شناسایی دگرگونی ژنتیکی در ویروس تب برفکی تیپ A با استفاده از تعیین ردیف نوکلئوتیدی قسمتی از ژن VP_1 ویروس

دکتر علی اصغر بهاری[1]* دکتر سید علی قرشی[2] دکتر آنفرید مارکوارت[3] دکتر تقی تقی پور بازرگانی[4]

دریافت مقاله: ۱۶ اردیبهشت ماه ۱۳۸۳
پذیرش نهایی: ۱۰ اردیبهشت ماه ۱۳۸۴

هدف: مطالعه تغییرات ژنتیکی ویروس تب برفکی عامل همه‌گیری‌های ایران.

طرح: مطالعه موردی

نمونه ها: جراحات بافت پوششی زبان و دهان ۱۱ دام مشکوک به تب برفکی مربوط به ۹ واگیری در مهرماه سال ۸۱.

روش: RNA کامل استخراج شده در واکنش RT-PCR یک مرحله‌ای تشخیصی آزمایش شد. سپس بخشی از ژن VP_1 نمونه‌های مثبت به روش multiplex RT-PCR تکثیر شد. این کار برای تیپ‌های متداول ایران انجام شد. محصول PCR با استفاده از روش cycle sequencing Fluorescent dye deoxy-terminator تعیین توالی شد.

نتایج: از کل نمونه‌ها ۹ نمونه از نظر تب برفکی مثبت بودند. جز نمونه‌های مربوط به یک واگیری از اصفهان که هر دو از تیپ A بودند، بقیه نمونه‌های مثبت از تیپ O شناسایی شدند. مقایسه داده‌های توالی اسیدهای آمینه نمونه تیپ A تغییرات قابل ملاحظه‌ای را نشان داد.

نتیجه‌گیری: با توجه به یافته‌های این مطالعه به نظر می‌رسد که یک واریانت ژنتیک شکل گرفته باشد. اگرچه آزمایشات سرم شناختی و خنثی سازی متقاطع برای تائید دگرگونی آنتی ژنیک لازم است. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ۱۳۸۵، دوره ۶۱، شماره ۱، ۶۱-۵۷.

واژه‌های کلیدی: ویروس تب برفکی، RT-PCR، توالی نوکلئوتیدی، VP_1، دگرگونی ژنتیکی.

تب برفکی بیماری بسیار واگیردار زوج سمان وحشی و اهلی بویژه گاو، گوسفند و بز می‌باشد (۱۶، ۱۲، ۱۱، ۶، ۳). این بیماری در مناطق وسیعی از آسیا، آفریقا و آمریکای جنوبی بومی می‌باشد و همه ساله چندین هزار واگیری در سطح جهان گزارش می‌شود که از نظر اقتصادی بسیار با اهمیت می‌باشد (۱۱، ۳). پیامدهای اقتصادی همه گیری تب برفکی در یک کشور نه تنها مربوط به کاهش تولیدات دامی می‌باشد بلکه در مورد کشورهای صادر کننده محصولات دامی، عوارض محدودیت‌های تجارت دام و فراورده‌های دامی را نیز شامل می‌شود. واکسیناسیون با محدود کردن تعداد دامهای بیمار، انتشار ویروس تب برفکی را در محیط کاهش می‌دهد. بنابراین به عنوان یکی از ابزارهای موثر برای کنترل این بیماری در برخی از کشورهایی که بیماری در آنها بومی می‌باشد به کار گرفته می‌شود (۱۶، ۴).

۱) آموزشکده دامپزشکی دانشگاه بوعلی سینا، همدان - ایران.
۲) پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، تهران - ایران.
۳) مرکز فدرال تحقیقات بیماریهای ویروسی حیوانات، توبینگن - آلمان.
۴) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
*) نویسنده مسؤول: A_Bahari@basu.ac.ir

Detection of a Genetic Variation Within Foot-and-Mouth Disease Virus Type A Using Sequencing Analysis of VP_1 Gene

Bahari, A.[1], Ghorashi,S.A.[2], Marquardt,O.[3], Taghipour Bazargani, T.[4]

[1]School of Veterinary Medicine, University of Bu-Ali Sina, Hamadan-Iran. [2]National Research Center for Genetic Engineering and Biotechnology of Iran, Tehran-Iran. [3]Federal Research Center for Virus Diseases of Animal, Tubingen-Germany. [4]Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.

