JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره دوازدهم، شماره اول، ۱۳۹۵، پیاپی ۳۲: ۲۷-۲۱

تشخیص مولکولی سروتیپ B/793 ویروس برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی اطراف شیراز

محمد جواد مهربانپور[۱]*، شیرین عمادی[۲]

۱- استادیار بخش ویروس شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی جنوب کشور، شیراز، ایران

۲- دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم، جهرم، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳ بهمن ۱۳۹۳ تاریخ پذیرش: ۴ مهر ۱۳۹۴

چکیده: *بیماری برونشیت عفونی ماکیان، یک بیماری حاّد و به شدت واگیر دستگاه تنفسی و ادراری- تناسلی می‌باشد که منجر به تلفات و خسارات سنگین به صنعت طیور کشور می‌گردد. به منظور بررسی بیماری برونشیت در گله‌های گوشتی مرغداری‌های دارای علائم تنفسی اطراف شیراز، از ۳۰ واحد مرغداری گوشتی مختلف، نمونه‌های بافت نای و ریه از جوجه‌ها اخذ و با رعایت زنجیره سرما به آزمایشگاه منتقل شد. پس از آماده‌سازی و تزریق نمونه‌ها به تخم مرغ جنین دار SPF، با استفاده از تست هماگلوتیناسیون برای ویروس‌های نیوکاسل و آنفلوانزا ارزیابی شدند. RNA ویروس با استفاده کیت تخلیص RNA از مایع آلانتوئیک استخراج شد و با استفاده از پرایمر عمومی، ویروس برونشیت عفونی به روش RT-PCR مورد بررسی قرار گرفت و سپس با استفاده از پرایمرهای اختصاصی و با روش nested-PCR سروتیپ ماساچوست و B/793 شناسایی گردیدند. از مجموع نمونه‌های ۳۰ واحد مرغداری بررسی شده در این مطالعه، ۶ واحد آن آلوده به برونشیت عفونی طیور بود که در واکنش nested-PCR، ۴ مورد از نظر سروتیپ B/793 مثبت بودند. در واحدهای مورد بررسی واکسن B/793 مصرف نشده بود. لذا با توجه به حضور سروتیپ B/793 در مرغداری‌های گوشتی، استفاده از واکسن این سروتیپ لازم به نظر می‌رسد.*

کلمات کلیدی: *برونشیت عفونی طیور، جوجه گوشتی، RT-PCR، Nested- PCR*

* نویسنده مسئول: محمد جواد مهربانپور

آدرس: موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی جنوب کشور، بلوار میرزای شیرازی، شیراز. تلفن: ۰۷۱۳۶۲۴۰۳۳۲ و ۰۹۱۷۳۱۱۱۹۲۴

پست الکترونیک: m.mehrabanpour@rvsri.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

ویروس‌های نیوکاسل، آنفلوانزا و برونشیت از ویروس‌های عامل بیماری کمپلکس تنفسی در پرندگان می باشند که هرساله با ایجاد بیماری در سطح مرغداری‌های صنعتی خسارات اقتصادی زیادی ایجاد می کنند. ویروس بیماری برونشیت عفونی از خانواده کروناویروس می باشد که ژنوم آن بصورت RNA تک رشته ای است. برونشیت عفونی ماکیان یک بیماری حاد سیستم تنفسی و ادراری- تناسلی بوده و فوق العاده مسری می باشد. این بیماری در جوجه‌ها با علامت رال‌های تنفسی، سرفه و عطسه مشخص می شود. برخی سروتیپ‌های ویرس نفروتروپ بوده و باعث صدمات کلیوی در جوجه‌ها می شود (۱۲،۱۱).

