



شناسایی مولکولی سروتیپ های ویروس عامل برونشیت عفونی در جوجه های گوشتی استان گیلان

لیلا اسدپور^{۱*}

^۱ استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، گروه دامپزشکی

چکیده

سابقه و هدف: ویروس برونشیت عفونی متعلق به خانواده کرونا ویریده عامل بیماری برونشیت عفونی ماکیان است. این بیماری به شدت واگیردار بوده و موجب تلفات بالا و خسارات اقتصادی گسترده در صنعت پرورش طیور می گردد. این مطالعه با هدف ارزیابی فراوانی سروتیپ های ویروس برونشیت عفونی در گله های گوشتی مرغداری های اطراف رشت انجام شد. **مواد و روش ها:** این مطالعه به صورت مقطعی - توصیفی بر روی نمونه های نای و ریه جوجه های گوشتی از ۵۰ گله مختلف از مرغداری های گوشتی اطراف شهرستان رشت انجام شد. در ابتدا نمونه های مثبت برونشیت عفونی با روش RT-PCR شناسایی شدند. سپس سروتیپ این جدایه ها با واکنش nested PCR اختصاصی تیپ های ماساچوست و ۷۹۳/B تعیین گردید. **یافته ها:** از ۵۰ نمونه مورد بررسی ۳۲ نمونه (۶۴٪) آلوده به برونشیت عفونی بودند. واکنش nested PCR نشان داد که ۱۰ مورد (۳۱/۲۵ درصد) از نمونه های مثبت برونشیت عفونی آلوده به سروتیپ ۷۹۳/B و ۲۲ نمونه (۶۸/۷۵ درصد) آلوده به سروتیپ ماساچوست بودند.

نتیجه گیری: واکنس H120 سروتیپ ماساچوست تنها محافظت نسبی در برابر سایر سروتیپ ها ایجاد می کند. حضور سروتیپ ۷۹۳/B در منطقه ضرورت وارد کردن این سروتیپ در ترکیب با سروتیپ ماساچوست در برنامه واکسیناسیون را به منظور ایجاد ایمنی مناسب در گله ها مشخص می نماید.

واژگان کلیدی: ویروس برونشیت عفونی، جوجه های گوشتی، nested PCR.

پذیرش برای چاپ: مرداد ماه ۹۳

دریافت مقاله: اردیبهشت ماه ۹۳

مقدمه

ویروس برونشیت عفونی در تمامی کشورهای که صنعت پرورش طیور متراکم دارند شایع می باشد. به طوری که بروز عفونت ناشی از آن در اکثر مناطق تا ۱۰۰ درصد نیز گزارش شده است. از آنجایی که این ویروس ها از طریق موتاسیون های نقطه ای و پدیده نوترکیبی ژنتیکی به فراوانی دچار تغییرات ژنتیکی و آنتی ژنیک می گردند و نیز با توجه به میزان محافظت متقاطع بین سویه های مختلف به درصد همولوژی ژنوم آنها (مخصوصاً ژن S)، واکسیناسیون علیه بیماری برونشیت عفونی موفقیت نسبی در بردارد (۲ و ۳). به

برونشیت عفونی ماکیان، بیماری حاد و به شدت واگیردار دستگاه های تنفس و ادراری تناسلی است که منجر به تلفات بالا در پرندگان مبتلا، کاهش تولید تخم و کاهش کیفیت تخم ها می گردد (۱ و ۲). ویروس عامل برونشیت عفونی متعلق به جنس کروناویروس از خانواده کروناویروس می باشد. ژنوم آن شامل یک مولکول RNA تک رشته با قطبیت مثبت به طول تقریبی ۲۷۶۰۰ نوکلئوتید است (۲). سروتیپ های مختلف

(* آدرس برای مکاتبه: رشت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد رشت، گروه دامپزشکی.

برونشیت عفونی در گله های گوشتی مرغداری های اطراف رشت بود.

