JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره پانزدهم، شماره اول، ۱۳۹۸، پیاپی ۳۸: ۱۳۸-۱۳۱

شناسایی ویروس عامل بیماری هپاتیت به همراه گنجیدگی (IBH) به روش PCR در ماکیان گوشتی استان اصفهان

محسن قربیانی[۱]، کیوان‌هاتفی نژاد[۲*]، جلال شایق[۳]

۱- دانش آموخته دکترا عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران
دانشجوی دکترای تخصصی رشته بهداشت و بیماری‌های طیور، بخش علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- استادیار بخش بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

۳- استادیار میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۶ تاریخ پذیرش:۹۶/۶/۱۱

چکیده

آدنوویروس‌های پرندگان به‌طور گسترده‌ای در گله‌های تجاری جهان پراکنده هستند و گستره‌ی وسیعی از حدت و علائم بالینی را نشان می‌دهند. برخی جدایه‌های آدنوویروس مرغی می‌توانند عامل بیماری هپاتیت به همراه گنجیدگی (IBH) باشند. اهمیت حضور ویروس عامل IBH علاوه بر خسارات اقتصادی، همراهی آن با سایر بیماری‌های ویروسی هست. تضعیف سیستم ایمنی به دنبال درگیری با ویروس بیماری بورس عفونی (IBDV)بیماری‌زایی ویروس عامل IBH را تسهیل می‌کند و علاوه بر این، درگیری هم‌زمان ویروس کم‌خونی عفونی ماکیان (CIAV) با ویروس عامل IBH میزان جراحات قلبی و تلفات را افزایش می‌دهد. میزان مرگ و میر در بیماری ویروس عامل IBH ممکن است به ۱۰ ٪ برسد، اما در بعضی موارد تا ۳۰ ٪ هم گزارش‌شده است. مطالعه حاضر برای اولین بار به شناسایی ویروس IBH به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) و حضور ژن هگزون در ناحیه متغیر LOOP1 در ماکیان گوشتی استان اصفهان پرداخته شد. در این راستا ۶۹ نمونه کلینیکی از ۳۵ مرغداری مختلف در هشت شهرستان استان، با علائم کبدی موردبررسی قرار گرفت، درمجموع پنج نمونه مثبت (۷/۲۵ ٪) از سه شهرستان کاشان، اردستان و گلپایگان در آزمایش PCR تأیید شدند و وجود آلودگی برای اولین بار در استان اصفهان تأیید گردید.

کلمات کلیدی: عامل بیماری هپاتیت به همراه گنجیدگی، استان اصفهان، PCR، ماکیان گوشتی

*نویسنده مسئول: کیوان‌هاتفی نژاد

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شبستر، دانشگاه آزاد اسلامی، شبستر، ایران. تلفن: ۰۹۱۴۴۰۳۷۸۰۱

پست الکترونیک: hatefi@iaushab.ac.ir

مقدمه

جنس آیوی آدنوویروس در خانواده‌ی آدنوویریده قرار دارد و شامل مهم‌ترین آدنوویروس‌های ماکیان (FAdVs) است که خود به ۵ گونه از A تا E تقسیم می‌شوند (۱۱). بیشتر سروتیپ‌های آدنوویروس پرندگان باعث بیماری مشخص در پرندگان نمی‌شوند و حضور آن‌ها همیشه با علائم خاصی همراه نیست. بااین‌وجود برخی سروتیپ‌های این جنس در اکثر اوقات با نشانه‌های خاصی همراه هستند به‌مانند سروتیپ یک آدنوویروس که عامل برونشیت بلدرچین است و نیز آدنوویروس مرغی سروتیپ چهار که عامل التهاب کبد همراه با گنجیدگی می‌باشد (۵). بقیه سروتیپ‌های این جنس بیشتر در ایجاد عفونت‌ها به‌صورت فرصت‌طلب زمانی که پرنده تحت تأثیر بیماری‌های تضعیف‌کننده سیستم ایمنی مثل گامبورو، کم‌خونی عفونی ماکیان، مارک و استرس قرار می‌گیرد نقش بازی کرده و منجر به علائم بالینی مختلف شامل افزایش ضریب تبدیل، اسهال، آرتریت و بیماری‌های تنفسی و غیره می‌شوند (۳). روش PCR برای تشخیص FAdV با استفاده از پرایمرهای ژن هگزونی به کار می‌رود (۱۰). ویروس‌ها از پرندگان با سن بین سه تا چهارده هفته قابل جداسازی هستند اما جداسازی ویروس از تمام سنین نیز ممکن است. بیشتر بالغین با بیش از یک سروتیپ آلوده می‌شوند (۱۴). ابتلا پرنده به یکی از عوامل تضعیف‌کننده سیستم ایمنی همانند ویروس بیماری گامبورو، زمینه برای ایجاد IBH را توسط آدنوویروس تسهیل می‌کند (۸). میزان مرگ و میر ممکن است به ۱۰ ٪ برسد، اما در بعضی موارد تا ۳۰ ٪ گزارش‌شده است (۴). IBH عموماً در طیور گوشتی رخ داده و از هفت روزگی ابتلا به آن شروع می‌شود. مدارکی مبنی بر انتقال IBH از طریق مادر به نتاج در دستگاه‌های زنجیره‌ای وجود دارد (۱۵).

