



ارزیابی اثربخشی واکسن کشته روغنی آنفلوانزا ساخت موسسه رازی بر علیه جدایه های رایج و ویروس آنفلوانزا در شیراز

سمانه هوشمند^۱، محمد جواد مهربانپور^{۲*}، عبدالله رحیمیان^۳

^۱ کارشناس ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، گروه میکروبیولوژی، ^۲ استادیار، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شیراز، گروه ویروس شناسی،
^۳ کارشناس ارشد، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شیراز، گروه ویروس شناسی

چکیده

سابقه و هدف: ویروس آنفلوانزای H9N2 یکی از ویروس های با بیماری زایی کم در پرندگان می باشد. این ویروس به عنوان بومی ایران از سال ۱۳۷۷ صنعت طیور را درگیر کرده و تاکنون خسارات سنگین و قابل ملاحظه ای را موجب شده است. واکسیناسیون، یکی از راهبردهای مقابله با این ویروس می باشد. هدف از این پژوهش، بررسی توانایی واکسن کشته روغنی آنفلوانزا (ساخت موسسه واکسن و سرم سازی رازی) در مقابله با جدایه های در حال گردش این ویروس در شیراز بود.

مواد و روش ها: در این مطالعه ۵۰ قطعه جوجه به ۵ گروه ۱۰ تایی شامل گروه تست و گروه کنترل تقسیم شدند. ۴۰ قطعه جوجه (گروه ۱ تا ۴) با واکسن کشته روغنی آنفلوانزا، ساخت موسسه واکسن و سرم سازی رازی واکسینه شدند و ۱۰ قطعه جوجه به عنوان گروه کنترل واکسینی دریافت نکردند. دو هفته پس از واکسیناسیون همه گروه های واکسینه و کنترل، با ویروس های آنفلوانزای H9N2 جدا شده از مرغدارهای شیراز مربوط به سال ۱۳۸۹ تلقیح شدند. نمونه های سواب نای و کلواک در روزهای ۱، ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۱ پس از تلقیح، جمع آوری و فرایندهای آماده سازی جهت جداسازی ویروس انجام گردید.

یافته ها: نتایج جداسازی ویروس در گروه های واکسینه و کنترل نشان داد که انتشار ویروس از طریق نای و کلواک در گروه ۱، از روز پنجم و در گروه های ۲، ۳ و ۴ از روز هفتم پس از تلقیح کاهش یافت. اما در گروه کنترل تا روز یازدهم پس از تلقیح نیز انتشار ویروس ادامه داشت. نتیجه گیری: نتایج نشان داد که واکسن آنفلوانزای کشته روغنی در کاهش انتشار و رونویسی آنفلوانزای طیور موثر می باشد.

واژگان کلیدی: ویروس آنفلوانزا، واکسن کشته روغنی، آنفلوانزا طیور، سویه H9N9

پذیرش برای چاپ: مهر ۱۳۸۹

دریافت مقاله: مرداد ۱۳۸۹

مقدمه

تیپ A ایجاد می شود. عامل بیماری متعلق به خانواده ارتومیکسووریده می باشد (۱). ویروس های آنفلوانزا براساس واکنش های سرولوژیک دو آنتی ژن سطحی همآگلوتینین (HA) و Hemagglutinin و نورامینیداز (NA) به تیپ های مختلف آنتی ژنیک (NA ۹، HA ۱۶) طبقه بندی

بیماری آنفلوانزای پرندگان یک بیماری ویروسی تنفسی در پرندگان اهلی و وحشی می باشد که توسط ویروس های آنفلوانزای

(* آدرس برای مکاتبه: شیراز، میدان صنایع، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی شیراز، گروه ویروس شناسی
تلفن: ۰۹۱۷۳۱۱۹۲۴
پست الکترونیک: mehrabanpour.j@yahoo.com

تولید موسسه رازی شیراز تهیه گردید.

