

ردیابی مولکولی اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال (ORT) و ویروس بیماری نیوکاسل در شترمرغ‌های استان اصفهان

عباس علی شعبانی^۱، مجید غلامی آهنگران^{۲*}، حسن ممتاز^۳

۱- دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۲- دانشیار بخش بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

۳- استاد بخش میکروبی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات: mgolamia1388@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۶/۲/۳ پذیرش نهایی: ۹۶/۵/۴)

چکیده

با هدف شناسایی باکتری اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال (ORT) و ویروس بیماری نیوکاسل در تلفات حاد شترمرغ، ۴۰ نمونه نای از ۲۲ گله شترمرغ واجد تلفات از نقاط مختلف استان اصفهان با ثبت تاریخچه جمع‌آوری شد. پس از استخراج RNA و DNA از بافت نای با کیت ترانس کریپتاز معکوس cDNA تهیه شد. DNA استخراج شده با پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر ژن 16srRNA باکتری ORT مورد ارزیابی قرار گرفت و cDNA تهیه شده با پرایمرهای اختصاصی ژن M نیوکاسل تکثیر شد. ژن 16srRNA در کنترل مثبت به خوبی تکثیر شد و قطعه ۷۸۴ جفت بازی به دست آمد، اما در هیچ کدام از نمونه‌های اخذ شده، قطعه مورد نظر تکثیر نشد. علاوه بر آن، در ۲۴ نمونه از ۴۰ نمونه جمع‌آوری شده (۶۰ درصد)، قطعه ۱۰۹۷ جفت بازی ژن M ویروس نیوکاسل تکثیر شد. از مجموع ۲۲ گله مورد بررسی با مرگ حاد، ۱۵ گله یا به عبارتی ۶۸/۱۸ درصد گله‌ها آلوده به ویروس نیوکاسل بودند. با توجه به نتایج این مطالعه می‌توان بیان داشت که در حال حاضر آلودگی با ORT در گله‌های شترمرغ در استان اصفهان منتفی است، اما ویروس نیوکاسل سهم بالایی در ایجاد تلفات حاد در گله‌های شترمرغ دارد.

کلیدواژه‌ها: اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال، ویروس نیوکاسل، PCR، شترمرغ، اصفهان.

مقدمه

اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال (ORT) یک باکتری گرم منفی، پلئومورف و غیرمتحرک است که همراه با بروز علائم تنفسی، کاهش رشد، کاهش تولید تخم و افزایش مرگومیر و حذف کشتارگاهی از بوقلمون و ماکیان جدا شده است (Van Empel and Hafez, 1999). این باکتری اولین بار توسط وندام و همکاران در سال ۱۹۹۴، اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال نامیده شد (Vandamme et al., 1994). عامل بیماری از طریق افقی و عمودی و به شکل مستقیم و غیرمستقیم گسترش می‌یابد (Chin et al., 2013).

عفونت‌های ناشی از باکتری اورنیتوباکتریوم باعث بروز علائم تنفسی ملایم در بوقلمون و سایر پرندگان می‌گردد. نشانه‌های بالینی این بیماری شامل سینوزیت، ذات‌الریه چرکی، آماس نای، عفونت‌های کیسه‌های هوایی و پریکاردیت می‌باشد. این باکتری می‌تواند سبب مرگ ناگهانی پرندگان جوان در خلال عفونت مغز و جمجمه گردد (Van Empel and Hafez, 1999).

حضور اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال در مرغ و بوقلمون با روش‌های مختلف سرولوژی و مولکولی در ایران و سایر کشورهای تولیدکننده طیور گزارش شده است. با توجه به علائم تنفسی و حرکتی در گله‌های شترمرغ در استان اصفهان شناسایی این عامل در گله‌های شترمرغ ضروری به نظر می‌رسد، تا ضمن اتخاذ استراتژی پیشگیرانه در گله‌های شترمرغ در جهت کنترل این بیماری و جلوگیری از انتشار این باکتری به گله‌های مرغ و بوقلمون اقدامات بهداشتی و مدیریتی مناسب اخذ شود.