این ویروس دارای سروتیپ‌های مختلف بوده که در سراسر جهان منتشر هستند. به طوری که تاکنون بیش از ۲۰ سروتیپ از این ویروس در کشورهایی که صنعت طیور متراکم دارند در دنیا گزارش شده است (۵). ایجاد این سروتیپ‌ها در اثر موتاسیون یا نوترکیبی ژنی بین سروتیپ‌های مختلف ویروس ایجاد می شود. غالباً واکسیناسیون طیور با یک سروتیپ، ایمنی متقاطع در قبال سایر سروتیپ‌ها را ایجاد نمی نماید. یکی از پروتئین‌های مؤثر در ایجاد سروتیپ‌های ویروس، پروتئین S بوده که از دو زیرواحد S1 و S2 تشکیل شده است. S1پروتئین اصلی ایجادکننده آنتی بادی محافظت‌کننده می باشد. در این زیرواحد ۳ ناحیه ثابت، متغیر و بسیار متغیر وجود دارد که بر این اساس، سروتیپ‌های مختلف ویروس طبقه بندی می شود (۶).

در سال‌های اخیر سروتیپ‌های زیادی از برونشیت در مناطق مختلف جهان شناسایی شده‌اند که سویه ماساچوست مهمترین سویه ویروس دارای انتشاری جهانی می باشد. همچنین سویه B/793 (4/91, HB88) نیز که در سال ۱۹۹۱ در بریتانیا شناسایی شد نیز از سروتیپ‌های مهم ویروس به شمار می آید که در مناطق مختلف ایجاد بیماری در مرغداری کرده است. با وجود برنامه واکسیناسیون بر علیه ویروس برونشیت، باز هم شاهد درگیری گله‌های مرغداری با سویه‌های مختلف برونشیت هستیم. تنوع سروتیپ‌های ویروس و عدم وجود ایمنی متقاطع بین آن‌ها از دلایل کارآمدی کم واکسیناسیون می باشد. به همین دلیل تشخیص و جدا کردن عامل بیماری و تعیین سروتیپ عامل بیماریزا در هر منطقه در استفاده از نوع واکسن مصرفی در اکثر موارد تاثیر بسزایی دارد. امروزه در مرغداری‌ها، واکسن‌های مصرفی در صورتی می توانند در پیشگیری موثر باشد که حاوی همان سروتیپ منطقه واکسیناسیون باشند. پژوهش حاضر به منظور بررسی میزان شیوع ویروس برونشیت عفونی در گله‌های مرغ‌های گوشتی دارای علائم تنفسی در مرغداری‌های اطراف شیراز صورت گرفته است.

روش کار

نمونه گیری و آماده سازی نمونه‌ها

در بررسی حاضر با مراجعه به سی واحد مرغداری مشکوک به بیماری برونشیت در نقاط مختلف اطراف شیراز که دارای علائم تنفسی بودند، از جوجه‌های بیمار تعداد ۴۰۰ نمونه نای و ریه اخذ شد. نمونه‌ها را پس از گذاشتن در محیط PBS-BSA حاوی آنتی بیوتیک‌های پنی سیلین (1000 IU/ml)، جنتامایسین (250 mg/lit) و استرپتومایسین (1000 IU/ml) با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل شد (۱۳). نمونه‌های تهیه شده از هر مرغداری با هم مخلوط گردید. بافت‌های نای و ریه جوجه‌ها، بطور مجزا درهاون چینی استریل تحت شرایط استریل هموژن گردید به طوری که سوسپانسیون ۱۰٪ در بافر تریپتوز فسفات بدست آمد. سوسپانسیون

Archive of SID

www.SID.ir

تهیه شده، پس از فیلتر کردن با فیلتر ۰/۲۲ میکرون، برای تزریق به تخم مرغ‌های عاری از پاتوژن (SPF) جنین دار ۱۱-۹ روزه آماده گردید.