ج) تهیه جوجه: تعداد ۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه خریداری شد و در شرایط استاندارد در بخش حیوانات موسسه واکسن و سرم‌سازی رازی شیراز تحت مراقبت قرار گرفتند. در هفته دوم از تعدادی از جوجه‌ها به صورت تصادفی خون‌گیری به عمل آمد. سرم این نمونه‌ها جدا شد و به منظور اطمینان از منفی بودن تیتراژ آنتی‌بادی مادری ضد ویروس آنفلوانزا، با استفاده از آزمون HI (Hemagglutination Inhibition) مورد بررسی قرار گرفت.

د) واکسیناسیون: تعداد ۵۰ قطعه جوجه بصورت تصادفی به ۵ گروه ۱۰ تایی تقسیم شد. پس از اطمینان از منفی بودن تیتراژ آنتی‌بادی مادری در هفته دوم، به ۴ گروه واکسن غیر فعال روغنی (کشته) آنفلوانزا (بر اساس پروتکل استاندارد به میزان توصیه شده توسط شرکت سازنده) تزریق گردید. یک گروه ۱۰ تایی غیر واکسینه به عنوان کنترل مثبت در نظر گرفته شد. خون‌گیری در هفته اول تا پنجم از همه گروه‌ها به منظور اندازه‌گیری تیتراژ آنتی‌بادی بعد از واکسیناسیون انجام گردید.

ه) تست ممانعت از هم‌آگلوتیناسیون HI: بر اساس پروتکل OIE 2009 نسبت به انجام آزمایش HI جهت اندازه‌گیری تیتراژ آنتی‌بادی ضد آنفلوانزا در جوجه‌های واکسینه اقدام گردید (۹).

و) تلقیح جدایه‌های ویروس آنفلوانزا: به هر ۴ گروه ۱۰ تایی از جوجه‌های واکسینه شده با ویروس کشته آنفلوانزا، یک جدایه به میزان ۱۰۰ میکرولیتر (به صورت داخل چشمی و بینی) تلقیح شد. به گروه کنترل نیز یک جدایه (مشابه گروه ۴) تلقیح گردید. گروه‌ها به صورت جداگانه در مکان‌های متفاوت در شرایط استاندارد از نظر دما، نور و تغذیه نگهداری شدند.

ز) نمونه‌گیری و آماده‌سازی نمونه‌ها: پس از تلقیح ویروس، به ترتیب در روزهای روزهای ۱، ۳، ۵، ۷، ۹ و ۱۱ به منظور بررسی ویروس آنفلوانزا، اقدام به نمونه‌گیری از کلواک و نای گردید. سواب نای و کلواک در محیط (phosphate buffer saline-Bovine serum albumin) PBS-BSA حاوی آنتی‌بیوتیک‌های پنی‌سیلین (1000 IU/ml) و استرپتومایسین (10 mg/ml) به آزمایشگاه انتقال یافت. پس از ورتکس کردن سواب‌ها، اقدام به جداسازی مایع و انجام سانتریفیوژ با دور ۲۵۰۰ در دقیقه گردید. سپس فیلتراسیون مایع رویی با