آزمون PCR که از اختلاف نوکلئوتید لوپ یک در ژن هگزون برای تشخیص و تفریق ژنوتیپ‌ها استفاده می‌کند. تفاوت‌های ژنوتیپی با تفاوت‌های سروتیپی نیز هم‌خوانی دارد و امروزه جایگزین روش‌های دیگر تشخیص شده است (۹). هدف از این مطالعه ر شناسایی ویروس عامل IBH در ماکیان گوشتی استان اصفهان برای اولین بار می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه‌برداری

بر اساس مطالعات انجام‌شده، بیماری عامل ویروس IBH معمولاً در طیور گوشتی رخ‌داده و سن شروع بیماری از ۷ روزگی می‌باشد (۱۵). از جوجه‌های گوشتی با سن بیش از ۱۱ روزه استان اصفهان نمونه‌برداری گردید. به دلیل اینکه بیشترین ضایعات بیماری و محل تکثیر ویروس کبد پرندگان آلوده می‌باشد، نمونه‌گیری از کبدهایی انجام شد که کم‌رنگ، شکننده، متورم و با نقاط کوچک و سفید و نقاط پتشی و اکیموز و به‌صورت کلی دارای علائم بیماری در کبد بودند. نمونه‌ها در تابستان ۱۳۹۵ در کلینیک‌های تخصصی طیور هشت شهرستان استان اصفهان (اصفهان، کاشان، اردستان، نطنز، گلپایگان، خوانسار، لنجان و سمیرم) به‌صورت جدول ۱ جمع‌آوری شد.

برای انتخاب شهرستان‌ها از نمونه‌گیری خوشه‌ای استفاده شد بدین منظور فهرستی از تمامی شهرستان‌های واجد مرغداری گوشتی استان تهیه گردید و به روش تصادفی از بین آن‌ها نمونه‌ها انتخاب شدند سپس گله‌های طیور گوشتی هر شهرستان مورد مطالعه قرار گرفتند.

جدول ۱- تعداد نمونه‌های مورد مطالعه شهرستان‌های استان اصفهان

شماره	نام شهر	تعداد مرغداری گوشتی شهرستان	درصد پراکندگی مرغداری‌های گوشتی در هر شهرستان	درصد نمونه‌برداری برای هر شهرستان	تعداد نمونه هر مرغداری	تعداد نمونه بافتی	تعداد نمونه‌های مخلوط شده (pool) جهت آزمون PCR
۱	اصفهان	۲۵۸	۲۰/۲۰	۲۹/۲۸	۱۰	۶۰	۲۰
۲	کاشان	۱۶۸	۱۳/۱۵	۱۹/۰۶	۷	۳۹	۱۳
۳	اردستان	۱۳۳	۱۰/۴۱	۱۵/۰۹	۵	۳۰	۹۰
۴	نطنز	۱۰۵	۸/۲۲	۱۱/۹۱	۴	۲۴	۸
۵	گلپایگان	۹۷	۷/۹۵	۱۱/۰۱	۴	۲۴	۸
۶	خوانسار	۷۱	۵/۵۶	۸/۰۵	۳	۱۸	۶
۷	لنجان	۲۹	۲/۲۷	۳/۲۹	۱	۶	۲
۸	سمیرم	۲۰	۱/۵۶	۲/۲۷	۱	۶	۲
جمع	۸ شهر	۸۸۱		٪۱۰۰	۳۵	۲۰۷	۶۹