تزریق نمونه‌های آماده شده به تخم مرغ جنین دار

از هر نمونه نای آماده شده مربوط به هر مرغداری به میزان ۰/۲ میلی لیتر به ۵ تخم مرغ عاری از پاتوژن (SPF) جنین دار ۱۱-۹ تلقیح شد و به مدت ۹۶ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد و رطوبت ۷۰٪ انکوبه شدند. پس از گذشت زمان انکوباسیون، جنین‌های مرده، از نظر کوتولگی، پرخون بودن جنین و وجود رسوب اورات در کلیه‌ها مورد بررسی قرار گرفت. از مایع آلانتوئیک تخم مرغ‌ها برداشت شد و تا ۴ پاساژ به تخم مرغ‌های جنین دار SPF تلقیح گردید.

انجام تست هماگلوتیناسیون (HA) و ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)

برای پی بردن به وجود ویروس‌های نیوکاسل و آنفلوانزا در نمونه‌ها، برای نمونه‌های برداشت شده تست هماگلوتیناسیون مستقیم انجام شد که در صورت مثبت بودن تست‌ها، نسبت به انجام تست ممانعت از هماگلوتیناسیون با استفاده از آنتی سرم‌های استاندار نیوکاسل و آنفلوانزا اقدام شد.

استخراج RNA

برای استخراج RNA ویروس، از کیت Vetek viral RNA extraction kit (شرکت Intron biotechnology) کشور کره، مطابق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید. RNA استخراج شده را تا زمان استفاده در دمای ۷۰- درجه سانتیگراد نگهداری شد.

آزمایش RT-PCR برای تشخیص ویروس برونشیت

تست RT-PCR بصورت یک مرحله ای جهت تکثیر قطعه 350 bp ژن S1 ویروس برونشیت با استفاده از پرایمرهای عمومی Dell، برای تمامی نمونه‌های مشکوک انجام گردید.

Dell R: 5-CATTTCCCTGGCGATAGAC-3
Dell F: 5-GAGAGGAACAATGCACAGC-3

برنامه دمایی مورد استفاده جهت تکثیر ژن S_1 عبارت بود از: یک سیکل ۴۵ درجه سانتیگراد ۳۰ دقیقه، یک سیکل ۹۴ درجه سانتیگراد ۳ دقیقه، ۳۴ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتیگراد ۳۰ ثانیه، ۵۵ درجه سانتیگراد ۳۰ ثانیه و ۷۲ درجه سانتیگراد ۳۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتیگراد ۱۰ دقیقه.

تست Nested -PCR برای تشخیص سویه‌های ماساچوست و 4/91 برونشیت

به منظور انجام این تست از یک پرایمر عمومی XCE3 به همراه پرایمر اختصاصی BCE1 برای تکثیر قطعه 154bp ژن S1 سویه B/793 (4/91) و پرایمر اختصاصی MCE1 برای تکثیر قطعه 295bp ژن S1 سویه ماساچوست بر اساس برنامه دمایی برای تمامی نمونه‌های مشکوک انجام گردید.

XCE3: 5-CAGATTGCTTACAACCAC-3
BCE1: 5-AGTAGTTTTTGTGTATAAACCA-3
MCE1: 5-AATACTACTTTTACGTTACAC-3

برنامه دمایی Nested PCR عبارت بود از: یک سیکل ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۵ دقیقه، ۲۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ ثانیه، ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۳۵ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۴ دقیقه.

نتایج

از مجموع نمونه‌های اخذ شده از ۳۰ واحد مرغداری دارای علائم تنفسی در اطراف شیراز، پس از