مواد و روش ها

الف) جمع آوری نمونه: این مطالعه به صورت مقطعی- توصیفی بر روی نمونه های نای و ریه جوجه های گوشتی تازه تلف شده از ۵۰ گله مختلف از مرغداری های اطراف شهرستان رشت از مهر ۹۱ تا شهریور ۹۲ انجام شد. تمامی نمونه ها از جوجه های گوشتی که مشکوک به بیماری برونشیت عفونی و دارای علائمی مانند رال های تنفسی، سرفه و عطسه بودند جمع آوری شدند. نمونه ها در شرایط استریل و در مجاورت یخ به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

ب) آماده سازی نمونه ها: هموژنیزه کردن نمونه ها در شرایط استریل انجام گرفت. به گونه ای که سوسپانسیون ۱۰ درصد (W/V) در بافر تریپتوز فسفات با pH ۷-۷/۲ به دست آید (۵). از این سوسپانسیون در استخراج RNA استفاده گردید.

ج) استخراج اسید نوکلئیک ویروس: به منظور استخراج RNA از کیت High Pure Nucleic Acid Extraction (شرکت Roche، آلمان) مطابق با دستور العمل آن استفاده شد و RNA استخراج شده در ۷۰ - درجه سلیسیوس نگهداری گردید.

د) انجام روش RT-PCR: به منظور بررسی حضور ویروس برونشیت عفونی در نمونه ها از پرایمرهای اختصاصی تمام ویروس های برونشیت عفونی استفاده گردید (جدول ۱) (۸).

برای این منظور از کیت تجاری یک مرحله ای (شرکت Roche، آلمان) استفاده گردید. اسید نوکلئیک استخراج شده در واکنش RT-PCR با استفاده از پرایمر ژن *sI* اختصاصی گروه ویروس برونشیت عفونی، به عنوان الگو، مورد استفاده قرار گرفت. واکنش RT-PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱/۵ میکرولیتر DTT، ۰/۵ میکرولیتر dNTPs (۱۰ میلی مول)، ۵ میکرولیتر بافر آنزیم (10X)، ۲ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ پیکومول)، ۱/۵ میکرولیتر (۲ میکروگرم) RNA ویروس، ۰/۵ میکرولیتر (۲/۵ واحد) آنزیم RT و ۱۴ میکرولیتر آب مقطر انجام گرفت. سنتز cDNA در دمای ۴۵ درجه

طوری که با وجود واکسیناسیون گسترده، برونشیت عفونی به عنوان یک مشکل جدی در صنعت طیور باقی مانده است. تشخیص بیماری برونشیت عفونی بر اساس تاریخچه بیماری، علائم بالینی، ضایعات هیستوپاتولوژیک، افزایش تیتراژ آنتی بادی ضد IBV در سرم، ردیابی آنتی ژن های IBV، ردیابی RNA ویروس و جداسازی ویروس می باشد. روش هایی که در آنها تمام یا بخشی از ژنوم IBV شناسایی می گردد، در تشخیص ویروس برونشیت عفونی مورد استفاده قرار می گیرند. متداولترین این روش ها واکنش زنجیره ای پلی مراز- ترانس کریپتاز معکوس (RT-PCR) می باشد (۴). روش های مولکولی بر اساس واکنش RT-PCR و استفاده از پرایمرهای اختصاصی گروه و تیپ ویروس برونشیت عفونی، به طور گسترده در تشخیص عفونت ناشی از این ویروس مورد استفاده قرار می گیرد.

شیوع گسترده و اهمیت اقتصادی بیماری برونشیت عفونی موجب شده است که تحقیقات گسترده ای در سراسر دنیا در مورد ویروس عامل این بیماری و سروتیپ های مختلف آن انجام گیرد. در حال حاضر مهمترین سروتیپ ویروس که دارای انتشار جهانی است سویه ماساچوست می باشد. اما به تدریج در کشورهای مختلف سروتیپ های دیگر ویروس نیز شناسایی شده است. یکی از مهمترین آن ها سروتیپ ۷۹۳/B می باشد که به اسامی دیگری مانند ۹۱/۴ و IB88 نیز معروف است (۵).