جهت اخذ نمونه از پرندگان تلف‌شده که به کلینیک ارجاع شده بود و در کالبدگشایی علائم کبدی مشاهده می‌شد، در هر گله از کبد شش پرنده نمونه‌برداری شد، بدین ترتیب از مجموع ۳۵ گله، ۲۰۷ نمونه بافتی مورد ارزیابی قرار گرفت. پس از اخذ، نمونه‌ها در دمای $-20^{\circ}C$ ذخیره گردیدند و با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه جهت انجام آزمایش PCR انتقال داده شدند. نمونه‌های هر گله با یکدیگر مخلوط شده و درمجموع ۶۹ نمونه مورد ارزیابی PCRقرار گرفت.

استخراج DNA

استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج Cinnapure DNA (Cinnaclon Co. Iran) و مطابق دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت. مایع جمع شده در میکروتیوپ حاوی DNA در دمای $-20^{\circ}C$ تا زمان انجام آزمایش PCR ذخیره شد.

واکنش PCR

جهت انجام واکنش PCR از پرایمرهایی استفاده شد که به‌طور اختصاصی به ژن هگزون گروه یک آدنوویروس‌ها متصل شده و قطعه به طول ۵۹۰ نوکلئوتید تکثیر می‌شود.

جدول ۲- توالی پرایمرها ژن هگزون

نام پرایمر	توالی نوکلئیدی
Hex-F	ATGGGAGCSACCTAYTTCGACAT
Hex-R	AAATTGTCCCKRAANCCGATGTA

واکنش PCR در حجم ۵۰ میکرو لیتر انجام و در تمامی موارد کنترل‌های مثبت و منفی به‌طور هم‌زمان استفاده شد و اجزاء مطابق جدول ۳ بودند. کنترل مثبت شامل DNA نمونه‌ای بود که قبلاً به‌عنوان آدنو ویروس مولد IBH شناسایی و با استفاده از سکانس ژن هگزون تعلق آن ویروس مذکور تائید شده بود. از آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی استفاده گردید.

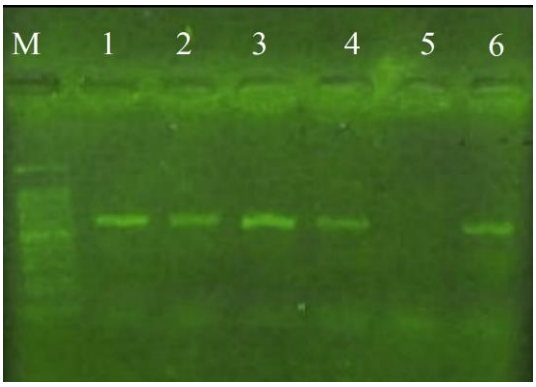
جدول ۳- ترکیب Master mix جهت واکنش PCR

مواد مصرفی	حجم
Water	37.25 µl
PCR Buffer (10X)	5.00 µl
dNTP (10mM)	0.50 µl
Primer Hex-F (10 µM)	0.50 µl
Primer Hex-R (10. µM)	0.50 µl
$MgCl_2$ (50mM)	2.00 µl
Taq DNA polymerase (5u/ µl)	0.25 µl
DNA	4.00 µl

DNA استخراج‌شده از نمونه‌ها در ترموسایکلر (Quanta-Biotech, Germany) قرار گرفت و برنامه حرارتی مطابق جدول شماره ۴ بر روی نمونه‌ها اعمال گردید.

جدول ٤- برنامه حرارتی جهت انجام واکنش PCR

	دما (سانتی‌گراد)		زمان
واسرشت اولیه	۹۴		۲ دقیقه
واسرشت	۹۴		۱۰ ثانیه
اتصال به پرایمر	۵۸	۲۵ سیکل	۲۰ ثانیه
طویل شدن DNA	۷۲		۲۰ ثانیه
طویل شدن انتهایی	۷۲		۵ دقیقه



تصویر ۱- محصول PCR قطعه ۵۹۰ جفت باز نشانه حضورآدنوویروس در نمونه‌های کبد M: مارکر ۱۰۰ جفت باز، ستون ۱ تا ٤: نمونه‌های بافت، ستون ٥: کنترل منفی (آب مقطر)، ستون ٦: کنترل مثبت (DNA نمونه‌ای بود که قبلاً به‌عنوان آدنو ویروس مولد IBH شناسایی و با استفاده از سکانس ژن هگزون تعلق آن ویروس مذکور تائید شده بود)