می‌شوند (۲). ویروس آنفلوانزای H9N2 از لحاظ ساختار ژنی، دارای ژنوم RNA متشکل از هشت قطعه مجزا است (۲)، به طوری که وقوع تغییرات آنتی‌ژنیکی جزئی در اثر موتاسیون‌های نقطه‌ای در ژن HA و NA آن از مشخصات بارز این ویروس می‌باشد. این امر موجب ایجاد تنوع ژنتیکی در بین ویروس‌های آنفلوانزا بخصوص آنفلوانزای تیپ A شده است (۳). ویروس‌های آنفلوانزای طیور از نظر بیماری‌زایی به دو گروه با بیماری‌زایی کم (Low pathogenic) و بیماری‌زایی زیاد (Highly pathogenic) تقسیم‌بندی می‌شوند. ویروس آنفلوانزای H9N2 یکی از ویروس‌های با بیماری‌زایی کم در پرندگان می‌باشد (۴)، که به عنوان ویروس بومی ایران از سال ۱۳۷۷، خسارات سنگینی را به صنعت طیور وارد نموده است (۷-۵). ویروس H9N2 کشورهای دیگر نظیر پاکستان و هنگ‌کنگ را نیز درگیر کرده است (۵). یکی از راه‌های مبارزه با بیماری، ایمن‌سازی طیور توسط واکسیناسیون می‌باشد. برای کنترل بیماری آنفلوانزا واکسن‌های متعددی مثل واکسن‌های همولوگ غیر فعال، واکسن‌های هترولوگ غیر فعال و واکسن‌های نوترکیب ساخته شده است (۶). در سال‌های اخیر استفاده از واکسن‌های غیر فعال شده روغنی در گونه‌های مختلف پرندگان در کاهش علائم بالینی و کاهش دفع ویروس موثر بوده است. اما با این وجود استفاده از واکسیناسیون، تاکنون موفقیت کامل در زمینه کنترل این ویروس را به دنبال نداشته است (۸-۶). هدف از این پژوهش، بررسی توان واکسن‌های ساخت داخل (واکسن کشته روغنی آنفلوانزا) در کنترل جدایه‌های در حال گردش با استفاده از تلقیح تجربی ویروس‌ها به جوجه‌ها و بررسی توان واکسن در جلوگیری از انتشار ویروس‌های مورد بررسی بود.

مواد و روش‌ها

الف) تهیه جدایه‌های ویروس: از بخش ویروس‌شناسی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تعداد ۴ جدایه ویروس آنفلوانزای H9N2 مربوط به سال ۱۳۸۹ (جداسازی شده از مرغداری‌های مختلف اطراف شیراز) تهیه شد.

ب) تهیه واکسن: یک ویال واکسن روغنی آنفلوانزای طیور ساخت موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی مرند از بخش

استفاده از فیلتر سر سرنگی ۰/۲۲ میکرون انجام گرفت.

ح) جداسازی و تشخیص ویروس آنفلوانزا: میزان ۱۰۰ میکرولیتر از هر یک از نمونه‌های آماده شده به ۵ عدد تخم مرغ جنین دار ۹ تا ۱۱ روزه تزریق گردید. پس از ۷۲ ساعت تخم مرغ‌های حاوی جنین زنده از نظر وجود و تکثیر ویروس با استفاده از آزمایش هماگلوتیناسیون سریع بررسی گردید. برای تایید ویروس آنفلوانزا در نمونه‌های مثبت تست ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) با استفاده از آنتی سرم اختصاصی ضد آنفلوانزا گذاشته شد.

نتایج

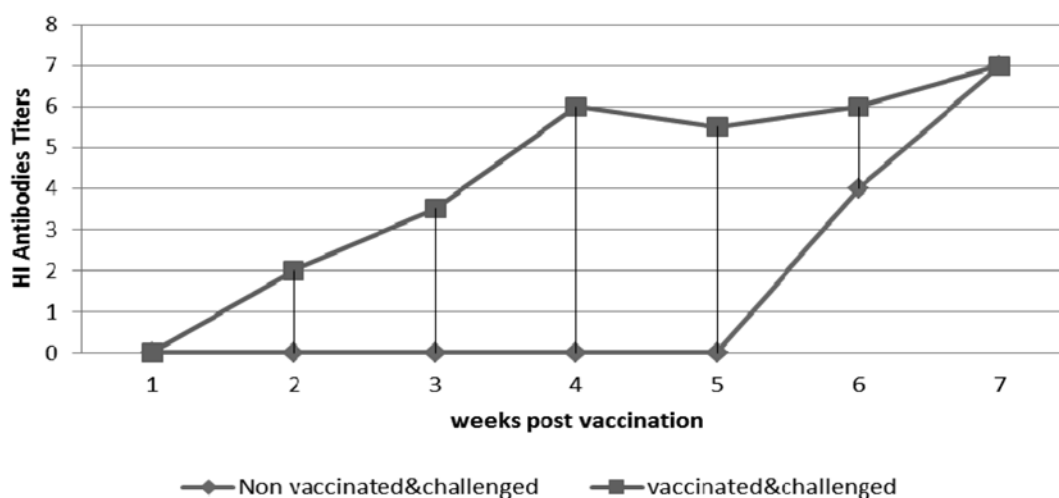
الف) آزمایشات سرمی: در هفته چهارم پس از واکسیناسیون در گروه‌های واکسینه تیترا آنتی بادی به حد نصاب (تیترا ۶) رسید، اما در گروه کنترل تیترا صفر باقی ماند. افزایش تیترا آنتی بادی دو هفته پس از تلقیح ویروس در هر دو گروه مشاهده گردید. نتایج تیترا سرمی حاصل از واکسیناسیون در نمودار ۱ نشان داده شده است.