در ایران برای اولین بار صیفی آباد شاپوری (Seify Abad Shapouri) و همکاران در سال ۲۰۰۲ به شناسایی مولکولی سروتیپ های ویروس برونشیت عفونی پرداختند. یافته های آنها حضور سروتیپ ۷۹۳/B را در ایران تایید نمود (۶). پس از آن سایر مطالعات، سروتیپ های ماساچوست و ۷۹۳/B را به عنوان سروتیپ های شایع برونشیت عفونی در کشور معرفی نمودند (۱۱-۵). در حال حاضر اطلاعات دقیقی در مورد وضعیت بیماری برونشیت عفونی در استان گیلان وجود ندارد.

هدف از این مطالعه ارزیابی فراوانی سروتیپ های ویروس

یک درصد واجد اتیدیوم برمایند منتقل و الکتروفورز گردید. از ویروس برونشیت عفونی سروتیپ H120 به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

یافته ها

از مجموع ۵۰ گله مشکوک به برونشیت عفونی، ۳۲ مورد (۶۴٪) آلوده به ویروس برونشیت عفونی بودند. این یافته با تکثیر قطعه حدود ۱۲۰۰ جفت بازی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی IBV اثبات گردید (شکل ۱). همچنین نتایج حاصل از nested PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تیپ نشان داد که ۳۱/۲۵٪ (۱۰ مورد) از نمونه های مثبت دارای سروتیپ ۷۹۳/B و ۶۸/۷۵٪ (۲۲ مورد) از نمونه ها دارای سروتیپ ماساچوست بودند (شکل ۲).

بحث

در پژوهش حاضر از نمونه های به دست آمده از ۵۰ گله جوجه گوشتی، تعداد ۳۲ نمونه (۶۴٪) آلوده به برونشیت عفونی بودند. همچنین ۳۱/۲۵ درصد جدایه ها متعلق به سروتیپ ۷۹۳/B و ۶۸/۷۵ درصد متعلق به سروتیپ ماساچوست بودند. این نتایج نشان می دهد که بر خلاف بسیاری از نقاط کشور (۷-۱۰) سروتیپ ماساچوست سویه غالب برونشیت عفونی در مرغداری های گوشتی اطراف رشت می باشد.

صیفی آباد شاپوری (Seifi Abad Shapouri) و همکاران در سال ۲۰۰۲ سروتیپ ۱۴ جدایه ویروس برونشیت عفونی را با روش multiplex RT-PCR تعیین نمودند. نتایج آنها نشان داد

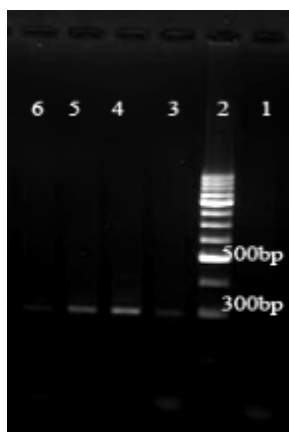
سیلیسیوس به مدت ۴۵ دقیقه انجام شد. در ادامه واکنش RT-PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf Master cycler Gradient, Germany) با شرایط دمایی ۲ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سیلیسیوس و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سیلیسیوس به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال در دمای ۴۸ درجه سیلیسیوس به مدت ۴۵ ثانیه، طویل شدن در دمای ۶۸ درجه سیلیسیوس به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۶۸ درجه سیلیسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد (۸). محصول PCR به ژل آگاروز ۱ درصد واجد اتیدیوم برمایند منتقل و الکتروفورز گردید.

ه) انجام روش nested-PCR: به منظور تعیین سروتیپ جدایه های برونشیت عفونی، نمونه های مثبت در واکنش RT-PCR به عنوان الگو در واکنش nested PCR مورد استفاده قرار گرفتند (۸). پرایمرهای اختصاصی سروتیپ های ماساچوست و ۷۹۳/B در جدول ۱ آورده شده است.

