2.1 Clade قرارمی‌گیرد و از ویروس‌های قبلی ایران که در2.2 Clade قرار داشتند متفاوت می‌باشد(۱۵و۱۳). هم‌چنان که اشاره شد ویروس‌های Clade2.3.2.1 اخیراً در بسیاری از کشورهای آسیایی در گردش بوده‌اند و گزارش‌هایی از حضور ویروس‌های این Clade در بین پرندگان وحشی در مغولستان نیز موجود می‌باشد. از طرفی، ویروس مورد مطالعه بیشترین شباهت را از نظر توالی ژن نورآمینیداز با ویروس‌های جدا شده در مغولستان نشان داد. هم‌چنان که قبلاً بیان شد انتشار ویروس‌های HPAI H5N1 به وسیله پرندگان مهاجر یکی از مسیرهای عمده انتشار این ویروس‌ها است(۸ و۲). لذا به نظر می‌رسد که این ویروس‌ها نیز به وسیله پرندگان وحشی مهاجر وارد ایران شده اند.

تعادل و بالانس بین اتصال به سلول به وسیلهٔ هماگلوتینین(HA) و رهایی از سلول به وسیلهٔ NA برای تکثیر ویروس مهم است(۱۸). در ویروس مورد مطالعه حذف ۲۰ اسیدآمینه ای در موقعیت۶۹ ـ ۴۹ در ساقه ی NA همانند سایر ویروس‌های Clade 2.1 مشاهده شد. پیشنهاد شده است که این حذف، برای تعادل بین HA وNA و نیز سازگار شدن ویروس‌های پرندگان آبزی به پرندگان زمینی مثل جوجه‌ها دارای اهمیت می‌باشد(۱۹و۱۸). بنابراین، حذف این ناحیه در پروتئین NA به ویروس‌های ایران قدرت سازگار شدن و ایجاد آلودگی در ماکیان را داده است.

داروهای اسلتامی‌ویر و زانامی‌ویر که برای پیشگیری و درمان آنفلوانزا استفاده می‌شوند پروتئین نورآمینیداز(NA) را هدف گرفته‌اند. بنابراین تغییرات نورآمینیداز(NA) می‌تواند در ایجاد مقاومت‌های دارویی اثر داشته باشد. از موتاسیون‌هایی که در ایجاد مقاومت دارویی در مقابل مهارکننده‌های نورآمینیداز نقش دارند می‌توان به موتاسیون‌های H274Y،N294S،R293K،E119V اشاره کرد(۲۰ــ ۱۸). در

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021

ویروس مورد مطالعه موتاسیونH274Y مشاهده شد. بنابراین، این ویروس‌ها درجاتی از مقاومت در برابر اسلتامی‌ویر را کسب کرده‌اند. هم‌چنین اسید آمینه اسید آسپارتیک در موقعیت۲۹۴ جایگزین آسپارژین (موتاسیونN294D) شده است. اثر این موتاسیون بر بیولوژی و اپیدمیولوژی ویروس بررسی‌های بیشتری را می‌طلبد. سایر موتاسیون‌های ذکر شده در ویروس مورد مطالعه مشاهده نشدند.

نتیجه‌گیری

از یافته‌های فوق می‌توان نتیجه گرفت که ویروس‌های شناسایی شده در ایران در سال ۱۳۹۰، به وسیله پرندگان مهاجر و احتمالاً از منشاء ویروس‌های مغولستان وارد کشور شده‌اند. بنابراین، با توجه به موارد گزارش شدهٔ قبلی و شناسایی مجدد ویروس‌های HPAIH5N1 در این منطقه، به نظر می‌رسد که خطر ورود این ویروس‌ها به وسیله پرندگان مهاجر از شمال ایران و معرفی آنها به مزارع ماکیان و مرغداری‌های صنعتی همیشه وجود دارد. ازاینرو، پایش مداوم جمعیت پرندگان وحشی و اهلی این منطقه برای حضور این ویروس‌ها جهت اتخاذ تصمیمات مناسب برای مقابله با شیوع احتمالی آنها امری حیاتی به نظر می‌رسد.

تقدیر و تشکر

این مطالعه درمؤسسه واکسن و سرم‌سازی رازی کرج و تحت حمایت این مؤسسه انجام شده است. از زحمات کلیه پرسنل بخش بیماری‌های طیور مؤسسه و آقای هادی فاضل صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نماییم.

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021

REFRENCES

1.Naeem K, Ullah A, Manvell R, Alexander D. Avian influenza A subtype H9N2 in poultry in Pakistan. Veterinary Record 1999;145(19): 560.

2.Swayne D, Suarez D. Highly pathogenic avian influenza. Revue scientifique et technique International Office of Epizootics 2000; 19(2): 463.

3.Noroozian H, Vasfi Marandi M, Gorashi SA. Analysis ofneuraminidase gene in isolated avian influenzaviruses ofh9n2 subtype from Iran. JVetRes 2010; 65: 311-8.

4.Baum LG, Paulson JC. The N2 neuraminidase of human influenza virus has acquired a substrate specificity complementary to the hemagglutinin receptor specificity. Virology 1991; 180(1): 10-5.