ویروس عامل بیماری نیوکاسل از خانواده Paramyxoviridae است. ۹ سروروار از پارامیکسوویروس در پرندگان شناسایی شده است که در بین آن‌ها ویروس بیماری نیوکاسل (APMV-1) در پرندگان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (Miller and Koch, 2013). این بیماری هم‌زمان با ورود طیور به ایران وارد شده است و به شکل بومی در ایران وجود دارد. این بیماری به فرم‌های عصبی، گوارشی و تنفسی در مزارع پرورشی طیور مشاهده می‌گردد که گاهی با انجام واکسیناسیون‌های گسترده با واکسن‌های زنده و کشته، شواهدی از بیماری مشاهده می‌شود. اگرچه این بیماری در مزارع پرورشی ماکیان، بوقلمون و سایر گونه‌های صنعتی طیور با استفاده از واکسن‌های زنده و کشته تا حدودی کنترل می‌گردد اما در گله‌های شترمرغ برنامه منظم و مدونی برای واکسیناسیون علیه این بیماری وجود ندارد و برنامه واکسیناسیون در این گونه به شکل کاملاً سلیقه‌ای اجرا و اعمال می‌گردد. اگرچه بیماری‌زایی نیوکاسل به شکل آزمایشگاهی و مولکولی برای گله‌های شترمرغ ثابت شده است (Ghalianchi-Langeroudi et al., 2011)، اما تاکنون نقش این عامل بیماری در ایجاد تلفات حاد در مزارع پرورشی شترمرغ به‌خوبی مشخص نشده است. لذا، در این مطالعه به بررسی نقش عامل بیماری نیوکاسل در زمین‌گیری و مرگومیر حاد و ناگهانی شترمرغ‌ها در استان اصفهان مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

- نمونه‌گیری: از زمستان ۲۰۱۴ تا زمستان ۲۰۱۵ جمعاً ۴۰ نمونه نای از ۲۲ گله شترمرغ واجد تلفات که عمدتاً مرگ حاد را به دنبال زمین‌گیری نشان، می‌دادند از نقاط مختلف استان اصفهان با ثبت تاریخچه جمع‌آوری شد. نمونه‌ها از شترمرغ‌های زیر یک ماه تا شترمرغ‌های ۱۴ ماهه جمع‌آوری گردید و از هر گله یک تا سه نمونه نای بسته به میزان تلفات نمونه‌گیری شد. نمونه‌های نای پس از جمع‌آوری در کنار یخ منتقل شد و تا زمان انجام آزمایش در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

- استخراج DNA از نمونه‌های بافتی: استخراج DNA با استفاده از کیت ساخت شرکت سینا ژن ایران (DNP™ Kit) طبق دستورالعمل کیت انجام شد.

- استخراج RNA: RNA ویروس نیوکاسل از بافت نای با استفاده از کیت تخلیص RNA مطابق دستورالعمل کیت استخراج شد (High Pure Viral Nucleic Acid, Roche, Kit).

- ساخت cDNA (ترانس‌کریپتاز معکوس): جهت ساخت cDNA از نمونه‌های RNA استخراج شده، از کیت Accu Power RT Pre Mix شرکت BIONEER استفاده شد و مراحل طبق دستورالعمل کیت انجام گردید. ۱۵ میکرولیتر DEPC-Water، ۱ میکرولیتر Random Hexamer و ۳ میکرولیتر از RNA مربوطه به هر نمونه در دستگاه ترموسایکلر (Mastecycler Gradient Eppendorf, Germany) در دو سیکل دمایی ۴۲ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ دقیقه و ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۵ دقیقه انکوبه شد.

- تکثیر ژن 16S rRNA/اورنیوباکتریوم رینوتراکنال: پرایمرها بر اساس ژن 16S ribosomal RNA باکتری

ORT و مطابق توالی منتشر شده به صورت OR16S-3'-F1:5'-GAGAATTAATTTACGGATTAAG-3' OR16S-R1:5'-TTCGCTTGGTCTCCGAAGAT-3' سنتز شد (Van Empel and Hafez, 1999). جهت انجام آزمایش PCR و تکثیر ژن مورد نظر با طول قطعه حدود ۷۸۴ جفت بازی از دستگاه ترموسایکلر (Mastecycler Gradient Eppendorf, Germany) با حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر شامل ۱ میکروگرم نمونه DNA و ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر منیزیم کلراید و ۲۰۰ میکرولیتر از dNTP و ۲/۵ میکرولیتر از بافر 10x و ۱ میکرولیتر از آنزیم Taq پلی‌مراز بود (Fermentas, Germany). واکنش PCR در شرایط دمایی زیر انجام شد.