Objective: Study on genetic variation of foot-and-mouth disease (FMD) virus, the causetive agent of FMD outbreaks in Iran.

Design: Case study.

Animals: The tongue and mouth epithelial lesions of 11 clinical livestock suspected to FMD from 9 outbreaks during September, 2002.

Procedures: Total extracted RNAs were used in diagnostic one step RT-PCR. VP_1 gene from positive samples was then amplified in the multiplex RT-PCR for current types viral isolates in Iran. The PCR products were sequenced using fluorescent dye deoxy-terminator cycle sequencing.

Results: Nine of the era mined samples out of whole were positive for FMD viral genome. Except the samples of type A, which both samples were from an outbreak in Isfahan, all of the positive samples were type O. The Considerable variation revealed in amino acids sequences of type A sample.

Conclusion: Results of this study shows evolution of a new genetic variant. However, serological and cross-neutralization assays are required for confirming the antigenic diversity. ***J.Fac.Vet.Med. Univ. Tehran. 61,1:57-61,2006.***

Keywords: foot-and-mouth disease virus (FMDV), RT-PCR, sequencing analysis, VP_1, genetic variation.

Corresponding author's email: A_Bahari@basu.ac.ir

از نظر طبقه بندی ویروس تب برفکی به خانواده پیکورناویریده و جنس آفتوویروس تعلق دارد (۱۶، ۱۲، ۱۱، ۶، ۳). ویروس تب برفکی توان بسیار بالایی برای تغییرات ژنتیکی و آنتی ژنیکی از خود نشان می‌دهد و شناسایی ویروس‌های موجود بر اساس توانایی آنها در ایجاد ایمنی متقاطع در حیوانات، منجر به تقسیم بندی این ویروس به هفت سروتیپ (A، O، C، SAT1، SAT2، SAT3 و $Asia_1$) شده است (۱۶، ۱۲، ۱۱، ۱۰، ۳). تا کنون

جدول ۱- نام و توالی نوکلئوتیدی پرایمرهای مورداستفاده برای تعیین تیپ در واکنش PCR-Multiplex RT.

نام پرایمر	توالی نوکلوتیدی
P32as	5-GAC ATG TCC TCC TGC ATC TG-3
A_1s	5-GCA GAC CCT GTC ACC ACC ACC GT-3
O_1s	5-GGA CAA CAC CAC CAA CCC AAC AGC-3
$Asia_1$s	5-AGG TTG CGC TTG TCC ACA CAC-3

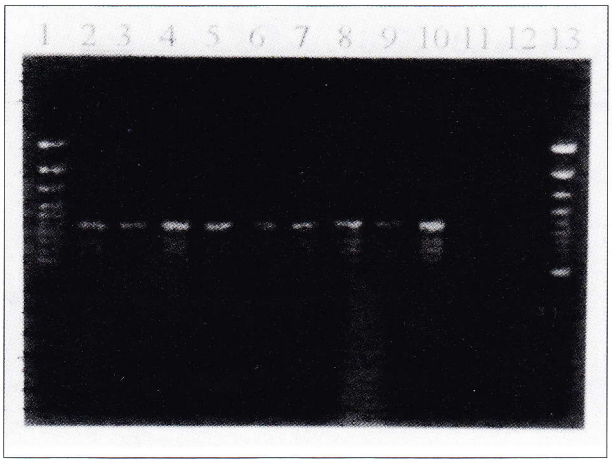
سروتیپ‌های O، A و $Asia_1$ در ایران شناسایی و گزارش شده‌اند. تیپ O در سال ۱۳۳۴، تیپ A در سال ۱۳۳۹ و تیپ Asia1 در سال ۱۳۴۲ برای اولین بار در ایران گزارش شده‌اند (۱).