ب) جداسازی ویروس: تمامی گروه‌های واکسینه و غیر واکسینه در اثر تلقیح ویروس در روز اول تا سوم پس از تلقیح، انتشار از طریق نای و کلوک را نشان داد. اما انتشار ویروس در گروه ۱ از روز پنجم و برای گروه‌های ۲، ۳ و ۴ از روز هفتم کاهش یافت (منفی شدن تست HA در پاساژ اول و نیاز به پاساژ بیشتر جهت مثبت شدن این تست در روزهای آخر نمونه گیری دلالت بر کاهش

انتشار ویروس دارد). اما انتشار ویروس در گروه کنترل تا روز یازدهم پس از تلقیح ادامه داشت. نتایج تست HI با آنتی سرم اختصاصی ضد آنفلوانزا نیز وجود ویروس آنفلوانزا در نمونه‌های سواب را تایید نمود (جداول ۱ و ۲).

بحث

بیماری آنفلوانزای طیور از خرداد سال ۱۳۷۷ ابتدا در استان‌های تهران و قزوین و سپس در اکثر نقاط کشور شایع گردید. ویروس‌های آنفلوانزا طیور جدا شده از مرغداری‌های ایران تاکنون متعلق به تیپ H9N2 و پاتوتیپ آنفلوانزای پرندگان با بیماریزای کم (LPAI) بوده‌اند (۶). این بیماری از نظر اقتصادی بسیار با اهمیت بوده و تاکنون خسارات سنگینی به صنعت طیور وارد کرده است. مهم‌ترین چالش در مورد آنفلوانزا، تغییرات مکرر ژنتیکی بخصوص در ژن‌های گلیکوپروتئین‌های سطحی HA و NA می‌باشد که مطالعات مختلف در این زمینه نشان دهنده آن است. با توجه به مطالعات انجام شده این تنوع آنتی ژنتیکی در ویروس‌های در حال گردش ایران نیز ایجاد شده که می‌تواند در اثر بخشی واکسن‌ها در مقابله با این سویه‌ها اثر منفی بگذارد (۱۰). موسی‌خانی (Mosakhani) در سال ۲۰۰۵ در بررسی مولکولی بر روی ۱۲ جدایه ویروس که در طی سال‌های ۸۳-۸۲ جدا شده از استان‌های مختلف کشور صورت پذیرفت، نشان داد که پروتئین HA در ویروس H9N2 دچار ۱۹ دریف‌ت آنتی ژن شده است (۳).



نمودار ۱: تعیین تیترا سرمی گروه‌های مورد بررسی از واکسیناسیون و تلقیح ویروس (در هفته پنجم پس از واکسیناسیون به هر دو گروه واکسینه و غیر واکسینه، ویروس تلقیح شد).

جدول ۱: نتایج تست HI نمونه‌های نای برای تشخیص H9.

