آلودگی ماکیان گوشتی شهرستان ارومیه به *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال*

یداله اسدپور[۱*]، مهدی رضائی[۲] و ابراهیم رحیم‌آبادی[۳]

تاریخ دریافت: ۹۴/۲/۱۶ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۷

چکیده

باکتری *اورنیتو باکتریوم رینوتراکئال* با بیماری تنفسی، کاهش رشد، تلفات و کاهش تولید تخم مرغ مرتبط است. هدف از مطالعه‌ی حاضر تعیین میزان شیوع، جداسازی و تشخیص مولکولی *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* به روش واکنش زنجیره پلی‌مراز بود. در این مطالعه تعداد ۳۵۵ نمونه سرم و ۲۰۰ سوآب نایی از ۲۰ گله‌ی گوشتی جمع‌آوری شد. نتایج جستجوی پادتن اختصاصی به روش الایزا نشان داد که تعداد ۱۵ گله (۷۵ درصد) نسبت به *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* مثبت می‌باشند. *اورنیتو باکتریوم رینوتراکئال* از سوآب نای ۵ گله (۲۵ درصد) به وسیله‌ی کشت جدا شد و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی در واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز از ۸ گله (۴۰ درصد)، قطعه ۷۸۴ جفت باز که بر روی ژن ۱۶srRNA قرار داشت، تکثیر یافت. اختلاف معنی‌دار آماری بین میزان عیار گله و جداسازی باکتری وجود نداشت (P>۰/۰۵). نتایج این مطالعه نشان داد که شیوع عفونت *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در گله‌های گوشتی شهرستان ارومیه بالا بوده و واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز روش مناسبی برای تشخیص *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* می‌باشد.

کلمات کلیدی: *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال*، PCR ، الایزا، ماکیان، ارومیه

مقدمه

اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال یکی از عفونت‌هایی است که در کمپلکس‌های تنفسی نقش بسیار مهمی ایفاء می‌نماید و از تعدادی از کشورها جدا شده است (Vandamme et al. 1994). این باکتری گرم منفی، غیر متحرک، فوق‌العاده پلی‌مورف، میله‌ای شکل و بدون هاگ است. *اورنیتوباکتریوم* در سراسر جهان از تعداد زیادی از انواع پرندگان شامل ماکیان، کبک، کبک خاکستری، غاز، مرغ شاخدار، مرغ نوروزی، شترمرغ، قرقاول، کبوتر، بلدرچین، کلاغ سیاه و بوقلمون جدا شده است. نشانه‌های اولیه‌ی این بیماری شامل افسردگی، کاهش مصرف دان و آب، کاهش وزن، آبریزش بینی، سرفه، عطسه و سینوزیت بوده و در خیلی از موارد متعاقب آن اختلالات شدید تنفسی، تنگی نفس و زمین‌گیر شدن و سپس تلفات مشاهده می‌گردد (Chin et al. 2003). *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* می‌تواند سبب مرگ ناگهانی به میزان ۲۰ درصد در پرندگان جوان با عفونت‌هایی در مغز و جمجمه شود که ممکن است با نشانه‌ی تنفسی و یا بدون نشانه باشد. گرچه غالباً عفونت‌های ORT همراه با دیگر بیماری‌های تنفسی است ولی گاهی اوقات این عفونت را می‌توان از گله‌های بدون نشانه نیز جدا نمود. گاهی موکوس خون آلود دهان نیز یک یافته‌ی بالینی می‌باشد (van Empel 2002). *اورنیتوباکتریوم* از طریق تورم مفصل، اوستئیت و استئومیلیت در جوجه‌های مسن‌تر باعث فلجی می‌شود (Chin et al. 2003, van Empel 2002). خسارت‌های اقتصادی ناشی از افزایش موارد حذف کشتارگاهی ۱۰-۵ درصد بوده که تورم کیسه‌ی هوایی یک یافته غالب می‌باشد که گاهی اوقات به ویژه در فصل زمستان تا ۹۰ درصد نیز گزارش شده است

[۱*] استادیار بخش دامپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گیلان، رشت E-mail: yasadpour@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه آزاداسلامی واحد ارومیه

[۳] مربی پژوهشی بخش دامپزشکی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی گیلان، رشت