بعلاوه تا کنون متجاوز از ۶۰ تحت تیپ از سروتیپ‌های مختلف ویروس تب برفکی نیز شناخته شده است. ژنوم این ویروس از نوع RNA تک رشته‌ای مفهوم (sense) مثبت با بیش از ۸۰۰۰ نوکلئوتید می‌باشد که درون کپسیدی پروتئینی قرار دارد (۱۱،۱۶). پروتئین‌های ساختمانی ویروس تب برفکی شامل VP_1، VP_2، VP_3 و VP_4 می‌باشد (۱۲،۱۶).

تجمع سه بعدی پروتئین‌های ساختمانی در ویریون، منطقه آنتی ژنیک مسئول پاسخ‌های ایمنی بویژه تولید پادتن‌های خنثی کننده، در برابر عفونت یا واکسیناسیون را می‌سازد (۱۶، ۱۳، ۱۱، ۱۰). پروتئین VP_1 مشتمل بر یک قسمت متحرک بیرون زده از سطح ویروس (G-H loop) می‌باشد که بوسیله بخش D_1 ژنوم ویروس کد می‌شود و حاوی مهمترین شاخصه‌های آنتی ژنیک کپسید ویروس تب برفکی می‌باشد (۱۵،۱۲،۱۱). دگرگونی‌های ژنتیکی در ویروس تب برفکی می‌تواند به صورت تغییراتی در توالی اسیدهای آمینه پروتئین‌های کپسید بروز نماید (۱۰).

گردش ویروس در کشورهای بومی می‌تواند موجب پیدایش تحت تیپ‌های جدید ژنتیکی و آنتی ژنیکی شود که کارایی واکسن را به درجاتی کاهش می‌دهند. بنابر این برای تعیین قابل اعتماد بودن واکسن موجود یا تائید استفاده از واکسنی که پیش از این برای کنترل همه گیری موثر بوده باید ویژگی‌های تحت تیپ واکسن با سویه جدید مقایسه شود (۱۱). برای این منظور قطعه‌ای با اهمیت از ژنوم ویروس را تعیین توالی و با اطلاعات موجود مقایسه می‌نمایند (۱۰،۳). اگرچه این روش برای تعیین ارتباط ویروس جدید با سایر ویروس‌های در گردش در منطقه که ممکن است مشخصه‌ای از منشا، آن به دست دهد نیز کاربرد دارد (۸).

اخیرا استفاده از روشهای مولکولی در تشخیص ویروس تب برفکی اهمیت زیادی پیدا کرده و در ایران هم از این روش‌ها استفاده شده است (۲). Marquardt و Freiberg (۲۰۰۰) تغییرات آنتی ژنیک در ویروس تب برفکی سروتیپ A جدا شده از فیلد در ایران طی سالهای ۱۹۹۹-۱۹۹۷ را با استفاده از روشهای مولکولی و بررسی تغییرات ژنتیکی ویروس بررسی نمودند (۱۱). هدف این مطالعه نیز دنبال کردن تغییرات ژنتیکی ویروس تب برفکی عامل همه گیری‌های ایران بود.



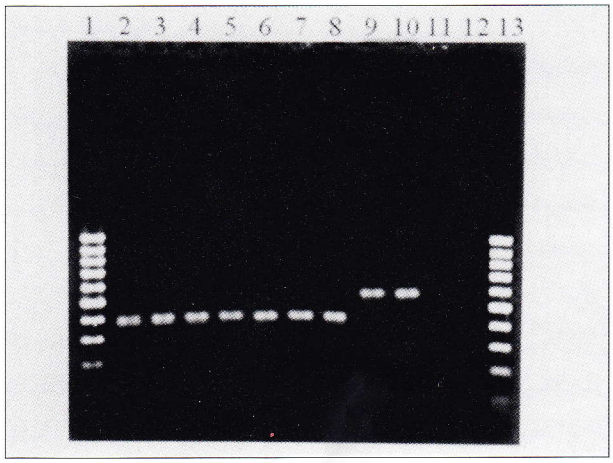
تصویر ۱- آزمایش RT-PCR بر روی ۱۱ نمونه بافت اپیتلیوم زبان گاو در ژل آگارز ۱/۵ درصد. وجود باند DNA به اندازه ۸۹۸ جفت باز در نمونه‌های ۱۰-۲ و عدم تکثیر DNA در نمونه‌های ۱۱ و ۱۲. ستون ۱ و ۱۳ مارکر مولکولی DNA (Ladder 100).