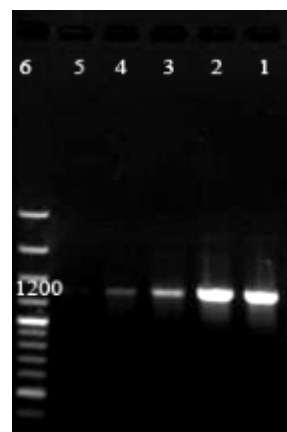
حجم واکنش و مقدار مواد مورد استفاده همانند مرحله قبل بود. واکنش nested PCR در دستگاه ترموسایکلر (Eppendorf Master cycler Gradient, Germany) با شرایط دمایی ۳ دقیقه واسرشت شدن ابتدایی در دمای ۹۴ درجه سیلیسیوس و در ادامه ۳۰ چرخه شامل واسرشت شدن در دمای ۹۴ درجه سیلیسیوس به مدت ۱ دقیقه، اتصال در دمای ۴۸ درجه سیلیسیوس به مدت ۱ دقیقه، طویل شدن در دمای ۷۲ درجه سیلیسیوس به مدت ۱ دقیقه و در نهایت طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه سیلیسیوس به مدت ۱۰ دقیقه انجام شد (۸). در نهایت محصول PCR nested به ژل آگاروز

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی سروتیپ های ویروس برونشیت عفونی.

طول قطعه (جفت باز)	توالی پرایمر ۳'-۵'	ژن
۱۲۰۰	F:5'- CCAAATTTGAAAACCTGAACA-3' R:5'- CCTCTATAAACACCCTTGCA-3'	ژن-SI ویروس برونشیت عفونی
۲۹۵	F:5'- CAGATTGCTTACAACCACC-3' 5'- AATACTACTTTTACGTTACAC-3'	ژن-SI (اختصاصی سروتیپ ماساچوست)
۹۷۲	F:5'- CAGATTGCTTACAACCACC-3' R:5'- AAGTGCCCTTAGGCCTGG-3'	ژن-SI (اختصاصی سروتیپ ۷۹۳/B)



شکل ۲: الکتروفورز حاصل از تکثیر ژن *sI* اختصاصی سروتیپ های ویروس برونشیت عفونی با روش nested-PCR. ستون ۱) کنترل منفی، ستون ۲) مارکر (۱۰۰ جفت بازی)، ستون ۳) کنترل مثبت (ویروس برونشیت عفونی سروتیپ H120)، ستون های ۴-۶) نمونه های مثبت سروتیپ ماساچوست ویروس برونشیت عفونی (تکثیر قطعه ۲۹۵ جفت بازی).



شکل ۱: الکتروفورز حاصل از تکثیر ژن *sI* اختصاصی ویروس برونشیت عفونی با روش RT-PCR. ستون ۱) کنترل مثبت (ویروس برونشیت عفونی سروتیپ H120)، ستون های ۲-۵) نمونه های مثبت ویروس برونشیت عفونی (تکثیر قطعه ۱۲۰۰ جفت بازی)، ستون ۶) مارکر (۱۰۰ جفت بازی).

تا ۲۰۰۸ از نمونه های نای و ریه جوجه های گوشتی با علائم بالینی مشکوک به برونشیت عفونی جدا شده بودند مورد بررسی فیلوژنی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که جدایه متعلق به سروتیپ ماساچوست و ۷ جدایه متعلق به سروتیپ ۴/۹۱ بوده است (۹).