Archive of SID

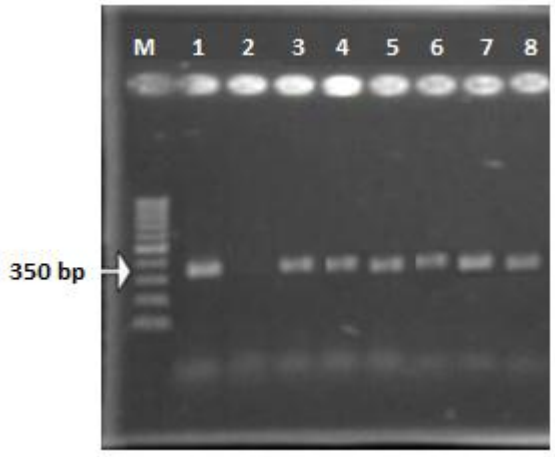
www.SID.ir

انجام تست RT-PCR با استفاده از پرایمر عمومی، تعداد ۶ نمونه از برونشیت عفونی مثبت شدند (تصویر شماره۱).

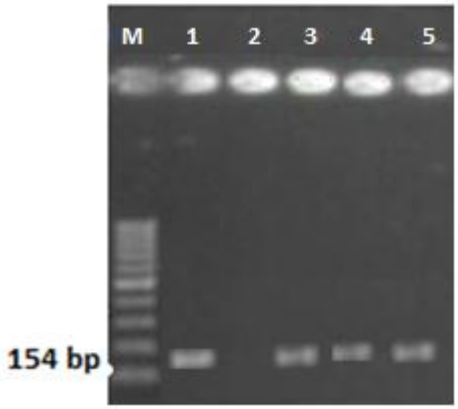
در واکنش Nested-PCR نیز از بین ۶ نمونه مثبت برونشیت، ۴ نمونه از نظر سویه 4/91 و ۲ نمونه از نظر سویه ماساچوست مثبت بودند (تصویر شماره ۲).

با عنایت به اینکه در گله‌های مبتلا واکسن 4/91 استفاده نشده بود، همه موارد آلودگی به ویروس ذکر شده مثبت واقعی تلقی می شود ولی در خصوص سویه ماساچوست، با توجه به مصرف واکسن سویه مذکور (H120) در مرغداری‌ها، می بایست از طریق بررسی ملکولی و تعیین توالی نوکلئوتیدی، ویروس واکسینال از بیماریزا تفکیک گردد.

نتایج بدست آمده نشان می دهد که از بین ۳۰ مزرعه پرورشی مورد استفاده در این مطالعه ۶ مورد از نظر برونشیت مثبت بودند (۲۰٪ کل نمونه‌ها) که از این بین ۱۳/۳ ٪ مربوط به سویه 4/91 و حدود ۷٪ باقیمانده مربوط به سویه ماساچوست بوده است.



تصویر ۱ : الکتروفورز محصولات RT-PCR ویروس‌های برونشیت با استفاده از پرایمر عمومی
M: مارکر 100 bp، ستون ۱: کنترل مثبت، ستون ۲: کنترل منفی، ستون ۸-۳: نمونه‌های مثبت از برونشیت عفونی



تصویر۲: الکتروفورز محصولات Nested -PCR ویروس‌های برونشیت با استفاده از پرایمر اختصاصی سروتیپ 4/91
M: مارکر 100 bp، ستون ۱: کنترل مثبت، ستون۲: کنترل منفی، ستون ۳، ۴ و ۵: نمونه‌های مثبت 4/91

بحث و نتیجه گیری

بیماری‌های برونشیت عفونی در مرغداری‌های ایران همواره خسارات قابل توجهی ایجاد می کند و به همین جهت از اهمیت اقتصادی بسیار زیادی برخوردار می باشد. از طرفی با توجه به تنوع سروتیپ‌های ویروس برونشیت عفونی طیور و واکنش ایمنی بسیار اندک بین سویه‌های مختلف این ویروس عملا واکسیناسیون با یک سویه خاص امکان پیشگیری از وقوع بیماری با سویه‌های دیگر را میسر نمی سازد. لذا شناسائی دقیق سروتیپ‌های ویروس در برنامه ریزی کنترل و پیشگیری از بیماری از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد. در تحقیقات انجام شده توسط ممیز و همکاران نشان داده شد که برخی از سویه‌های ویروس برونشیت موجود در ایران با آنتی سرم اختصاصی ویروس سروتیپ ماساچوست خنثی نمی شود که این امر می تواند نشانگر وجود سروتیپ‌های دیگر باشد (۱۳). مطالعات قهرمانی و همکاران حاکی از آن است که از ۱۰ نمونه جدایه ویروس برونشیت عفونی که از گله‌های گوشتی جدا شده بود ۳ نمونه سروتیپ ماساچوست و ۷ نمونه سروتیپ ۴/۹۱ شناسایی شد (۱۰). مطالعات دیگر که توسط اکبری آزاد توسط روش مولکولی انجام شده