برنامه حرارتی مورد استفاده شامل یک سیکل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه و ۴۵ سیکل تکراری شامل واسرشت‌سازی در دمای ۹۴ درجه سلسیوس در ۳۰ ثانیه هم‌سرشت‌سازی در دمای ۵۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه و گسترش در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه و ۳۰ ثانیه و گسترش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد. در این بررسی از واکسن Nobilis OR inac (واکسن کشته ارنیوباکتریوم رینوتراکنال سروتیپ A، Intervet، هلند) به عنوان کنترل مثبت و از آب دو بار تقطیر استریل به عنوان کنترل منفی استفاده شد.

- تکثیر ژن M ویروس نیوکاسل: به منظور تکثیر ژن M ویروس نیوکاسل از پرایمر منتشر شده استفاده شد (Wehmann et al., 1997). جزئیات پرایمرهای مورد استفاده در جدول ۱ آمده است. برای انجام آزمون PCR، محلول واکنش در حجم ۲۵ میکرولیتر تهیه شد که شامل ۲ میکرولیتر 10x Pcr Buffer، ۰/۸ میکرولیتر

۶۰ ثانیه، ۵۸ درجه ۶۰ ثانیه، ۷۲ درجه ۸۰ ثانیه و یک سیکل انتهایی ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه. در این واکنش از واکسن زنده لاسوتا (موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی، ایران) به‌منظور کنترل مثبت و از آب دوبار تقطیر استریل به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

۰/۴، MgCl₂ 50mM، میکرولیتر ۱۰ dNTP Mix 10mM، میکرولیتر ۱۶/۸ آب مقطر استریل، ۱ میکرولیتر از هر یک از زوج پرایمرهای F و R، ۳ میکرولیتر از cDNA و ۱ واحد آنزیم Taq DNA Polymerase می‌باشد. برنامه حرارتی برای تکثیر ژن M عبارت بود از یک سیکل ۹۵ درجه ۴ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری ۹۴ درجه

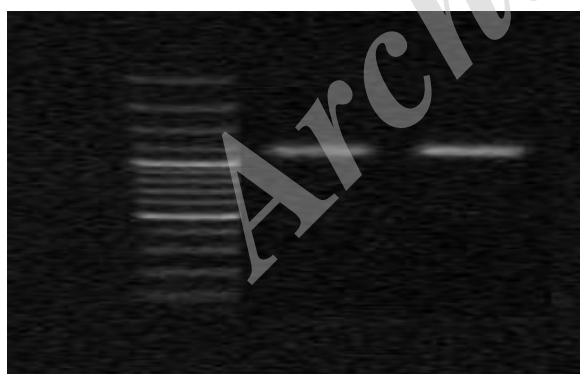
جدول ۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده جهت تکثیر ژن M نیوکاسل

نام پرایمر	طول محصول	توالی
ND (M)-F	1097	5'_TCT AGG ACA ATT GGG CTG TAC TTT GAT T_3'
ND (M)-R	1097	3'_AGA GAC GCA GCT TAT TTC TTA AAA GGA TTG_5'

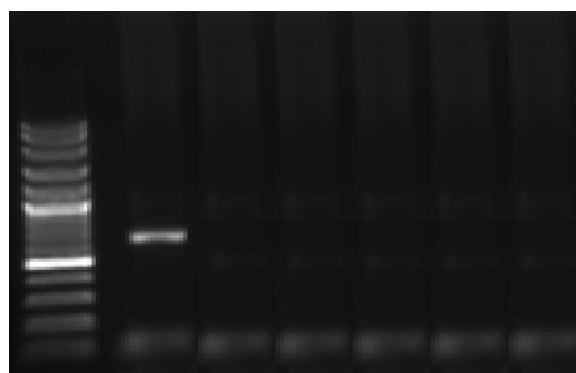
یافته‌ها

- آلودگی با اورنیتوباکتریوم رینوتراکتال: اگرچه ژن 16srRNA در کنترل مثبت به‌خوبی تکثیر شد و قطعه ۷۸۴ جفت بازی به‌دست آمد (شکل ۱) اما در هیچ‌کدام از نمونه‌های اخذشده قطعه مورد نظر تکثیر نشد.