مواد و روش کار

نمونه‌های بالینی: تعداد ۱۱ نمونه بافتی (ضایعات دهان و یا زبان) مربوط به ۹ مورد از واگیری‌های تب برفکی در مهرماه سال ۱۳۸۱ از مناطق مختلف کشور جمع آوری گردید. نمونه‌ها طبق دستورالعمل سازمان دامپزشکی کشور در بافر گلیسرول فسفات ۵۰ درصد و در یخچال نگه‌داری، سپس به مرکز فدرال تحقیقات بیماریهای ویروسی حیوانات در توبینگن آلمان ارسال گردید و کلیهٔ آزمایشات بر روی نمونه‌ها در این مرکز انجام شد.

استخراج *RNA*: ابتدا قسمتی از هر نمونه (۱۰۰-۵۰ میلی گرم) بطور جداگانه با استفاده از تیغ بیستوری یکبار مصرف در ظرف پلاستیکی استریل ریز ریز و سپس RNA تام (total RNA) نمونه‌ها بوسیله کیت RNeasy™ (شرکت QIAGEN®، آلمان) طبق دستور کار شرکت سازنده، استخراج شد (۱،۱۳). بطور خلاصه پس از خرد کردن بافت مورد آزمایش و اضافه نمودن بافر RLT به آن، نمونه به مدت ۳۰ دقیقه در حرارت آزمایشگاه انکوبه گردید و پس از سانتریفوژ (۱۲۰۰۰rpm، ۵ دقیقه) مایع رویی که حاوی RNA می‌باشد در لوله جداگانه‌ای با محلول RWL مخلوط و سانتریفوژ (۱۰۰۰۰rpm، ۱۵ ثانیه) گردید. سپس محلول RPE به لوله اضافه و مانند مرحله قبل سانتریفوژ شد و در ادامه totalRNA توسط فیلتر مخصوص جدا می‌شد و نهایتا در آب مقطر درمان شده (DEPC-dH2O) حل می‌گردید. RNA استخراج شده بلافاصله در واکنش بعدی مورد استفاده قرار می‌گرفت و یا در صورت لزوم تا زمان استفاده در ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری می‌گردید.

آزمایش *RT-PCR* یک مرحله‌ای: در ابتدا برای تشخیص وجود ویروس تب برفکی در نمونه، از واکنش اولیهٔ RT-PCR یک مرحله‌ای (RT-PCR Kit QIAGEN® OneStep) استفاده گردید. بطور خلاصه، پرایمرها و RNA خالص شده به محلول Pre-Mix کیت اضافه و با استفاده از دستگاه Thermocycler طی یک واکنش ابتدا RNA ویروس به cDNA تبدیل و سپس PCR برای تکثیر ژن



تصویر ۲- آزمایش Multiplex-PCR برای تشخیص تیپ ویروس. ستونهای ۸-۲: باند DNA به‌اندازه ۴۰۰ جفت باز (تیپ O ویروس) و ستونهای ۹ و ۱۰: باند DNA به‌اندازه ۶۰۰ جفت باز (تیپ A ویروس) و ستون ۱ و ۱۳: مارکر مولکولی DNA (Ladder 100).

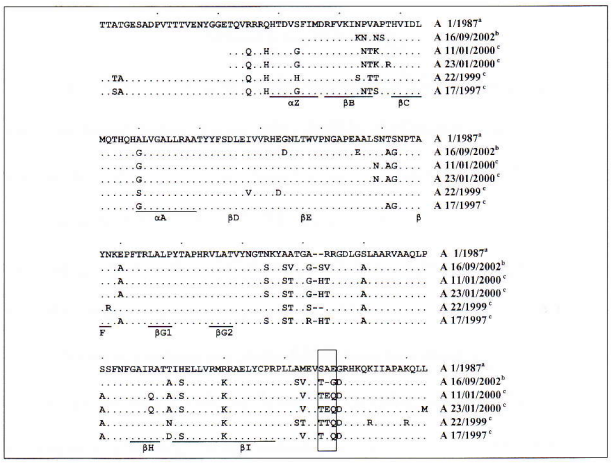
مورد نظر انجام می‌گرفت. در این آزمایش قسمتی از ژن پروتئیناز C ویروس به طول ۸۹۸ جفت باز (bp) که بین نوکلوتیدهای شماره ۵۴۵۰ و ۶۳۴۸ (سویه O1 Kaufenbeuren) قرار دارد و ردیف نوکلوتیدی آن در بین کلیهٔ سروتیپ‌های ویروس تب برفکی یکسان می‌باشد، بوسیلهٔ آزمایش PCR تکثیر می‌گردید. در این آزمایش از پرایمرهای 3C1as (5′-CGC TCT TCC ACA TCT CTG GT-3′) و 3A1s (5′-CCA CAA GCT GAA GGA CCC T-3′) استفاده گردید (۱۲،۱۳).