(van Veen et al. 2000). تشخیص قطعی *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* بر اساس نشانه‌ی بالینی و یافته‌های کالبدگشایی مشکل بوده و باید براساس جداسازی و شناسایی و یا تشخیص پادتن باشد (van Empel and Hafez 1999, Chin et al. 2003). با توجه به گزارش سرولوژی در چند ساله‌ی اخیر در کشور و استان آذربایجان غربی مبنی بر شیوع قابل توجه *اورنیتوباکتریوم* در مرغداری‌های گوشتی، در این تحقیق سعی گردید ضمن بررسی میزان شیوع آلودگی گله‌های گوشتی، جداسازی جدایه‌ها نیز انجام و جهت تأیید تشخیص عفونت از روش PCR نیز استفاده شود.

مواد و روش کار

تعداد ۳۵۵ نمونه خون از ورید بال ۲۰ گله‌ی گوشتی در سنین ۶-۴ هفتگی جمع‌آوری شد. همزمان از هر گله تعداد ۱۰ سوآب نایی از ۱۰ پرنده گرفته شد و سوآب‌های هر گله به یک لوله‌ی حاوی محیط BHI (Brain Heart Infusion Broth) منتقل شدند. سرم خون پس از جداسازی و تا زمان آزمایش سرولوژی در فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. بعد از تکان دادن لوله‌ها و خارج کردن سوآب‌ها، از نمونه‌ها در محیط آگار حاوی ۵ درصد خون گوسفند و ۵ میکروگرم به ازای هر میلی‌لیتر جنتامایسین کشت داده شد و به مدت ۴۸-۲۴ ساعت در انکوباتور CO_2 نگهداری گردید. از پرگنه‌های مشکوک که بیش‌تر ریز و شبنمی شکل بوده و از نظر مرفولوژی شباهت به ORT داشتند، مجدداً به کمک آنس برداشت شد و جهت خالص‌سازی در محیط کشت آگار خون‌دار حاوی جنتامایسین به صورت خطی کشت داده شد. با توجه به این که جهت تشخیص قطعی، نمونه‌ها باید PCR می‌شدند، تنها دو خصوصیت مهم بیوشیمیایی اکسیداز و کاتالاز و رنگ‌آمیزی گرم باکتری مورد بررسی قرار گرفت.

در روش سرولوژی سرم‌های خون از نظر وجود پادتن اختصاصی ضد *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* به روش الیزا با استفاده از کیت تجاری (Flock Check®IDEXX, Switzerland) براساس دستورالعمل کارخانه‌ی سازنده مورد بررسی قرار گرفت. نسبت دانسیته‌ی نوری نمونه به کنترل مثبت (S/P) کم‌تر و یا مساوی با ۰/۴ به عنوان منفی تلقی شده و بیش از ۰/۴ (تیترهای بالاتر از ۸۴۴) به عنوان مثبت ارزیابی شد.

در روش ملکولی، ۰/۵ سی‌سی از نمونه‌های سوآب بعد از قرار دادن در شیکر به میکروتیوب ۱/۵ میکرولیتر منتقل شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰rpm سانتریفوژ گردید؛ سپس محلول رویی تخلیه و رسوب باقی‌مانده با ۱۰۰ میکرولیتر بافر لیز کننده (محلول تریس ۱۰ میلی-مولار، ۱ میلی‌مولار EDTA، ۱ درصد SDS و ۲۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر پروتئیناز K با pH=8) به خوبی مخلوط و ۴ ساعت در بن‌ماری ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. هم حجم آن محلول فنل اشباع اضافه و کاملاً مخلوط گردید. نمونه، به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰rpm سانتریفوژ شد و فنل از فاز آبی جدا گردید. محلول فنل و کلروفرم با حجم مساوی، به مایع رویی اضافه گردید و پس از مخلوط کردن و تکان دادن، در دور ۱۳۰۰۰rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد و فاز رویی به میکروتیوب جدید منتقل و هم حجم با فاز رویی، کلروفرم اضافه شد. نمونه کاملاً مخلوط گردید و سپس به مدت ۵ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰rpm سانتریفوژ گردید. مقدار ۰/۱ حجم، استات سدیم ۳ مولار به فاز رویی اضافه شد و پس از مخلوط کردن به میزان دو برابر حجم نمونه به آن اتانول مطلق اضافه گردید. در ادامه نمونه به مدت ۲۰ دقیقه در سرمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از انکوباسیون در سرما، نمونه به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۱۳۰۰۰rpm سانتریفوژ گردید تا DNA غیر محلول رسوب نماید، سپس محلول روئی کاملاً تخلیه گردید. در مرحله‌ی بعدی DNA رسوب داده شده، با اتانول ۷۰ درجه شستشو گردید، این مرحله با اضافه نمودن ۲۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰ درجه به رسوب، سر و ته کردن لوله و سپس سانتریفوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۳۰۰۰rpm انجام