- آنالیز محصول PCR: محصول هر دو واکنش PCR (نیوکاسل و ORT) بر روی ژل ۱ درصد آگارز با ولتاژ ۸۰ ولت برای مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورز گردید، سپس ژل مورد نظر با اتیدیم بروماید رنگ‌آمیزی و با دستگاه UV doc مشاهده شد.



شکل ۲- الکتروفورز محصول PCR (ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی سیناژن، ستون ۲: قطعه ۷۹۴ جفت بازی ژن 16srRNA کنترل مثبت، ستون ۳: کنترل منفی، ستون ۴ تا ۷: نمونه‌های منفی).



شکل ۱- الکتروفورز محصول PCR (ستون ۱: مارکر ۱۰۰ جفت بازی سیناژن، ستون ۲: قطعه ۷۹۴ جفت بازی ژن 16srRNA کنترل مثبت، ستون ۳: کنترل منفی، ستون ۴ تا ۷: نمونه‌های منفی).

- آلودگی با نیوکاسل

در ۲۴ نمونه از ۴۰ نمونه جمع‌آوری‌شده، قطعه ۱۰۹۷ جفت بازی ژن M ویروس نیوکاسل تکثیر شد (شکل ۲). به عبارتی، ۶۰ درصد نمونه‌های اخذشده آلوده به ویروس نیوکاسل می‌باشد. از مجموع ۲۲ گله مورد بررسی با مرگ حاد، ۱۵ گله یا به عبارتی ۶۸/۱۸ درصد گله‌ها آلوده به ویروس نیوکاسل بودند.

بحث و نتیجه‌گیری

بیماری اورنیتوباکتریوم یک بیماری باکتریایی است که در ایجاد ضایعات تنفسی و اندام‌های حرکتی در اکثر گونه‌های پرندگان نقش عمده‌ای دارد (Van Empel and Hafez, 1999). اگرچه این بیماری عمدتاً در بوقلمون‌ها و ماکیان مورد بررسی قرار گرفته است، اما شواهد بالینی و گزارشات پراکنده‌ای از رخداد این بیماری در برخی گونه‌های دیگر پرندگان نیز وجود دارد (Chin et al., 2013). در خصوص بیماری‌زایی این باکتری در پرندگان شک و شبهات زیادی وجود دارد و برخی محققین از این عامل به عنوان یک عامل ثانویه نام برده‌اند، اما مطالعات اخیر نشان می‌دهد که ORT می‌تواند به عنوان یک عامل اولیه بیماری‌زا مطرح باشد (Van Empel and Hafez, 1999). علایم این بیماری در پرندگان بسیار متنوع است. در اغلب موارد عفونت ORT به صورت پنومونی یک‌طرفی یا دوطرفی همراه با آگزودای فیبرینی و تراکئیت حقیف تا شدید، التهاب فیبرینی-چرکی کیسه‌های هوایی، تورم کبد و طحال، استحال عضله قلب و عفونت مفاصل و مهره‌ها جلب نظر می‌کند (Chin et al., 2013).

آلودگی با ORT از اکثر کشورهای دارای صنعت طیور در ماکیان و بوقلمون گزارش شده است. مطالعات بسیار زیادی در زمینه شناسایی ORT در گله‌های طیور در ایران انجام شده است، اما در اکثر موارد با هدف شناخت اپیدمی این بیماری در گله‌های ماکیان و بوقلمون در استان‌های مختلف کشور بوده است. در شناخت وضعیت آلودگی با ORT در سایر گونه‌های پرندگان مطالعات اندکی صورت گرفته و اکثر این مطالعات مربوط به خارج از کشور بوده است. در ایران تنها یک گزارش وجود دارد که به بررسی آلودگی با ORT در کبوتران تلف‌شده و کبک و بلدرچین‌های بدون تاریخچه و کشتار شده می‌پردازد (Mirzaei et al., 2011).

در مطالعات خارج از کشور، ORT در برخی گونه‌های دیگر به جز ماکیان و بوقلمون مورد بررسی قرار گرفته است. در یک مطالعه در ترکیه به توصیف عفونت تجربی ORT در بلدرچین پرداختند و نشان دادند که عفونت ORT در بلدرچین همانند ماکیان باعث جراحات تنفسی می‌گردد (Eroksuz et al., 2006). علاوه بر آن، گزارشی مبنی بر آلودگی یک کبک مبتلا به اوتیت با علایم عصبی به باکتری ORT در اسپانیا وجود دارد (Moreno et al., 2009). قبل از آن در اسپانیا، آلودگی ORT در یک قرقاول با علایم تنفسی تشریح شده بود (Pages et al., 1995). در پرندگان آزادی تنها یک مورد واگیری ORT در جوجه شاهین‌های با علایم التهاب کیسه هوایی گزارش شده است (Hafez and Michael, 2010).