پورباقی (Porbaghi) و همکاران در سال ۲۰۱۱ فراوانی برونشیت عفونی و سروتیپ های شایع آن را در ۳۲ گله جوجه های گوشتی با علائم بالینی مشکوک به برونشیت عفونی در استان فارس را با روش RT-PCR و nested PCR اختصاصی تیپ بررسی نمودند. یافته های آنها نشان دهنده شیوع ۷۲ درصدی برونشیت عفونی بود. ۷۴/۹ درصد گله ها آلوده به سروتیپ ۴/۹۱ و ۲۱/۸ درصد آلوده به سروتیپ ماساچوست بوده اند. همچنین سروتیپ ویروس در ۷ گله ناشناخته باقی ماند (۱۰).

روزر (Roser) و همکاران در سال ۲۰۰۸ با بررسی مولکولی ژن *sI* در ۲۶ جدایه ویروس برونشیت عفونی که در مدت ۱۵ سال در اسپانیا جدا شده بودند، ۴ ژنوتیپ مختلف این ویروس را شناسایی نمودند. همچنین نتایج این بررسی نشان داد که سروتیپ غالب در منطقه از ۴/۹۱ به Italy 02 تغییر یافته

۱۲ جدایه متعلق به سروتیپ ماساچوست و ۲ جدایه متعلق به سروتیپ ۴/۹۱ بوده اند (۶). نوری (Noori) و همکاران در سال ۲۰۰۳ سوآب نایی ۳۰ جوجه گوشتی مرغداری های استان فارس را در سنین ۷-۸ هفتگی از نظر آلودگی به ویروس برونشیت عفونی با روش RT-PCR بررسی و سروتیپ نمونه های مثبت را به روش multiplex RT-PCR با استفاده از پرایمر های اختصاصی تیپ تعیین نمودند. در این بررسی ۱۶ مورد (۹۴ درصد) سروتیپ ۴/۹۱ و ۱ مورد سروتیپ ماساچوست گزارش گردید (۷).

شوشتاری (Shooshtari) و همکاران در سال ۲۰۰۸ میزان شیوع ویروس برونشیت عفونی در کمپلکس تنفسی ماکیان را در استان های تهران، قزوین، آذربایجان، مرکزی، خراسان، اصفهان، فارس، کرمانشاه، لرستان، خوزستان، همدان و سمنان بررسی نمودند. از ۱۰۸ نمونه مثبت برونشیت عفونی ۵۲/۷۲ درصد آلوده به سروتیپ ۷۹۳/B، ۱۶/۶ درصد آلوده به سروتیپ ماساچوست و ۳۰/۵ درصد پرندگان هم زمان آلوده به هر دو سروتیپ ۷۹۳/B و ماساچوست بوده اند (۸).

قهرمانی (Ghahramani) و همکاران در سال ۲۰۱۱ تعداد ۱۰ جدایه ویروس برونشیت عفونی را که در سال های ۱۹۹۸

ماساچوست در اول دوره و متعاقب آن واکسیناسیون با ۴/۹۱ سطح ایمنی بهتری نسبت به تجویز هم زمان این دو نوع واکسن یا تجویز ۴/۹۱ قبل از ماساچوست ایجاد می کند (۱۴ و ۱۵).

حضور احتمالی سویه فیلدی ماساچوست در گله های واکسینه شده با H120 در پژوهش حاضر، می تواند بیانگر اهمیت عوامل دیگر موثر در شکست یک برنامه واکسیناسیون مانند حضور پادتن های مادری، بیماری های تضعیف کننده سیستم ایمنی (مثل گامبورو، مارک و کم خونی عفونی جوجه ها)، حمل و نقل و آماده سازی نادرست واکسن و تجویز نامناسب واکسن باشد.

نتیجه گیری

با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر و حضور سروتیپ ۷۹۳/B در منطقه ضرورت استفاده متداول از واکسن ۴/۹۱ همراه با واکسن ماساچوست در برنامه واکسیناسیون برای ایجاد ایمنی مناسب در گله ها مشخص می گردد. همچنین با توجه به تاثیرگذاری فاکتور های انسانی بر پیامد یک برنامه واکسیناسیون به نظر می رسد که اجرای برنامه هایی در جهت آموزش تمامی افراد دست اندر کار در امر واکسیناسیون گله های طیور، می تواند عامل مهمی در کاهش شکست واکسیناسیون و ضرر های اقتصادی وارده بر صنعت طیور در استان گیلان باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از دانشگاه آزاد اسلامی واحد رشت به دلیل حمایت مالی و همکاری صمیمانه در اجرای این پژوهش کمال امتنان را دارند.