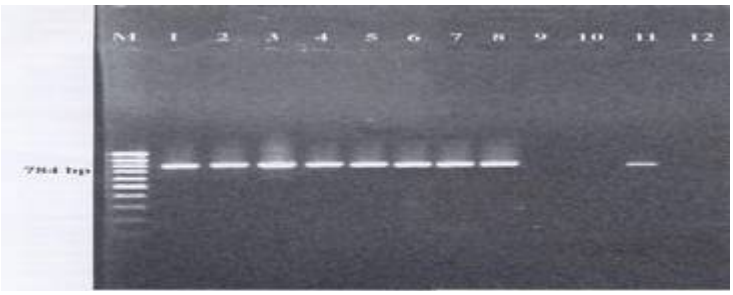
شد. سپس میکروتیوب، کاملاً تخلیه و تکان محکمی داده شد تا محتویات خارج شود و بعد میکروتیوب در محیط آزمایشگاه به صورت وارونه قرار داده شد تا خشک شود. به DNA مقدار ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل اضافه شد و تا زمان آزمایش در داخل یخچال نگهداری گردید. PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی 5'-GAG AAT TAA TTT ACG GAT TAAG-3' و 5'- TTC GCT TGG TCT CCG AAG AT -3' طراحی شده به وسیله‌ی van Empel and Hafez 1999، در حجم ۲۵ میکرولیتر (۲/۵ میکرولیتر بافر PCR 10X، ۱/۵ میلی‌مول $MgCl_2$، ۰/۵ میکرولیتر DNTP 10mM، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم *Taq* پلی‌مراز، ۱+۱ پیکومول پرایمر، ۴ میکرولیتر DNA الگو و ۱۴ میکرولیتر آب مقطر استریل) و با مراحل PCR به صورت واسرشت ابتدایی ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه، ۴۰ سیکل اصلی با واسرشت در ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، اتصال ۵۳ در دمای ۵۳ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ساخت در ۷۲ درجه به مدت ۲ دقیقه و بسط انتهایی در ۷۲ درجه به مدت ۷ دقیقه انجام شد. تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از نرم-افزار SPSS و آزمون مربع کای صورت گرفت.

نتایج

از ۲۰ گله مرغ گوشتی، تعداد ۱۵ گله (۷۵ درصد) از نظر عیار پادتن ضد *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* مثبت بودند (جدول ۱). باکتری از ۵ گله (۲۵ درصد) از ۲۰ گله جدا شد. باکتری‌های جدا شده اکسیداز مثبت و کاتالاز منفی بودند. در سوآب ۸ گله (۴۰ درصد) از ۲۰ گله، قطعه ۷۸۴ جفت باز باند تشکیل شد و در سایر نمونه‌ها هیچ باندی مشاهده نشد (شکل ۱). آزمون مربع کای، نشان داد که بین جداسازی باکتری و عیار پادتن ضد *اورنیتوباکتریوم* ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵).