ارزیابی محصول PCR

محصولات PCR در ژل آگارز ۱٪، به مدت ۴۵ دقیقه با ولتاژ ۱۰۰ ولت الکتروفورز شده و پس از رنگ‌آمیزی با اتیدیوم بروماید ۱ میکروگرم بر میلی لیتر در برابر نور UV تصویربرداری به عمل آمد. مارکر مورد استفاده DNA، ۱۰۰ جفت باز (ساخت شرکت سیناژن، ایران) بود.

نتایج

حضور قطعه ۵۹۰ جفت باز در تصویر ژل الکتروفورز نشان‌دهنده حضور ژن هگزون و درنتیجه آلودگی نمونه به ویروس IBH است (تصویر ۱). از تعداد ۶۹ نمونه مورد بررسی در این مطالعه تعداد ۵ نمونه حاوی ژن هگزون به‌اندازه ۵۹۰ جفت باز بودند که مثبت در نظر گرفته شدند. این ۶۹ نمونه متعلق به ۳۵ مرغداری بود که ۵ نمونه مثبت آن به ترتیب متعلق به سه شهرستان و چهار مرغداری به شرح جدول ۵ می‌باشد.

تصویر ۱- محصول PCR قطعه ۵۹۰ جفت باز نشانه حضورآدنوویروس در نمونه‌های کبد M: مارکر ۱۰۰ جفت باز، ستون ۱ تا ۴: نمونه‌های بافت، ستون ۵: کنترل منفی (آب مقطر)، ستون ۶: کنترل مثبت (DNA نمونه‌ای بود که قبلاً به‌عنوان آدنو ویروس مولد IBH شناسایی و با استفاده از سکانس ژن هگزون تعلق آن ویروس مذکور تائید شده بود)

جدول ۵- تعداد و درصد نمونه‌های مثبت و منفی، بر اساس واکنش PCR

شماره	نام شهرستان	نمونه مبتلا به ویروس IBH		تعداد کل نمونه‌ها هر شهر	درصد آلودگی	درصد آلودگی در کل مرغداری
		مثبت	منفی			
۱	اصفهان	۰	۲۰	۲۰	۰	۰
۲	کاشان	۲	۱۱	۱۳	۱۵/۳۸	۲/۹۰
۳	اردستان	۲	۸	۱۰	۲۰	۲/۹۰
۴	نطنز	۰	۸	۸	۰	۰
۵	گلپایگان	۱	۷	۸	۱۲/۵	۱/۴۵
۶	خوانسار	۰	۶	۶	۰	۰
۷	لنجان	۰	۲	۲	۰	۰
۸	سمیرم	۰	۲	۲	۰	۰
جمع	۸ شهر	۵	۶۴	۶۹	۰	۷/۲۵

طبق مطالعات انجام‌شده در سه شهرستان، کاشان (۲ نمونه در یک مرغداری گوشتی)، اردستان (۲ نمونه در دو مرغداری گوشتی)، گلپایگان (۱ نمونه در یک مرغداری گوشتی) که درمجموع ۷/۲۵ ٪ نمونه‌های کبد در آزمایش PCR مثبت و درمجموع ۱۱/۴۲ ٪ مرغداری‌های استان اصفهان مثبت بودند.

به‌منظور بررسی رابطه بین سن و میزان موارد مثبت در مرغداری‌ها، از آزمون اسپیرمن استفاده گردید. بر

اساس نتایج مطالعه، رابطه معنی‌داری بین سن و میزان موارد مثبت و منفی مشاهده نشد.

بحث

با توجه به تنوع آدنوویروس پرندگان و گستردگی آن در گله‌های تجاری، بیان اهمیت اقتصادی آن مشکل است. چراکه اهمیت اقتصادی آن‌ها تحت تأثیر حدت ویروسی داشته و تلفات بالا با سویه‌های حاد اتفاق می‌افتد (۳).