است (۱۱). یوروس (Uros) و همکاران در سال ۲۰۱۰ تعداد ۱۴ جدایه ویروس برونشیت عفونی را از جوجه های گوشتی، مادر گوشتی و تخمگذار در سال های ۲۰۰۷ و ۲۰۰۹ با روش RT-PCR و توالی ژن *sI* جداسازی و مورد بررسی قرار دادند. از این میان، ۷ سروتیپ در ژنوتیپ Italy 02 و ۷ سروتیپ در ژنوتیپ QX طبقه بندی گردید (۱۲). هان (Han) و همکاران در سال ۲۰۱۱ با بررسی مولکولی ژن *sI* در ۴۶ جدایه ویروس برونشیت عفونی و ۱۴۷ سویه رفرانس جداسازی شده در مدت ۱۵ سال در چین، ۹ تیپ مختلف این ویروس را شناسایی کردند. یافته های آنها نشان داد که واکسن مرسوم ماساچوست H120 قادر به ایجاد محافظت علیه این سویه ها نبوده و لازم است واکسن جدیدی از سویه های محلی تهیه گردد (۱۳).

در کشور ما استفاده از واکسن زنده ماساچوست به صورت اسپری و محلول در آب آشامیدنی در واکسیناسیون گله های گوشتی متداول است. اما واکسن زنده ۴/۹۱ تنها در برخی از گله ها استفاده می شود. در مورد عوامل بیماریزایی که سروتیپ های متعدد، مانند ویروس برونشیت عفونی، دارند متفاوت بودن سروتیپ ویروس موجود در واکسن با سروتیپ ویروس موجود در فارم، یکی از عوامل شکست واکسیناسیون است. کوک (Cook) و همکاران در سال های ۱۹۹۹ و ۲۰۰۱ نشان دادند که تجویز واکسن ماساچوست به تنهایی قادر به حفاظت جوجه های ۵ هفته ای در برابر چالش با سروتیپ های مختلف ویروس برونشیت عفونی نبوده است. در حالی که ترکیبی از واکسن ماساچوست و ۴/۹۱، حفاظت علیه بسیاری از سروتیپ های مهم ویروس ایجاد کرده است. یافته های آنها نشان داد که تجویز واکسن

References

1. Boltz D A, Nakai M, Bahr GM. Avian Infectious Bronchitis Virus: a possible cause of reduced fertility in the rooster. Avian Dis. 2004; 48(4): 909-915.
2. Cavanagh D. Coronavirus avian Infectious Bronchitis Virus. Vet Res. 2007; 38(2): 281-297.