جدول ۱: عیار پادتن ضد *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* **در ماکیان گوشتی شهرستان ارومیه به روش الیزا و رابطه‌ی آن با کشت و PCR**

گله	تعداد سرم	سرم مثبت	میانگین عیار پادتن	PCR/کشت	گله	تعداد سرم	سرم مثبت	میانگین عیار پادتن	PCR/کشت
$F_{۱}$	۱۶	۵	۸۱	+ / +	$F_{۱۱}$	۱۸	۳	۳۷	− / +
$F_{۲}$	۱۸	−	۱۶۹	− / −	$F_{۱۲}$	۱۷	۳	۶۵	+ / +
$F_{۳}$	۱۷	۸	۱۱۲۰	+ / +	$F_{۱۳}$	۱۹	−	۱۴۲	− / −
$F_{۴}$	۱۶	۶	۱۸۹	− / −	$F_{۱۴}$	۱۷	−	۸۵	− / +
$F_{۵}$	۱۸	۷	۲۴۷۰	− / −	$F_{۱۵}$	۱۸	۵	۱۹۴	− / −
$F_{۶}$	۱۷	۳	۸۲	− / −	$F_{۱۶}$	۱۶	۹	۱۵۵۱	− / −
$F_{۷}$	۱۹	۳	۹۵	+ / +	$F_{۱۷}$	۱۹	۸	۹۲۰	− / −
$F_{۸}$	۱۸	۱۰	۱۸۲۳	+ / +	$F_{۱۸}$	۲۰	−	۶۵	− / +
$F_{۹}$	۲۰	−	۲۱۱	− / −	$F_{۱۹}$	۱۹	۲	۴۱	− / −
$F_{۱۰}$	۱۶	۶	۲۳۹	− / −	$F_{۲۰}$	۱۷	۵	۸۲	− / −



شکل ۲: الکتروفورز محصول PCR جستجوی ژن اختصاصی *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* **بر روی ژل آگارز یک درصد، رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید. M؛ مارکر با وزن ملکولی ۱۰۰ جفت باز، ۸-۱؛ جدایه‌های** *اورنیتوباکتریوم*، **۹-۱۰؛ نمونه‌های منفی، ۱۱؛ کنترل مثبت، ۱۲؛ آب مقطر.**

بحث

آزمایش سرولوژی برای پایش گله یا به عنوان یک وسیله‌ی کمکی جهت تشخیص ORT مفید می‌باشد (van Empel 2002, Chin et al. 2003). در مطالعه‌ی حاضر ۷۵ درصد گله‌های گوشتی در آزمایش الایزا از نظر پادتن ضد *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* مثبت بودند اما باکتری از ۲۵ درصد گله جداسازی شد. باکتری را می‌توان در مراحل اولیه عفونت جداسازی نمود، هرچند که درصد جداسازی نمی‌تواند نشان‌گر میزان دقیق شیوع عفونت باشد. عیار پادتن ضد *اورنیتوباکتریوم* حدود ۱ تا ۴ هفته پس از آلودگی به اوج خود می‌رسد (van Empel and Hafez 1999) و بعد از آن کاهش می‌یابد، بنابراین به علت جستجوی پادتن ضد *اورنیتوباکتریوم* در سرم خون، بالا بودن درصد آلودگی در روش الایزا قابل توجیه است.