شیوع IBH در جوجه‌های با سن زیر سه هفته با تلفات ۳۰ ٪، در سال ۱۹۸۰ در استرالیا گزارش شد (۷). خسارات آدنوویروس پرندگان در نیوزلند و استرالیا مربوط به عامل بیماری هپاتیت همراه با گنجیدگی (IBH) می‌باشد (۶). آزمون PCR که حضور نوکلئوتیدهای لوپ یک ژن هگزون را نشان می‌دهد، یک روش سریع با حساسیت بالا در تشخیص آدنوویروس‌ها است (۹). اولین مکانی که در بیماری IBH تحت تأثیر قرار می‌گیرد کبد است، در بیماری IBH، کبد کم‌رنگ، شکننده و متورم است. نقاط کوچک سفید و نقاط پتشی و اکیموز نیز می‌تواند در کبد مشاهده شود (۱۵). طبق بررسی‌های انجام‌شده در داخل کشور و سایر کشورها، IBH یکی از عوامل ضررهای اقتصادی در گله‌های گوشتی به شمار می‌رود. تا آنجایی که نگارندگان می‌دانند، اطلاع جامعی در خصوص حضور این ویروس در ماکیان گوشتی استان اصفهان وجود ندارد، بنابراین در این مطالعه برای اولین بار به شناسایی ویروس IBH در ماکیان گوشتی استان اصفهان پرداخته‌شده است. نمونه‌ها از کبدهایی که دارای این علائم و یا مشابه به این علائم بودند اخذ گردید. نمونه‌ها از کلینیک‌های تخصصی طیور ۸ شهرستان استان اصفهان جمع‌آوری شد. بدین ترتیب از مجموع ۶۹ نمونه ۵ نمونه (۷/۲۵ ٪) مثبت بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان‌دهنده وجود آلودگی در استان اصفهان می‌باشد. در مطالعه‌ی آلودگی آدنوویروس در استان قم توسط وفایی و حسینی میزان آلودگی ۸/۸٪ گزارش‌شده است (۱). آلودگی به عامل ویروس IBH در استان فارس نیز توسط خداکرم و تفتی و همکاران تائید شده بود (۱۳). وجود ویروس در شمال شرق ایران توسط ناطقی و همکاران تأیید و میزان آلودگی آدنوویروس ۱۰ ٪ گزارش‌شده است (۱۷). نتایج مطالعات فوق که همگی به روش PCR انجام‌یافته بودند، با نتایج حاصل از این مطالعه در مورد حضور ویروس در کشور مطابقت داشتند.

در این مطالعه برای اولین بار حضور بیماری ویروس عامل IBH در ماکیان گوشتی استان اصفهان گزارش‌شده. مطالعه حاضر نشان‌دهنده درگیری با ویروس در شهرستان‌های شمال استان که در مجاورت با استان قم قرار دارند را نشان می‌دهد و این احتمال را مطرح می‌سازد که ممکن است آلودگی از مرغداری‌های استان قم به استان اصفهان منتشرشده باشد (۱).

ممکن است که آدنوویروس پرندگان در گله‌های گوشتی استان اصفهان نیز پراکندگی بالایی داشته باشد اما برای شناسایی آن‌ها نمونه‌گیری از دستگاه تنفس فوقانی و تحتانی نیاز است(۱۲). در بسیاری از مطالعاتی که انجام‌شده در دیگر نقاط جهان نیز از کبد برای شناسایی آدنوویروس پرندگان استفاده کرده‌اند (۲۰).

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که بیشترین نمونه‌های مثبت مربوط به گله‌هایی با سن ۲۹ روزه تا ۳۸ روزه بودند، ولی رابطه معنی‌داری بین سن و میزان موارد مثبت و منفی مشاهده نشد. در این مطالعه آلودگی بیماری ویروسی عامل IBH در سنین پایین‌تر (۱۲ روزگی) نیز وجود داشت.