واکنش RT-PCR یک مرحله‌ای با استفاده از دستگاه PTC 100™ (شرکت MJ Research®، آمریکا) و برنامه حرارتی به صورت: (۱) ۵۰ درجه به مدت ۳۰ دقیقه، (۲) ۹۵ درجه به مدت ۱۵ دقیقه، (۳) ۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، (۴) ۵۵ درجه به مدت ۴۵ ثانیه، (۵) ۷۲ درجه به مدت ۱ دقیقه و (۶) ۷۲ درجه به مدت ۱۵ دقیقه، مراحل (۵)-(۳) ۳۵ سیکل تکرار، تنظیم و اجرا گردید.

آزمایش: *Multiplex RT-PCR*: پس از انجام آزمایش اول PCR و اطمینان از وجود ویروس در نمونه، آزمایش multiplex-RT-PCR برای تعیین تیپ ویروس انجام گردید. در این آزمایش نیز که توسط همان کیت و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده صورت پذیرفت، قطعه‌ای از ژن VP_1 ویروس تکثیر گردید. شرایط این آزمایش مشابه شرایط PCR اول بود که قبلاً هم گزارش گردیده است (۱۲، ۱۰، ۷، ۶). پرایمرهای مورد استفاده برای آزمایش RT و PCR-Multiplex در جدول ۱ آورده شده است.

الکتروفورز ژل آگارز: به منظور مشاهدهٔ نتایج آزمایشات PCR اول و PCR-Multiplex، محصول هر واکنش جداگانه بر روی ژل ۱/۵ درصد آگارز الکتروفورز گردید. سپس ژل به مدت ۱۰ دقیقه در محلول اتیدیوم بروماید (۴μg/ml) رنگ آمیزی و سپس با استفاده از اشعهٔ UV نتایج مشاهده گردید.

تعیین ردیف نوکلوتیدی محصول *PCR*: به منظور تعیین سکانس محصولات PCR، قطعات مورد نظر DNA از روی ژل آگارز به دقت جدا و محصول PCR با استفاده از کیت DNA purification (شرکت QIAGEN®، Germany) و با استفاده از فیلتر مخصوص خالص گردید. سپس DNA خالص شده و عاری از پرایمرها، نمکها و ژل آگارز به روش deoxy-terminator cycle sequencing Fluorescent dye تعیین توالی گردید (۱۲، ۱۰، ۳). نتایج بدست آمده از تعیین سکانس محصولات PCR با استفاده از نرم افزار DNASTAR با یکدیگر مقایسه گردید.



تصویر ۳- ردیف توالی اسیدهای آمینه پروتئین VP_1 سروتیپ *A* ویروس تب برفکی، (a) بسیار نزدیک به سویه واکسن مورد استفاده در ایران، *(b)* ویروس مورد مطالعه (مربوط به واگیری اطراف اصفهان)، نشانه "-" در چارچوب مشخص شده بیانگر فقدان یک اسید آمینه است و (C) ویروس های جداشده در سال های اخیر از ایران می باشد.

نتایج

آزمایش اولیه: *RT-PCR*: نمونه هایی که از نظر ویروس تب برفکی مثبت بودند، در آزمایش PCR اول تولید یک قطعه DNA به طول ۸۹۸ جفت باز نمودند (تصویر ۱). تکثیر این قطعه بدون در نظر گرفتن سروتیپ ویروس انجام گردید در حالی که در نمونه‌های عاری از ویروس هیچ باندی تکثیر نگردید. از تعداد ۱۱ نمونه، ۹ نمونه از نظر وجود ویروس تب برفکی مثبت بود.