3. Ignjatovic J, Sapats S. Avian Infectious Bronchitis Virus. *Rev Sci Int Epiz.* 2000; 19(2): 493-508.
4. De Wit J J. Detection of infectious bronchitis. *Avian Pathol.* 2000; 29: 71-93.
5. Hosseini Aliabadi AO, Momayez R, Mahmoudzadeh M, Yousefi Amini A. Detection of 793/B serotype in broiler chicken flocks with respiratory out breaks in west of Mazandaran. *J Vet Clin Res.* 2013; 4(2): 91-97. [In Persian]
6. Seify Abad Shapouri MR, Mayah M, Charkhkar S, Assasi K. Serotype identification of recent Iranian isolates of Infectious Bronchitis Virus by type-specific multiplex RT-PCR. *Arch Razi Inst.* 2002; 53: 79-85.
7. Nouri A, Assasi K, Seyfi-Abad Shapouri MR. Field study of Infectious Bronchitis Virus in broiler using type-specific RT-PCR. *Arch Razi Inst.* 2003; 55: 1-10.
8. Shoushtari AH, Toroghi R, Momayez R, Pourbakhsh SA. 793/B type the predominant circulating type of avian Infectious Bronchitis Viruses 1999-2004 in Iran: a retrospective study. *Arch Razi Inst.* 2008; 63(1): 1-5.
9. Ghahremani N, Bozorgmehri Fard MH, Shoushtari H, Momayez R, Sheikhi N, Khoshzahmat A, Eshraty F. Molecular analysis of Infectious Bronchitis Virus isolated in Iran from 1998-2008. *J Anim Vet Adv.* 2011; 10: 2961-2967.
10. Poorbaghi SL, Mohammadi A, Asasi K. Molecular detection of avian Infectious Bronchitis Virus serotypes from clinically suspected broiler chicken flocks in Fars province of Iran. *Pak Vet J.* 2012; 32(1): 93-96.
11. Roser D, Pujols J, Ordonez G, Porta R, Majo N. Molecular epidemiology and evolution of avian infectious bronchitis virus in Spain over a fourteen-year period. *Virology.* 2008; 374: 1: 50-59.
12. Uros K, Slavec B, Zorman Rojs O. Circulation of Infectious Bronchitis Virus strains from Italy 02 and QX Genotypes in Slovenia between 2007 and 2009. *Avian Dis.* 2010; 34: 327-338.
13. Han Z, Sun C, Yan B, Zhang X, Wang Y, Li C, Zhang Q, Ma Y, Shao Y, Liu Q, Kong X, Liu S. A 15-year analysis of molecular epidemiology of avian Infectious Bronchitis Coronavirus in China. *Infect Genet Evol.* 2011; 11(1): 190-200.
14. Cook JKA, Orbell SY, Woods MA, Huggings MB. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with Infectious Bronchitis Virus of heterologous serotypes. *Avian Pathol.* 1999; 28: 477-485.
15. Cook JKA, Ashesher J, Baxendal W, Green Wood N, Huggins MB, Orbell SJ. Protection of chickens against renal damage caused by a nephropathogenic Infectious Bronchitis Virus. *Avian Pathol.* 2001; 30: 423-425.



Molecular identification of avian infectious bronchitis virus serotypes of broiler chicken in Gilan province

Leila Asadpour¹

¹Assistant Professor, Department of Veterinary Science, Islamic Azad University, Rasht branch, Rasht, Iran.

Abstract

Background & Objectives: Infectious bronchitis virus (IBV) is the prototype of the family Coronaviridae, which is the causative agent of infectious bronchitis (IB). This disease is highly contagious, which causes massive damages to the poultry industry. This study aimed to investigate the prevalence of IBV serotypes of broiler chicken in Gilan Province.

Materials & Methods: This cross-sectional study was carried out on trachea and lung tissue samples collected from 50 broiler chicken flocks in Gilan province. First, the IBV positive samples were identified by RT-PCR. Thereafter, The serotypes of these isolates was determined by Nested-PCR reaction specified for Massachusetts and B/793 serotypes.

Results: Overall 32 out of 50 (64%) poultry chicken flocks were infected to IBV. Specific nested PCR on IBV positive RT-PCR products revealed that 10 (31.25%) of IBV positive samples were infected by 793/B type and 22 (68.75) were identified as Massachusetts type.

Conclusion: Massachusetts type vaccines such as H120 are only partially effective against other serotypes of virus. Because of the presence of 793/B type of virus in Gilan poultry farms, the addition of this strain in combination with Massachusetts strain seems necessary to stimulate better protective immunity.

Keywords: Infectious bronchitis virus, Broiler chicken, Nested PCR.

Correspondence to: Leila Asadpour

Tel: +989113383860

E-mail: asadpour@iaurasht.ac.ir

Journal of Microbial World 2015, 7(4): 275-281.