در مورد بررسی آلودگی به ORT در شترمرغ مطالعه مستندی صورت نگرفته است. قبلاً حساسیت شترمرغ‌ها

بیماری نیوکاسل در شترمرغ اولین بار در دهه ۱۹۵۰ در شترمرغ‌های باغ وحش شناسایی شد که با علائم عصبی و افسردگی مشخص شد (Alexander, 2000). اولین مورد بیماری نیوکاسل در شترمرغ‌های صنعتی به گزارشی از اسرائیل برمی‌گردد که در این واگیری ۱۳ مورد از ۴۶ شترمرغ با سن ۵ تا ۹ ماه (۲۸ درصد) به دنبال بروز علائم عصبی تلف شدند (Samberg et al., 1989). بعد از آن در گزارشی دیگری به توصیف علائم عصبی در شترمرغ‌های مبتلا به نیوکاسل پرداخته شد (Huchzermeyer and Gerdes, 1993). در مطالعه دیگری در زیمباوه وضعیت سرمی ۹ مزرعه پرورشی شترمرغ بررسی شد که در آن زمان ۲۳ درصد شترمرغ‌ها واجد تیترا سرمی علیه ویروس نیوکاسل بودند و میزان شیوع سرمی در این مزارع پرورشی از ۵۰ تا ۶۰ درصد متغیر بود (Cadman et al., 1997).

در ایران، هم‌زمان با ورود شترمرغ در نیمه دوم دهه ۱۹۹۰ شواهد بالینی از این بیماری مشخص شد و بررسی شاخص‌های ICPI و MDT ویروس جدا شده از مزارع پرورشی شترمرغ در سال‌های ۲۰۰۸-۲۰۱۰ حاکی از بیماری‌زایی بالای این ویروس بوده است (Ghiamirad et al., 2010). علاوه بر آن، در مطالعه دیگری به توالی ناحیه تقسیم ژن F ویروس نیوکاسل جدا شده از گله‌های شترمرغ پرداخته و از نظر مولکولی نیز بیماری‌زایی بالای این ویروس مسجل شده است (Ghalyanchi-Langeroudi et al., 2011). با توجه به بیماری‌زایی بالای این ویروس در گله‌های شترمرغ در ایران، در مطالعه حاضر به نقش این ویروس اندمیک به عنوان یک عامل ایجادکننده تلفات در گله‌های شترمرغ پرداخته شد. ردیابی ۶۰ درصدی نیوکاسل در مطالعه

در برنامه نظارت بر سلامت حیوانات در جنوب آفریقا بیان شده است (Anonymous, 2000) به گونه‌ای که در اکثر گزارشات مروری به این گزارش استناد نموده‌اند و شترمرغ را به عنوان یک پرنده مستعد به عفونت ORT بیان کرده‌اند، اما این گزارش جنبه علمی کافی ندارد و بدون مولف و بی‌نام منتشر شده است. اما، لی و همکاران در سال ۲۰۰۰ به بررسی وضعیت آلودگی سرمی در شترمرغ‌های کشتار شده در ایالات اوهایو و ایندیانا در آمریکا پرداختند و با تهیه ۱۶۳ نمونه سرمی و بررسی آلودگی با تست آگلوتیناسیون بر روی پلیت، گزارش کردند که هیچ مورد مثبت از آلودگی با ORT وجود نداشته است (Ley et al., 2000). طبق اطلاعات موجود، تاکنون گزارشی دیگری از وجود یا عدم وجود آلودگی ORT در شترمرغ منتشر نشده است.