در بررسی دیگری بر روی ۴۶۳ سرم از ۵۰ گله‌ی گوشتی استان آذربایجان غربی با کیت آیدکس الیزا، ۴۱ گله‌ی گوشتی (۸۲ درصد) و ۲۰۵ سرم (۴۴/۲ درصد) مثبت بوده است (Allymehr 2006). در ۸۶۴ نمونه از ۴۸ گله‌ی گوشتی استان تهران، شیوع سرمی عفونت *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در ۸۶۴ نمونه اخذ شده از ۴۸ گله‌ی گوشتی استان تهران، ۲۴ گله (۵۰ درصد) عیار سرمی مثبت، ۱۰ گله (۲۰/۸ درصد) عیار سرمی مشکوک و ۱۴ گله (۲۹/۲ درصد) عیار سرمی منفی داشته‌اند (حقیقی‌خوشخو و همکاران ۱۳۸۷). از ۲۱۱ نمونه سرمی گله‌های گوشتی مشهد، ۲۰۶ نمونه (۹۷/۶۳ درصد) و از ۳۴۰ نمونه گله‌ی مرغ مادر ۳۳۴ نمونه (۹۸/۲۳ درصد) از نظر پادتن ORT مثبت بوده‌اند (کلیدری و همکاران ۱۳۸۷). در بررسی ۲۵۴ نمونه کشتارگاهی شهرستان اهواز، ۲۲ مورد (۸/۶۶ درصد) و از ۲۰۰ نمونه میدانی (مرغداری‌ها) ۲ مورد (۱ درصد) و از ۲۹ نمونه ارجاعی به بخش طیور ۴ مورد (۱۳/۷۹ درصد) *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* جدا شده است (جمشیدیان و میاحی ۱۳۸۷). در استان گیلان نیز دو مطالعه‌ی تحقیقاتی قبل و بعد از واکسیناسیون گله‌های مادر انجام شده است که تعداد ۴۶۰ نمونه سرم از ۲۲ گله‌ی مادر گوشتی غیر واکسینه جمع-آوری شده که نتایج نشان‌دهنده‌ی ۱۰۰ درصد آلودگی گله‌ی مرغ مادر به *اورنیتوباکتریوم* بوده و در مجموع ۶۲/۸۳ درصد نمونه‌ها مثبت و ۲۵/۱۴ درصد منفی بوده‌اند (Asadpour et al. 2008). در مطالعه‌ی دیگری که بر روی ۴۶۰ نمونه سرم از ۲۹ گله‌ی مرغ گوشتی کشتاری بعد از واکسیناسیون گله‌های مادر صورت گرفته است، ۵ گله (۱۷/۲ درصد) نسبت به عفونت *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* و در مجموع ۵/۲۱ درصد نمونه‌ها مثبت بوده-اند. در مطالعه‌ی یاد شده از تعداد ۲۹۰ سوآب نای (۲۹ نمونه) عامل عفونت ORT تنها از سوآب نای ۳ گله (۱۰/۳ درصد یا ۱/۰۳ درصد از ۲۹۰ سوآب نای) در کشت جدا شده است (Asadpour et al. 2011). نیک-پیران و همکاران در سال ۱۳۹۰ آلودگی گله‌های گوشتی استان اردبیل به اورنیتویاکتریوم را ۷۲/۲ درصد، فیوضی-

یوسفی و همکاران در سال ۱۳۹۲ در استان گلستان ۵۸ درصد، Sakai و همکاران در سال ۲۰۰۰ در ژاپن ۱۳/۹ درصد، Canal و همکاران در سال ۲۰۰۳ در جنوب برزیل ۶۳/۸۳ درصد، Ozbey و همکاران در سال ۲۰۰۴ در شرق ترکیه ۱۰/۲ درصد، Uriarte و همکاران در سال ۲۰۱۰ در آرژانتین ۶۲/۶ درصد، Refaei و همکاران در سال ۲۰۰۵ در مصر با کیت بیوچک ۲۰/۳ درصد و با کیت آیدکس الیزا ۷۷/۵ درصد گزارش کرده‌اند.

نتایج مطالعه‌ی حاضر با مطالعات انجام شده در کشورها و نقاط مختلف دارای هم‌خوانی بوده و اختلاف موجود نیز می‌تواند ناشی از تفاوت سنی گله‌ها و احتمالاً اختلاف زمانی مطالعات مختلف باشد.

در تشخیص *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* می‌توان به صورت مستقیم از واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز استفاده نمود (van Empel and Hafez 1999). Ozbey در سال ۲۰۰۴ در شرق ترکیه از تعداد ۲۵۰ نمونه شش و نای مربوط به ۱۰ گله‌ی تجاری از نای ۵ جوجه (۱/۵ درصد) و هم از نای و شش یک جوجه (۰/۰۴ درصد) ژنوم باکتری به وسیله‌ی PCR تشخیص داده شده است. Canal و همکاران در سال ۲۰۰۵ در برزیل، از سوآب نای گله‌های گوشتی ۴ جدایه را جدا و با PCR تمام جدایه‌ها را تأیید کرده‌اند. اسدپور و همکاران در سال ۱۳۸۸ از تعداد ۲۲۰ سوآب نای مربوط به ۲۲ گله مرغ مادر، در ۷ گله (۳۱/۸۲ درصد) آلودگی به باکتری را اعلام نموده‌اند. کشت و PCR در ۵ گله مثبت و در ۲ گله کشت منفی ولی در PCR باکتری اورنیتوباکتریوم تشخیص داده شده است. در تحقیق حاضر نیز شناسائی ۸ گله‌ی آلوده به باکتری از ۲۰ گله در PCR و جداسازی باکتری تنها در ۵ گله، احتمالاً مربوط به نمونه‌گیری از سوآب نای مرغان تلف شده بوده که DNA باکتری در PCR ردیابی گردیده و به احتمال ضعیف‌تری نیز باکتری در حین انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه فعالیت حیاتی خود را از دست داده باشند. این بررسی نشان داد که شیوع عفونت اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در گله‌های گوشتی شهرستان ارومیه بالا بوده و واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز روش مناسب‌تری برای تشخیص *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* می‌باشد. به دلیل اهمیت اقتصادی عفونت در بیماری‌های کمپلکس تنفسی، ضروری است سایر گله‌های استان نیز از نظر این عفونت پایش گردند.