آزمایش Multiplex - PCR: در این آزمایش بر اساس اندازه قطعه DNA تکثیر شده، تعیین سروتیپ ویروس صورت می‌پذیرد. باندهای DNA مورد انتظار برای تیپ‌های O، A و Asia1 به ترتیب ۴۰۰، ۶۰۰ و ۷۵۰ جفت باز بود (۱۲، ۱۰، ۷، ۶). از تعداد ۹ نمونه مثبت، تعداد ۷ نمونه تولید باند ۴۰۰ جفت باز نمودند و ۲ نمونه (مربوط به واگیری از اطراف اصفهان) تولید قطعهٔ ۶۰۰ جفت باز نمودند (تصویر ۲). لذا ۷ نمونه از سروتیپ O و ۲ نمونه از سروتیپ A شناسایی گردیدند.

تعیین توالی نوکلوتیدی تیپ *A* ویروس: پس از تعیین سکانس نوکلئوتیدی، این سکانس توسط نرم افزار DNASTAR به سکانس اسیدآمینه تبدیل شد و سپس سکانس اسیدآمینه ویروس تیپ A مورد آزمایش با سکانس اسیدآمینه‌ای منتشر شده از ناحیه VP_1 سایر ویروسهای تیپ A که در سال های اخیر از ایران جدا شده بودند به همراه سویه واکسنی این ویروس (تحت تیپ $A_1/1987$) مقایسه گردیدند. نتایج این مقایسه در تصویر ۳ آورده شده است. اختلافات ژنتیکی در نواحی مختلف ژن VP_1 از جمله در قسمت βB، βE و در چارچوب مشخص شده، دیده می‌شود.

بحث و نتیجه‌گیری

ویروس‌ها بیش از سایر موجودات دستخوش دگرگونی ژنتیکی می‌شوند. میزان موتاسیون در میان ویروس‌های DNA و RNA متفاوت است. آن عده از ویروس‌های DNA که داخل هسته تکثیر می‌شوند در هنگام تکثیر از همان مکانیسم اصلاح اشتباهات DNA سلولی استفاده می‌کنند. در مقابل میزان موتاسیون در ویروس‌های RNA بسیار بیشتر است زیرا مکانیسمی برای اصلاح اشتباهات حین تکثیر در این گروه از ویروس‌ها وجود ندارد. بنابراین جهش‌های غیر کشنده در ژنوم ویروس‌های RNA به سرعت تجمع می‌یابند که باعث پیدایش واریانت‌های ژنتیکی می‌گردد(۱۳،۱۶). از وقتی نشان داده شد که در یک سروتیپ واریانت هایی توانایی شکستن سد ایمنی را دارند، مقایسه جزیئات بیشتری از ویژگی‌های آنتی ژنیک ویروس‌های تب برفکی فیلد در مقابل سویه‌های واکسن ضرورت یافت (۹).

استفاده از روش‌های مولکولی و شناسایی تغییرات ژنتیکی ویروس تب برفکی یکی از راه‌های سریع و دقیق تعیین هویت ویروس می‌باشد که امروزه مورد توجه خاص قرار گرفته است. از همین روش‌ها در ردیابی ویروس‌ها در مناطق مختلف و مطالعات اپیدمیولوژیک استفاده شده است (۹، ۷). مطالعه تغییرات آنتی ژنیکی بر حسب تغییرات ژنتیکی در ژن VP_1 ویروس(۱۱) و همچنین اساس مولکولی پاتوژنیسیته ویروس قبلا گزارش شده است(۱۳). در این مطالعه نیز اهمیت و کارایی آزمایشات مولکولی در بررسی اختلافات ژنتیکی ویروس‌ها و مطالعه موتاسیون‌های ایجاد شده در ژنوم ویروس نشان داده شده است. لذا بکارگیری این روش‌ها در مطالعه ایزوله‌های ویروس از کانون‌های آلوده که تحت پوشش واکسیناسیون قرار داشته‌اند روش خوبی برای شناسایی و بررسی واریانت‌های جدید با خواص آنتی ژنیکی جدید می‌باشد.