5.Guan Y, Peiris J, Lipatov A, Ellis T, Dyrting K, Krauss S, et al. Emergence of multiple genotypes of H5N1 avian influenza viruses in Hong Kong SAR. Proceedings of the National Academy of Sciences 2002; 99(13): 8950-5.

6.Nguyen DC, Uyeki TM, Jadhao S, Maines T, Shaw M, Matsuoka Y, et al. Isolation and characterization of avian influenza viruses, including highly pathogenic H5N1, from poultry in live bird markets in Hanoi, Vietnam, in 2001. Journal of Virology 2005;79(7):4201-12.

7.Kianizadeh M, Gohar S, Najafi M, Toroghi R, Pourbakhsh S. Neuraminidase gene sequence analysis of avian influenza H9N2 viruses isolated from Iran. Archives of Razi Institute 2007; 62(2): 69-74.

8.Alexander DJ. A review of avian influenza in different bird species. Veterinary Microbiology 2000; 74(1): 3-13.

9.Xu X, Subbarao K, Cox NJ, Guo Y. Genetic characterization of the pathogenic influenza A/Goose/Guangdong/1/96 (H5N1) virus: similarity of its hemagglutinin gene to those of H5N1 viruses from the 1997 outbreaks in Hong Kong. Virology 1999; 261(1): 15-9.

10.Cattoli G, Fusaro A, Monne I, Capua I. H5N1 virus evolution in europe—an updated overview. Viruses 2009;1(3):1351-63.

11.Yee KS, Carpenter TE, Cardona CJ. Epidemiology of H5N1 avian influenza. Comparative immunology. Microbiology And Infectious Diseases 2009; 32(4): 325-40.

12.Capua I, Alexander DJ. Avian influenza and human health. Acta Tropica 2002; 83(1): 1-6.

13.Shoushtari A, Hablolvarid M, Vascellari M, Hedayati A. Mortality of wild swans associated with naturally infection with highly pathogenic H5N1 avian influenza virus in Iran. Archives of Razi 2008; 62(4): 207-13.

14.Hoffmann E ,Stech J, Guan Y, Webster R, Perez D. Universal primer set for the full-length amplification of all influenza A viruses. Archives of Virology 2001; 146(12): 2275-89.

15.Smith G, Donis R. Continued evolution of highly pathogenic avian influenza A (H5N1): updated nomenclature. 2012.

16.Donis R, Smith G, Brown I, Capua I, Cattoli G, Chen H, et al. Continuing progress towards a unified nomenclature for the highly pathogenic H5N1 avian influenza viruses: Divergence of clade 2· 2 viruses. Influenza and Other Respiratory Viruses 2009; 3(2): 59-62.

17.FAO-OIE-WHO. Technical Update:Current evolution of avian influenza H5N1 viruses. 2011.

18.Nimmanpipug P, Jitonnom J, Ngaojampa C, Hannongbua S, Lee V. A computational H5N1 neuraminidase model and its binding to commercial drugs. Molecular Simulation 2007; 33(6): 487-93.

19.de Jong MD, Thanh TT, Khanh TH, Hien VM, Smith GJD, Chau NV, et al. Oseltamivir resistance during treatment of influenza A (H5N1) infection. New England Journal of Medicine. 2005; 353(25): 2667-72.

20.Le QM, Kiso M, Someya K, Sakai YT, Nguyen TH, Nguyen KHL, et al. Avian flu: isolation of drug-resistant H5N1 virus. Nature 2005; 437(7062):1108.

Armaghane-danesh, Yasuj University of Medical Sciences Journal (YUMSJ)

Original Article

Downloaded from armaghanj.yums.ac.ir at 0:20 +0330 on Thursday December 2nd 2021

Phylogenetic analysis of Neuraminidase gene of avian influenza H5N1 subtype detected in Iran in 1390(2011)

Kord E [1], Shoushtari A [1*], Ghadakchi H [1], Mohammadi R [2], Hadinia A [3]

[1]Department of avian disease, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran, [2]Plant Medicine Research Center, Yasuj University of Medical sciences, Yasuj, Iran, [3] Cellular and Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran

Received: 07 Feb 2013 Accepted: 03 Dec 2013

Abstract

Background & aim: Among the various subtypes of avian influenza viruses, an H5N1 subtype virus with high pathogenicity is of great importance. The aim of this study was to determine the Phylogenetic analysis of neuraminidase gene of avian influenza virus subtype of the H5N1 in Iran in 1390.

Methods: In this experimental study, two swab samples from chickens with suspected symptoms of avian influenza were tested by the World Health Organization recommendation. The neuraminidase gene of positive samples was amplified by RT-PCR technique. After sequencing the phylogenetic studies were analyzed using MEGA5 and Megalign.

Results: Phylogenetic analysis showed that the virus belongs to the Clade 2.3.2.1 which is highly similar to the viruses that are identified in Mongolia in 2010. Also in the stem of this virus neuraminidase protein a number of 20 amino acid has been deleted at position 69-49.

Conclusion: Due to findings of this study, it seems that the virus has entered by migratory wild birds with the origin of Mongolia.

Key words: Influenza, Avian, Neuraminidase

***Corresponding Author: Shoushtari A**, Department of avian disease, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran
Email: hamid1342ir@yahoo.com