منابع

اسدپور، یداله؛ بزرگمهری‌فرد، محمدحسن؛ پوربخش، سیدعلی؛ بنانی، منصور و چرخکار، سعید (۱۳۸۸). تشخیص *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در گله‌های مرغ مادر گوشتی استان گیلان به روش PCR. مجله دامپزشکی ایران، دوره پنجم، شماره ۴، صفحات ۶۳-۵۹.

جمشیدیان، محمود و میاحی، منصور (۱۳۸۷). جداسازی *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* از ماکیان گوشتی شهرستان اهواز، مجله دامپزشکی ایران، دوره چهارم، شماره ۴، صفحات ۳۶-۲۹.

حقیقی‌خوشخو، پیام؛ اکبری‌آزاد، گیتا و امیری، شهرام (۱۳۸۷). بررسی شیوع سرمی عفونت *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در جوجه‌های گوشتی استان تهران، چهارمین سمپوزیوم ملی بهداشت و بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ۳۱-۲۹ مرداد ماه، صفحات ۱۳-۱۰.

فیوضی‌یوسفی، احمدعلی؛ پوربخش، سیدعلی و بنانی، منصور (۱۳۹۲). جداسازی، شناسائی و تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* از ماکیان تجاری استان گلستان، گزارش نهائی طرح مصوب سازمان تحقیقات وآموزش و ترویج کشاورزی، کد مصوب ۸۹۰۰۴۹-۱۸-۵۷-۲.

کلیدری، غلامعلی؛ باسامی، محمدرضا؛ کاوسی، هادی و کردی، فرشید (۱۳۸۷). بررسی سرولوژیک *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در تعدادی از مرغداری‌های گوشتی و مادر مشهد، چهارمین سمپوزیوم ملی بهداشت و بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، ۳۱- ۲۹ مرداد ماه، صفحات ۹- ۵.

نیک‌پیران، حسین؛ عباسی‌باهنر، شهرام؛ بیژن‌زاد، پیمان و تقوی‌ملایی، مهدی (۱۳۹۰). بررسی سرولوژیکی *اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال* در گله‌های گوشتی استان اردبیل، مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، دوره ۵، شماره ۴، پیاپی، صفحه ۱۳۶۷-۱۳۶۳.

Allymehr, M. (2006). Seroprevalence of *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in broiler and broiler breeder chickens in west Azarbaijan province, Iran. Journal of Veteriary Medicine, 53: 40-42.

Asadpour, Y.; Bozorgmehrifard, M.H.; Pourbakhsh, S.A.; Banani, M. and Charkhkar, S. (2008). Isolation and identification of *Ornithobacterium rhinotracheale* in broiler breeder of Guilan province. Pakistan Journal of Biological Science, 11(11): 1487-1491.

Asadpour, Y.; Banani, M. and Pourbakhsh, S.A. (2011). Isolation and identification and antibiotic sensitivity determination of *Ornithobacterium rhinotracheale* in slaughtering broiler chicken flocks of Guilan province. Iranian Journal of Veterinary Research, 12(37): 345-349.

Canal, C.W.; Leao, J.A.; Ferreira, D.J.; Macagnan, M.; Pippi Salle, C.T. and Back, A. (2003). prevalence of antibodies against *Ornithobacterium rhinotracheale* in broiler and breeders in southern Brazil. Avian Disease, 47(3): 731-737.