در مطالعه اخیر مبنای شناسایی آلودگی به ORT ردیابی ژن 16SrRNA در نای بوده است. با توجه به مطالعات مشابه در ماکیان (Van Empel and Hafez, 1999)، به نظر می‌رسد بهترین مکان انتخابی برای کلونیزه شدن ORT ارگان‌های تنفسی به ویژه نای و ریه باشد. لذا در مطالعه حاضر برای بالا بردن درصد اطمینان در شناسایی موارد مثبت، تمامی نمونه‌های نای به شکل مجزا مورد بررسی قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد ORT در شکل‌گیری تلفات حاد شترمرغ در آن برهه از زمان که نمونه‌گیری انجام شده است، نقش ندارد. به هر حال با توجه به باقی‌ماندن باکتری برای مدت یک الی دو هفته در نای و سپس پاک شدن از سیستم تنفسی، برای ارزیابی امکان آلودگی و یا حساسیت شترمرغ به این عامل مطالعات جامع‌تری مورد نیاز است.

نیز ویروس نیوکاسل ردیابی شده است. قبلاً نیز بیان شده که بیماری نیوکاسل می‌تواند در مزارع پرورشی غیرواکسینه باعث ۸۰ درصد تلفات شود (Shanawany, 1999).

بررسی مزارع پرورشی نشان می‌دهد درصد ابتلا به نیوکاسل در مزارع پرورشی واکسینه نیز قابل توجه است. عدم وجود یک اصول مشخص در روش، زمان و حتی دوز مصرف واکسن نیوکاسل در شترمرغ گاهاً موجب شکست واکسیناسیون شده است. لذا، به‌نظر می‌رسد با توجه به شیوع بالای نیوکاسل در مزارع پرورشی شترمرغ و از طرفی تأیید بیماری‌زایی بالای این ویروس در مطالعات قبلی، لازم است رهیافت‌های مناسب واکسیناسیون علیه این بیماری طراحی و به‌مرحله اجرا گذاشته شود.

سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از تمامی همکاران دامپزشک و شترمرغ‌داران محترم استان اصفهان که در انجام این تحقیق ما را مساعدت کردند، تشکر نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

اخیر نشان داده است این ویروس سهم بالایی در ایجاد تلفات در گله‌های شترمرغ دارد. به‌رحال با توجه به وجود علائم عصبی در برخی موارد و عدم ردیابی ویروس نیوکاسل در این نمونه‌ها، باید به آلودگی با سایر عوامل ایجادکننده علائم عصبی مانند ویروس برنا و آنسفالیت توجه داشت که تاکنون در ایران مورد بررسی قرار نگرفته است.

اگرچه مشاهده علائم عصبی به شکل گردن پیچی یک شاخص مهم در تشخیص بالینی بیماری نیوکاسل است، اما بررسی تاریخچه شترمرغ‌هایی که در PCR مثبت ارزیابی شدند، نشان می‌دهد وجود علائم عصبی یک علامت ثابت در این بیماری نیست و در برخی از شترمرغ‌های مسن هیچ‌گونه علائم بالینی خاص مشاهده نشده است. لذا، به‌نظر می‌رسد شترمرغ‌های مسن نسبت به بروز علائم بالینی نیوکاسل یک مقاومت سنی داشته باشند که برای اثبات این فرضیه مطالعات مجزای دیگری لازم است.

بررسی برنامه واکسیناسیون علیه این بیماری در مزارع پرورشی نمونه‌گیری شده نشان می‌دهد که عدم انجام واکسیناسیون تا سن یک ماهگی می‌تواند منجر به بروز بیماری شود. به‌طوری‌که در مطالعه اخیر ۱۰۰ درصد شترمرغ‌هایی که تا سن یک ماهگی واکسن را دریافت نکرده‌اند، در این سن درگیر بیماری نیوکاسل شده‌اند و حتی در مواردی در سن کمتر از یک ماهگی