در میان سروتیپ‌های ویروس تب برفکی، سروتیپ A دارای بیشترین تغییرات آنتی ژنیکی می‌باشد و به طور منظم به صورت سویه‌های جدید آنتی ژنیک پدیدار می‌شود(۹). در بررسی توالی اسیدهای آمینه نمونه تیپ A، در تعدادی اسید آمینه تغییر مشاهده شد که بیانگر بروز موتاسیون‌های نقطه‌ای در ژنوم ویروس می‌باشد. بعلاوه مقایسه اسیدهای آمینه ناحیه حلقه G-H (بین قطعات βG و βH) نمونه مورد مطالعه و تعدادی از ویروس‌های تیپ A جدا شده از واگیری‌های سال‌های اخیر ایران تغییراتی را نسبت به سویه واکسن مورد استفاده در ایران (A_1/1987) نشان می‌دهد. اگرچه تغییرات جزیی نمونه‌های قبلی موجب پیدایش واریانت آنتی ژنیکی جدیدی در ویروس‌های تیپ A ایران در چند سال گذشته نشده است(۳)، به نظر می‌رسد عدم ترجمه و تغییرات اسیدهای آمینه بویژه در موقعیت‌های ۱۹۸-۱۹۶ (چارچوب مشخص شده در تصویر ۳) در نمونه مورد مطالعه بتواند تغییرات آنتی ژنیک قابل ملاحظه‌ای را نسبت به سویه واکسن ایجاد نماید. در حال حاضر ارتباط دادن داده‌های توالی با خواص آنتی ژنیک ویروس‌ها مشکل است(۹). بنابراین آزمایشات ایمنی شناختی نظیر آزمایش خنثی سازی متقاطع (cross-neutralization) و در نهایت چالش تجربی ویروس جدید با دامهای واکسینه برای تائید واریانت‌های آنتی ژنیک ضرورت دارد.

در ایران و کشورهای همجوار نشخوارکنندگان کوچک مهمترین گونه‌های دامی روستایی و عشایری را تشکیل می‌دهند(۵). گوسفند و بز در اپیدمیولوژی تب برفکی دارای اهمیت ویژه‌ای هستند زیرا فاقد یا دارای نشانه‌های بالینی بسیار خفیف می‌باشند که حتی می‌تواند از چشم دامپزشکان با تجربه دور بماند، از اینروی این دامها به عنوان یکی از عوامل مهم در انتشار بیماری محسوب می‌گردند(۵،۸،۹،۱۶). از سوی دیگر در حال حاضر کل جمعیت نشخوارکنندگان کوچک در کشور تحت پوشش واکسیناسیون علیه تب برفکی قرار ندارد، در نتیجه گردش ویروس در محیط تقویت می‌گردد که امکان پیدایش واریانت‌های ژنتیکی و آنتی ژنیک جدید ویروس تب برفکی را فراهم می‌آورد (۱۰،۱۲). موتانت‌های آنتی ژنیک می‌توانند اثر بخشی واکسن را به درجاتی کاهش دهند و در نتیجه ناکارآمدی واکسیناسون را برای جمعیت تحت پوشش بویژه گاوها موجب شوند.

بنابراین برای کنترل موثر تب برفکی در کشور در حال حاضر تحت پوشش واکسیناسیون قرار گرفتن کل جمعیت نشخوارکنندگان کوچک اهلی پیشنهاد می‌شود. به دلیل هزینه بالای پوشش کامل واکسیناسیون، پس از کاهش بروز بیماری برای تداوم مبارزه با تب برفکی می‌توان واکسیناسیون نشخوارکنندگان کوچک را به مناطق پرخطر مانند نوار مرزی کشور محدود نمود و به طور همزمان با کنترل جابجایی دام‌ها این اقدام را تقویت نمود. بعلاوه برای داشتن واکسن قوی و کارآمد نیز مراقبت دایمی به منظور بررسی مولکولی ایمنی شناختی عوامل واگیری‌های جدید ضروری می‌باشد تا در صورت شناسایی تحت تیپ متفاوت از نظر آنتی ژنیکی نسبت به معرفی آن به موسسات واکسن سازی اقدام گردد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از سازمان دامپزشکی کشور و بویژه مساعدت‌های صمیمانه آقایان دکتر چرخکار و دکتر عطارد در تهیه و ارسال نمونه به کشور آلمان سپاسگزاری می‌نماید. بعلاوه از آقای کارل هاینز آدام به خاطر همکاری در انجام آزمایش تعیین توالی نوکلئوتیدی قدردانی می‌نماید.