Canal, C.W.; Leao, J.A.; Rocha, S.L.; Macagnan, M.; Lima-Rosa, C.A.; Oliveira, S.D. and Back, A. (2005). Isolation and characterization *Ornithobacterium rhinotracheale* from chickens in Brazil. Research Veterinary Science, 78(3): 225-230.

Chin, R.P.; Van empel, P.C.M. and Hafez, M.H. (2003). *Ornithobacterium rhinotracheale* in: Saif, Y.M., Calnek. B.W., Barnes, et al (eds), Disease of poultry. Ames. Iowa state university press, Pp: 683-688.

Ozbey, G.; Ongor, H.; Balik, D.T.; Celik, V.; Kilic, A. and Muz, A. (2004). Investigation on *Ornithobacterium rhinotracheale* in broiler flocks in Elazig province located in the east of Turkey. Veterinary Medieina, 49 (8): 305-311.

Refaei, M.; El-Gohary, A.; Attia, S.A. and Khalifa, R.A. (2005). Diagnosis of *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in chickens by ELISA. Egypt Journal of Immunology, 12(1): 87-93.

Sakai, E.; Tokuyama, Y.; Nonaka, F.; Ohishi, S.; Ishikawa, Y.; Tanaka, M. and Taneno, A. (2000). *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in Japan: Preliminary investigation, Veterinary Record, 146: 502-503.

Uriarte, J. Suzuki, K.; Origlia, J.; Gornatti, D.; Piscopo, M.; Cerda, R. et al. (2010). Stochastic estimation of seroprevalence against *Ornithobacterium rhinotracheale and* avian pneumovirus among chickens in Argentina. International Journal of Poultry Sciences, 9(4): 352-356.

Vandamme, P.; Segers, P.; Vancanneyt, M.; van Hove, K.; Mutters, R.; Hommez, J. et al. (1994). *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov, sp. nov., isolated from the avian respiratory tract. International Journal of Systematic Bacteriology, 44: 24-37.

van Empel, P. and Hafez, M.H. (1999). *Ornithobacterium rhinotracheale*: A review. Avian Pathology, 28: 217-227.

van Empel, P. (2002). *Ornithobacterium rhinotracheale* in: Jordan F., Pattison M., Alexander D. and Faragher (eds), Poultry Diseasees, T. WB Sunders, Pp: 138-145.

van Veen, L.; Gruys, E.; Frik, K. and van Empel, P. (2000). Increased condemnation of broiler associated with *Ornithobacterium rhinotracheale*. Veterinary Record, 147: 422-423.

Infection of broiler chickens to *Ornithobacterium rhinotracheale* in Urmia city

Asadpour, Y.[1]; Rezaei, M.[2] and Rahimabadi, E.[3]

Received: 06.05.2015 Accepted: 28.11.2015

Abstract

Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) a bacterium is known to be associated with respiratory disease, growth retardation, mortality and decrease egg production. The aim of the present study was conducted seroprevalence, isolation, and molecular diagnosis of *O. rhinotracheale* by PCR method. In this study, 355 serum samples were collected from 20 broiler flocks. Serological results showed that 15 flocks (75%) were positive to *O. rhinotracheale* infection by ELISA. Total of 200 tracheal swabs (20 samples) were collected. The *O. rhinotracheale* was isolated from tracheal swabs of 5 flocks (25%) by culture and but with using specific primers of ORT in PCR method was detected A 784 bp fragment of the 16SrRNA gene from 8 flocks (40%). By statistical, there was no significantly different between correlation of the isolates and flocks ORT titers (P>0.05). The results of this study indicated that the prevalence of *Ornithobacterium rhinotracheale* antibodies is high in the broiler flocks in Urmia city and PCR is a suitable method for diagnosis of the *O. rhinotracheale.*

Key words: *Ornithobacterium rhinotracheale*, PCR, ELISA, Chicken, Urmia

1- Assistant Professor, Department of Veterinary Medicine, Agricultural Research Education and Natural Resources Rresearch Center of Guilan, Guilan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Urmia Branch, Urmia, Iran
3- Researcher Follow, Department of Veterinary Medicine, Agricultural Research Education and Natural Resources Rresearch Center of Guilan, Guilan, Iran
Corresponding Author: Asadpour, Y., E-mail: yasadpour@yahoo.com