منابع

- Alexander, D.J. (2000). Newcastle disease in ostriches (*Struthio camelus*)- a review. *Avian Pathology*, 29(2): 95-100.
- Anonymous. (1995). *Ornithobacterium rhinotrachele* in ostrich. *Khangela Quarterly Report on Aniaml Diseases Surveillance, South Africa*, pp: 11.
- Cadman, H.F., Kelly, P.J., de Angelis, N.D., Rohde, C., Collins, N. and Zulu, T. (1997). Comparison of enzyme-linked immunosorbent assay and haemagglutination inhibition test for the detection of antibodies against Newcastle disease virus in ostriches (*Struthio camelus*). *Avian Pathology*, 26(2): 357-363.
- Chin, R.P., van Empel, P.C.M. and Hafez, H.M. (2013). *Ornithobacterium rhinotracheale* Infection. In: *Disease of Poultry*. Swayne, D.E., Glisson, J.R., McDougald, R., Nolan, L.K, Suarez, D.L. and Nair, V.L. editors. 13th ed., USA: W.B. Publishing, Massachusetts, pp: 830-840.
- Eroksuz, H., Ozbey, G., Cevik, A., Gencer Tarakci, B. and Balik, D.T. (2006). Immunohistochemical, pathological, enzyme linked immunosorbent assay and polymerase chain reaction analysis of experimental *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Revue de Médecinae Véterinaria*, 157(4): 197-202.
- Ghalyanchi-Langeroudi, A., Hosseini, H., Madadgar, O., Karimi, V., Shahraeini, A. and Ghafari, M.M. (2011). Sequence analysis of fusion gene of Newcastle disease viruses isolated from ostrich (*Struthio camelus*) in Iran, 2012. *Iranian Journal of Virology*, 5(3): 12-17.
- Ghiamirad, M., Pourbakhsh, A., Keyvanfar, H., Momayaz, R., Charkhkar, S. and Ashtari, A. (2010). Isolation and characterization of Newcastle disease virus from ostriches in Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 4(23): 2492-2497.
- Hafez, M.H. and Michael L. (2010). *Ornithobacterium rhinotracheale* in Nestling Falcons. *Avian Diseases Digest*, 5(1): e51-e52.
- Huchzermeyer, F.W. and Gerdes, G.H. (1993). Newcastle disease virus isolated from ostriches in South Africa. *Journal of the South African Veterinary Association*, 46: 140.
- Ley, E.C., Morishita, T.Y., Harr, B.S., Mohan R. and Brisker T. (2000). Serologic survey of slaughter-age ostriches (*Struthio camelus*) for antibodies to selected avian pathogens. *Avian Diseases*, 44(4): 989-992.
- Miller, P.J. and Koch, G. (2013). Newcastle disease. In: *Disease of Poultry*. Swayne, D.E., Glisson, J.R., McDougald, R., Nolan, L.K., Suarez, D.L. and Nair, V.L. editors. 13th ed., USA: W.B. Publishing, Massachusetts, pp: 92-120.
- Mirzaei, S., Hassanzadeh, M., Bozorgmehrifard, M.H. and Banani, M. (2011). Isolation and characterization of *Ornithobacterium rhinotracheale* in the commercial turkey, quail flocks and domestic pigeons by bacteriological and molecular methods. *Archives of Razi Institute*, 66(2): 121-126.
- Moreno, B., Chacón, G., Villa, A., Fernández, A., Vela, A.I., Fernández-Garayzábal, J.F., Ferré, S. and Gracia E. (2009). Nervous signs associated with otitis and cranial osteomyelitis and with *Ornithobacterium rhinotracheale* infection in red-legged partridges (*Alectoris rufa*). *Avian Pathology*, 38(5): 341-347.
- Pagés, A., Foix, A., March, R. and Artigas, C. (1995). Estudio bacteriológico de un agente asociado a problemas respiratorios en aves de producción: *Ornithobacterium rhinotracheale*. *Medicina Veterinaria*, 12: 585-588.
- Samberg, Y., Hadash, D.U., Perelman, B. and Meroz, M. (1989). Newcastle disease in ostriches (*Struthio camelus*): field case and experimental infection. *Avian Pathology*, 18(2): 221-226.
- Shanawany, M.M. (1999). Ostrich production systems. Parts 1-2. Food and Agriculture Organization, pp: 256.
- Vandamme, P., Segers, P., Vancanneyt, M., Van hofe, K., Mutters, R. and Hommeez, J. (1994). *Ornithobacterium rhinotracheale* gen. nov. isolated from the avian respiratory tract. *International*

Journal of Systemic Bacteriology, 44: 24-37.

- Van Empel, P. and Hafez, H.M. (1999). *Ornithobacterium rhinotracheale*: a review. *Avian Pathology*, 28: 217-227.
- Wehmann, E., Herczeg, J., Ballagi-Pordány, A. and Lomniczi, B. (1997). Rapid identification of Newcastle disease virus vaccine strains LaSota and B-1 by restriction site analysis of their matrix gene. *Vaccine*, 15(12-13): 1430-1433.

Archive of SID