References

۱. طالب شوشتری، ع. (۱۳۷۴): بیماری تب برفکی (FMD) و وضعیت آن در ایران. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۲۹ زمستان ۱۳۷۴ صفحه: ۸۵-۸۲.
۲. قرشی، س. ع.، دلیری، م.، حاجیان، ت.، بانویی، م.م.، الوندی، ع. (۱۳۸۰): تشخیص ویروس تب برفکی در نمونه‌های کلینیکی به روش RT-PCR. مجله پژوهش و سازندگی. شماره ۵۳ زمستان ۱۳۸۰، صفحه: ۱۲-۱۰.
3. Adam, K. H., Marquardt, O. (2002): Differentiation of type A, asia$_1$ and O foot-and-mouth disease virus variants, amplified by the same system, by sequencing of the capsid protein genes. J Virol. Meth. 104: 117-123.

4. Amaral-Doel, C. M. F., Owen, N. E., Ferris, N. P. and Kitching, R. P. (1993): Detection of foot-and-mouth disease viral sequences in clinical specimens and ethylene eimine-inactivated preparations by the polymerase chain reaction. Vaccine 11: 415-421.
5. Callens, M., De Clercq, K., Gruia, M. and Danes, M. (1998): Detection of foot-and-mouth disease by reverse transcription polymerase chain reaction and virus isolation in contact sheep without clinical signs of foot-and-mouth disease. Vet Quart. 20 (suppl. 2): S37-S40.
6. Freiberg, B., Rahman, M. M. and Marquardt, O. (1999): Genetical and immunological analysis of recent Asian type A and O foot-and-mouth disease virus isolates. Virus Genes 19: 167-182.
7. Islam, M.A., Rahman, M.M., Adam, K.H. and Marquardt, O. (2001): Epidemiological implications of the molecular characterization of foot-and-mouth disease virus isolated between 1996 and 2000 in Bangladesh. Virus Genes 23: 203-210.
8. Kitching, R. P., Hughes, G. J. (2002): Clinical variation in foot and mouth disease: sheep and goats. Rev. sci. tech. Off. Int. Epiz. 21: 506-512.
9. Knowles, N.J., Samuel, A.R. (2003): Molecular epidemiology of foot-and-mouth disease virus. Virus Res. 91:65-80.
10. Marquardt, O., Adam, K. H. (1990): Foot-and-mouth disease virus subtyping by sequencing VP_1 genes. Vet Microbiol. 23: 175-183.
11. Marquardt, O., Freiberg, B. (2000): Antigenic variation among foot-and-mouth disease virus type A field isolates of 1997-1999 from Iran. Vet Microbiol. 74: 377-386.
12. Marquardt, O., Haas, B. (1998): VP_1-coding sequences of recent isolates of foot-and-mouth disease virus type A, O and Asia1. Virus Genes 16: 185-193.
13. Masom, P. W., Grubman, M. J. and Baxt, B. (2003): Molecular basis of pathogenesis of FMDV. Virus Res. 91: 9-32.
14. Moss, A., Haas, B. (1999): Comparison of the plaque test and reverse transcription nested PCR for the detection of FMDV in nasal swabs and probing samples. J. Virol. Method. 80: 59-67.
15. Neidbalski, W, Adam, K. H. and Marquardt, O. (1998): Quantitation of foot-and-mouth disease virus genomes in bovine tissue by competitive RT-PCR. J. Virol. Meth. 72: 237-242.
16. Saiz, M., Nunez, J. I., Jimeneze-Clavero, M. A., Baranowski, E. and Sobrino, F. (2002): Foot-and-mouth disease virus: biology and prospects for disease control. Microbiol. Infect. 4: 1183-1192.