Archive of SID

www.SID.ir

برروی ۲۰ جدایه از ویروس برونشیت عفونی طیور گزارش کرد که ۱۱ جدایه متعلق به سروتیپ B/793 و ۹ جدایه از H120 بودند (۳).

تحقیقات انجام شده در ایران توسط دیگر محققان از جمله طرفی نشان داد که سروتیپ B/793 از دیگر سروتیپ‌ها در ایجاد بیماری مهمتر است. همچنین تحقیقات حسینی (۱۳۹۲) روی مرغداری‌های گوشتی در مازندران نشان داد که از مجموع ۱۱ واحد مورد بررسی ۷ مورد دارای برونشیت عفونی و ۵ مورد از این تعداد از نظر سروتیپ B/793 مثبت قلمداد شدند.

علیرغم اینکه طبق تحقیقات بزرگمهری فرد (۱۳۶۴) سروتیپ ویروس برونشیت عفونی طیور در ایران از نوع ماساچوست گزارش شده است اما پس از آن (۱۳۸۳) گزارشی متعدد از وجود سویه ۴/۹۱ ذکر گردیده است (۴ و ۱۴). در حال حاضر یکی از قطعی ترین روش‌های تشخیص عفونت برونشیت عفونی، آزمایش RT-PCR است (۲ و ۱۴). حساسیت و سرعت عمل این آزمایش، این امکان را فراهم می کند که بتوان به سرعت عامل بیماری را تشخیص داد و سروتیپ ویروس را نیز تعیین کرد. بر همین اساس تحقیقات گسترده ای در مورد شناسایی این ویروس و سروتیپ‌های آن با روش‌های ملکولی صورت گرفته است. اکبری و همکاران در سال ۱۳۸۳ با استفاده از روش PCR-RFLP جدایه‌های ویروس برونشیت که از مرغداری‌های گوشتی در ایران جدا شده بودند و مقایسه آن‌ها با سویه‌های رفرانس، سویه B/793 شناسایی کرد (۳).

شوشتری و همکاران (۱۹۸۷) میزان شیوع ویروس برونشیت عفونی را در ماکیان چندین استان کشور بررسی کردند که ۵۲/۷٪ از نمونه‌ها سروتیپ B/793 و ۱۶/۶٪ نمونه‌ها سروتیپ ماساچوست و ۳۰/۵٪ از نمونه‌ها همزمان به هر دو سروتیپ B/793 و ماساچوست آلوده بودند (۱۵). یوروس و همکاران، ۱۴ جدایه از ویروس برونشیت عفونی جداشده از گله‌های مختلف طیور را در طول ۲ سال با روش ملکولی مورد بررسی قرار داد بطوری که ۷ سروتیپ در ژنوتیپ QX و ۷ سروتیپ در ژنوتیپ Italy 02 قرار داشت (۱۲). در تحقیقات حاضر بیشترین میزان آلودگی ویروس مربوط به ویروس برونشیت عفونی سروتیپ B/793 بوده است. مطالعات پورباقی و همکاران (۲۰۱۱) در جوجه‌های گوشتی استان فارس در خصوص سروتیپ‌های برونشیت عفونی انجام دادند نشان داد که میزان آلودگی به سروتیپ 4/91 به مراتب بیشتر از سروتیپ ماساچوست بوده است که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. بنابراین می توان گفت که آلودگی با این سروتیپ قطعی بوده است. اگر چه مطالعات مختلف، گزارشات متعددی از مناطق مختلف ایران در خصوص سروتیپ‌های رایج برونشیت عفونی گزارش داده‌اند (۱، ۱۰، ۱۴ و ۱۵) به طوری که بعضی مناطق، سروتیپ رایج را ماسوچوست گزارش کردند (۴). استفاده از واکسن ماساچوست درمرغداری‌ها به تنهایی توانایی ایجاد ایمنی بر علیه سایر سروتیپ‌های مختلف ویروس برونشیت عفونی نمی باشد (۷ و ۸). لذا با توجه به یافته‌های این پژوهش، استفاده توام واکسن ۴/۹۱ و واکسن ماساچوست ضروری به نظر می رسد. از طرفی تحقیقات دیگر نشان داده است که استفاده از واکسن ماساچوست در ابتدا و همینطور واکسن ۴/۹۱ دریک دوره مرغداری می تواند ایمنی بهتری نسبت به تجویز همزمان دو واکسن داشته باشد. (۷ و ۸).