بیماری آدنوویروس‌های پرندگان را می‌توان با کنترل شرایط محیطی، مدیریتی، بهداشتی، غیرقابل نفوذ کردن سطوح و دیوارها، ضدعفونی کردن تجهیزات و کنترل عبور و مرور افراد پیشگیری نمود (۱۶). طبق مطالعات انجام‌شده، تضعیف سیستم ایمنی به دنبال درگیری با ویروس بیماری بورس عفونی، ایجاد IBH را تسهیل می‌کند (۷). علاوه بر این، بیماری کم‌خونی عفونی جوجه به عنوان یک فاکتور مستعد کننده برای وقوع بیماری عمل می‌کند (۲۱). بنابراین کنترل این دو بیماری تضعیف‌کننده ایمنی، یک گام مهم دیگر مدیریتی در کنترل IBH می‌باشد. به دلیل اینکه مدارکی مبنی بر انتقال IBH از طریق مادر به نتاج در سیستم زنجیره‌ای وجود دارد (۱۵)، بنابراین کنترل ویروس IBH را باید از گله‌های مادر از سنین ابتدایی آغاز کرد. به دلیل احتمال نقش بعضی از ژنوتیپ‌ها در ایجاد عفونت اولیه، واکسیناسیون اولیه باید بر مبنای آن‌ها طراحی شود. با در نظر گرفتن انتقال عمودی ایمنی، باید واکسیناسیون جهت رسیدن به سطح تیتر آنتی‌بادی در گله‌های مادر به صورتی انجام شود که تیتر انتقالی به نتاج در آن‌ها محافظت‌کننده باشد (۱۸).

واکسیناسیون گله‌های اجداد با واکسن کشته‌ی حاوی سویه‌های سروتیپ D و سروتیپ E بیماری IBH در هفته‌ی ۱۰ و ۱۷ می‌تواند از نتاج به‌صورت کامل محافظت کند (۲) مشاهده شده است که آنتی‌بادی‌های مادری که به‌واسطه دو بار واکسیناسیون مولدین با واکسن کشته شده ایجاد گردیده بود توانست از مرغ‌های گوشتی در مقابل عفونت‌های تجربی IBH محافظت کند (۱۹).

نتیجه‌گیری

با تأیید حضور ویروس عامل IBH در استان اصفهان و تأثیر بیماری‌های سرکوب‌کننده سیستم ایمنی بر روند بیماری و انتقال عمودی بیماری، به نظر می‌رسد باید برنامه‌های پیشگیری هم در سطح مرغداری‌های مادر و هم مرغداری‌های گوشتی استان جهت جلوگیری از سرکوب ایمنی با دقت بیشتری مورد توجه قرار گیرند.

منابع

۱. وفایی، ع. (۱۳۹۲). آنالیز فیلوژنی آدنوویروس مرغی از گله‌های نیمچه‌ی گوشتی ایران در سال ۱۳۹۱. *پایان‌نامه دکترا حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج*، صفحه ۶۶.

2. Alvarado, I.R.P., Villegas, J., El-Attrache, E., Jensen, G., Rosales, F., Perozo, L.B. (2007). Genetic characterization, pathogenicity, and protection studies with an Avian adenovirus isolate associated with inclusion body hepatitis. *Avian Diseases* **51**: 27-32
3. Balamurugan, V., Kataria, J.M. (2004). The hydro pericardium syndrome in poultry- A current scenario. *Veterinary Research Communications* **28**:127-48
4. Christensen, N.H., Saifuddin, M. (1989). A primary epidemic of inclusion body hepatitis in broilers. *Avian Diseases* **33**: 622-30
5. Correldor, J.C., Garacac, A., Krell, P.J., Nagy, E. (2008). Sequence comparison of the right end of fowl adenovirus genomes. *Virus Genes* **36**: 331-34
6. Cowen, B.S. (1988). Chicken embryo propagation of type I avian adenoviruses. *Avian Diseases* **32**: 282-97
7. Erny, K.M., Barr, D.A., Fahey K.J. (1991). Molecular characterization of highly virulent fowl adenoviruses associated with outbreaks of inclusion body hepatitis. *Avian Pathology* **20**: 606
8. Fadly, A.M., Winterfield, R.W. (1973). Isolation and some characteristics of an agent associated with inclusion body hepatitis, hemorrhages, and aplastic anemia in chickens. *Avian Diseases* **20**: 467-72
9. Ganesh, K., Suryanarayana, V.V., Raghavan, R. (2002). Detection of fowl adenovirus associated with hydro pericardium hepatitis syndrome by a polymerase chain reation. *Veterinary Research Communications* **26**: 73-80