براساس یافته‌های حاصل از این مطالعه می توان نتیجه گرفت که ویروس برونشیت در مرغداری‌های گوشتی اطراف شیراز نقش بسیار مهمی در عفونت‌های تنفسی دارد، از طرفی تشخیص سروتیپ یا سروتیپ‌های

Archive of SID

www.SID.ir

غالب در یک منطقه می تواند در انتخاب نوع واکسن مناسب نقش بسزایی داشته باشد. لیکن با توجه به جداسازی ویروس برونشیت عفونی از فارم‌های گوشتی بنظر می‌رسد سیاست واکسیناسیون بایستی سراسری بوده و این امر می‌تواند از شیوع بیماری و ایجاد تلفات در مرغداری‌ها جلوگیری کند.

منابع

۱. اکبری آزاد، گ.، وصفی مرندی، م.، کیوانی، ح. (۱۳۸۳). *جداسازی و شناسایی مولکولی ویروس‌های برونشیت عفونی طیور در مرغداری‌های صنعتی ایران*. *مجله تحقیقات دامپزشکی دانشگاه تهران*، جلد ۵۹، شماره۳، صفحات ۲۶۴-۲۵۹.

2. Adzhar, A., Gough, R.E., Haydon, D., Shaw, K., Britton, P., Cavanagh, D. (1997). Molecular analysis of the 793/B serotype of infectious bronchitis virus in Great Britain. *Avian Pathology* **26**: 625-40.
3. Akbari Azad, G., Vasfi Marandi, M., Kayvani, A.H. (2005). Detection and molecular characterization of infectious bronchitis viruses by RT-PCR/RFLP and sequencing. *Proceeding of the 14 th World Veterinary Poultry Congress.* Istanbul,Turkey.
4. Bozorgmehrifard, M.H. (1985). *Poultry Diseases, Nutritional disorders, Bacterial and Viral Infectious Diseases*, First edition, Jahad Daneshgahi Publications, Tehran, Iran: 333-46.
5. Calvin, L., Keeler, Jr., Karen, L., Reed, W., Nix, A., Gelb, J.Jr. (1998). Serotype identification of avian infectious bronchitis virus by RT-PCR of the peplomer (S-1) gene. *Avian Diseases* **42**: 275-84.
6. Cavanagh, D., Gelb, J.J. (2008). *Infectious Bronchitis* In: Saif, Y.M., Barns, H.J., Fadly, A.M., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Swayne, D.E. (ED). *Diseases of Poultry*, 12th edition, Iowa State University Press: Iowa: 117-35.
7. Cook, J.K.A., Ashesher, J., Baxendal, W., Green Wood, N., Huggins, M. B., Orbell, S.J. (2001). Protection of chickens against renal damage caused by a nephropathogenic infectious bronchitis virus. *Avian Pathology* **30**: 423-5.
8. Cook, J.K.A., Orbell, S.Y., Woods, M.A., Huggings, M.B. (1999). Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challeng with infectious bronchitis virus of heterologous serotypes. *Avian Pathology* **28**: 477-85.
9. Jackwood, M.W., Kwon, H.M., Hilt, D. (1992). Infections bronchitis virus detection in allantoic fluid using the polymerase chain reaction and a DNA prob. *Avian Diseases* **36**: 403-9.
10. Ghahremani, N., Bozorgmehrifard, M.H., Shoushtari, H., Momayez, R., Sheikhi, N., Khoshzahmat, A., Eshratabadi, F. (2011). Molecular analysis of infectious bronchitis virus isolated in Iran from 1998-2008. *Journal of Animal and Veterinary Advances* **10**: 2961-67.