10. Ganesh, K., Suryanarayana,V., Raghavan R., Gowda, S. (2001). Nu cleotide sequence of L1 and part of P1 of hexon gene of fowl adenovirus associated with hydropericardium hepatitis syndrome differes with the corresponding region of other fowl adenoviruses. *Veterinary Microbiology* **78**: 1-11
11. Hess, M. (2000). Detection and differentiation of avian adenoviruses: a review. *Avian Pathology* **29**: 195-206
12. Ivanics, E., Palya, V., Markos, B., Dan, A., Ursu, K., Harrach, B., Kaján, G., Glávits, R. (2010). Hepatitis and hydro pericardium syndrome associated with adenovirus infection in goslings. *Acta Veterinaria Hungarica* **58**: 47-58
13. Khodakaram-Tafti, A., Asasi, K., Namazi, F. (2015). Molecular Identification of Fowl Adenovirus Associated with Inclusion Body Hepatitis in Iran. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* **10**: 1311-477
14. Kovács, G.M., LaPatra, S.E., D'Halluin, J.C., Benki, M. (2003). Phylogenetic analysis of the hexon and protease genes of a fish adenovirus isolated from white sturgeon (Acipenser transomontanus) supports the proposal for a new adenovirus genus. *Virus Research* **98**: 27- 34
15. Macpherson, I., McDougall, J.S., Laursen-Jones A.P. (1974). Inclusion body hepatits in a broiler bintegration. *Veterinary Recoed* **95**: 286-9
16. McCracken, R.M., McFerran, J.B., Evans, R.T., Connor, T.J., (1976). Experimental studies on the aetiology of inclusion body hepatitis. *Avian Pathology* **5**: 325-39
17. Nateghi, E.1., Razmyar, J., Bassami, M.R. (2013). Molecular characterization of avian adenoviruses in Iranian broiler flocks, *Iranian Journal of Veterinary Research Shiraz University* **2**: 164-67
18. Saifuddin, M., Wilks, C.R. (1990). Reproduction of inclusion body hepatitis in conventionally raised chickens inoculated with a New Zealand isolate of avian adenovirus. *New Zealand Veterinary Journal* **38**: 62-5
19. Toro, H., Gonzales, C., Cerda, L., Hess, M., Reyes, E., Geissea, C. (2000). Chicken anemia Virus and fowl adenoviruses: Association to induce the inclusion body hepatitis/hydro pericardium Syndrome. *Avian Diseases* **44**:51-8
20. Toro, H., Prusas, R., Raue, R., Cerda, L., Geisse, C., Gonzalze, C., Hess, M. (1999). Characterization of fowl adenoviruses from outbreaks of inclusion body hepatitis hydro pericardium syndrome in chile. *Avian Diseases* **43**: 262-70
21. Von Bülow, V., Rudolph R., Fuchs, B. (1986). Folgen der Doppelinfektion von küken mit adenovirus oder reovirus und dem Erreger der Aviären Infektiösen Anämie (CAA). *Journal of Veterinary Medicine B* **33**: 717-26

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 15, Issue 1, 2019

Molecular detection of inclusion body hepatitis (IBH) agent in broiler chickens in Isfahan province

Ghorbiani, M.[1], Hatefinezhad, K.[2*], Shayegh, J.[3]

1. Graduated Doctor of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran
Ph.D. student of Avian Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
2. Assistant professor in poultry Diseases Department, Faculty of Veterinary medicine Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran
3. Assistant Professor of Microbiology, Faculty of Veterinary medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran

Received: 28 July 2017 Accepted: 25 September 2017

Abstract

Avian Adenoviruses are widely distributed in commercial flocks in the world and show wide variety of virulence and clinical signs. Some of isolates of fowl adenoviruses can cause Inclusion Body Hepatitis (IBH). The importance of IBH agents are economic losses and its association with other viral diseases. Immunosuppression after Infectious Bursal Disease (IBD) can facilitate disease of IBHV. Also simultaneous infection with chicken infectious anemia virus (CIAV) and IBH increase the heart injuries and mortality. Mortality rate in IBH can reach to 10% but sometimes it can be over 30%. In this study identification of IBHV by PCR method and presence of Hexon gene in variable area of Loop1 was studied in Isfahan province for the first time. 69 liver samples from suspected 35 flocks and cities gathered and sent to laboratory. Five samples from Kashan, Ardestan and Golpayegan were positive in PCR. So presence of IBHV confirmed in this province.

Keywords: Inclusion Body Hepatitis; Isfahan province; PCR; Broiler chickens

**Corresponding author: Hatefinezhad, K.*
Address: Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary medicine, Shabestar Branch, Islamic Azad University, Shabestar, Iran. Tel: 04134402712
Email: hatefi@iaushab.ac.ir