11. King, D.J., Cavanagh, D. (1991). *Infection bronchitis* In: Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., Reid, W.M., Yoder, H.W. (ED). *Disease of poultry*, 9th edition, Ames, IA: Iowa State University Press: 471-84.
12. Mc Dougall, J.S. (1968). Infectious bronchitis in laying fowls. Its effect upon egg production and subsequent egg quality. *Veterinary Records* **83**: 84-6.
13. Momayes, R., Pourbakhsh, S.A., Khodashenas, M., Banani, M. (2002). Isolation and identification of infections bronchitis virus from commercial chickens. *Archives of Razi Institute* **53**: 1-10.
14. Nouri, A., Assasi, K., Seyfi-abad Shapouri, M.R. (2003). Field study of infectious bronchitis virus in broiler using type-specific RT-PCR. *Archives of Razi Institute* **55**: 1-9.
15. Shoushtari, A.H., Toroghi, R., Momayez, R., Pourbakhsh, S.A. (2008). 793/B type the predominant circulating type of avian infectious bronchitis viruses 1999-2004 in Iran: a retrospective study. *Archives of Razi Institute* **63**: 1-5.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 12, Issue 1, 2016

Detection of Infectious Bronchitis Virus B/793 Serotype in Broiler Chicken in Shiraz by Molecular Methods

Mehrabanpour, M.J. [1 *] ***, Emadi, Sh.*** [2]

1- Assistant Professor, Department of Virology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Shiraz, Iran
2- MSc graduated of Microbiology, Islamic Azad University, Jahrom Branch, Jahrom, Iran

Received Date: 2 February 2015 *Accepted Date: 26 September 2015*

Abstract: *Avian infectious bronchitis (IB) is an acute and contagious disease, and can be involved respiratory and urogenital systems. It can be cause high mortality with economic losses in industrial poultry. For IB detection, tracheal and lung tissue samples were collected from 30 broiler chicken farms with respiratory syndrome in Shiraz and transported to laboratory in cold chain. After preparation and inoculation of samples into embryonated SPF eggs, samples checked for avian influenza (AI) and Newcastle disease (ND) by hemagglutination (HA) test. Viral RNA was extracted from allantoic fluid by purification kit and RT-PCR optimized for detection infectious bronchitis virus (IBV) with global primers and used specific primers for detection of massachusetts and B/793 serotypes by nested-PCR. From 30 broiler chicken flocks, 6 flocks were positive for IBV, and 4 flocks were positive for B/793 serotype in nested-PCR. Association to this result, use of vaccine with B/793 serotype is necessary for chickens.*

Keywords: *Infectious bronchitis; Broiler chicken; RT-PCR; Nested-PCR*

**Corresponding author: Mehrabanpour, M.J.*
Address: Department of Virology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Shiraz, Iran. Tel: 07135240332
Email: m.mehrabanpour@rvsri.ir

Archive of SID

www.SID.ir