نای	روز اول	روز سوم	روز پنجم	روز هفتم	روز نهم	روز یازدهم
گروه ۱	+	+	-	-	-	-
گروه ۲	+	+	+	-	-	-
گروه ۳	+	+	+	-	-	-
گروه ۴	+	+	+	-	-	-
گروه کنترل	+	+	+	+	+	+

جدول ۲: نتایج تست HI نمونه‌های کلواک برای تشخیص H9.

کلواک	روز اول	روز سوم	روز پنجم	روز هفتم	روز نهم	روز یازدهم
گروه ۱	-	+	-	-	-	-
گروه ۲	-	+	+	-	-	-
گروه ۳	-	+	+	-	-	-
گروه ۴	-	+	+	-	-	-
گروه کنترل	-	+	+	+	-	-

با توجه به مطالب یاد شده به منظور کنترل بیماری و کاهش خسارات ناشی از بیماری، انجام واکسیناسیون بر علیه آنفلوانزای طیور تحت تایپ H9N2 ضروری می‌باشد (۶). واکسیناسیون طیور با واکسن‌های روغنی غیرفعال برای کنترل ویروس‌های آنفلوانزا در کشورهای مختلف از جمله پاکستان، مکزیک و هنگ کنگ انجام می‌شود. در ایران نیز به دنبال شیوع بیماری، از سال ۱۳۷۸ از واکسن‌های روغنی غیرفعال استفاده می‌شود (۵). کوان (Kwon) و همکاران در سال ۲۰۰۸ با سازگار کردن ویروس H9N2 جدا شده از مرغداری‌های کشور کره نسبت به ساخت بذر واکسن اقدام کردند. واکسن یاد شده توانایی جلوگیری از تکثیر ویروس آنفلوانزای در گردش و همچنین سویه وحشی و پاساژهای پایین را داشت (۱۱). وصفی مرندی (Vasfi Marandi) و همکاران در سال ۲۰۰۲ تاثیر واکسن کشته روغنی بر علیه سویه A/Chicken/Iran/ZMT با بیماری‌زایی کم را مورد بررسی قرار دادند. در این تحقیق دو گروه واکسینه و غیر واکسینه با سویه ذکر شده تلقیح شدند. تیترا آنتی‌بادی در هفته دوم پس از تلقیح در هر دو گروه افزایش یافت. نتایج نشان داد که واکسن کشته روغنی H9N2 می‌تواند محافظت خوبی در برابر انتشار ویروس و کاهش تخم مرغ ایجاد کند (۷). زمانی مقدم (Zamani moghadam) و بزرگمهر فرد (Bozorgmehr Fard) در سال ۱۳۸۰ چهار نوع واکسن کشته آنفلوانزا (ساخت داخل و خارج از کشور) را با یکدیگر مقایسه نمودند. چهار گروه جوجه در سنین مختلف، واکسن‌های مورد استفاده در این تحقیق را دریافت نمودند و یک گروه به عنوان کنترل در نظر گرفته شد. نتایج این تحقیق نشان داد که دفع ویروس در گروه کنترل در مقایسه با طیور واکسینه با واکسن کشته آنفلوانزای داخلی حدود ۶ برابر و در مقایسه با واکسن‌های خارجی حدود ۲ برابر بوده است. با توجه به این نتایج آن‌ها اعلام

کردند که واکسن کشته آنفلوانزای داخلی نسبت به واکسن‌های خارجی، تیترا آنتی‌بادی بالاتر و کاهش دفع ویروس را باعث می‌شوند (۶). طی مطالعه ی مقدم پور (Moghadampour) و همکاران، شش گروه از جوجه‌ها با دوزهای متفاوتی از واکسن تجربی آنفلوانزای طیور H9N2 واکسینه شده بودند که نتایج نشان داد، واکسن تجربی با دوز ۱:۱۰ می‌تواند محافظت خوبی در جوجه های SPF ایجاد کند (۱۲). گارسیا (Garcia) و همکاران در سال ۱۹۹۸ و نائم (Naeem) در سال ۱۹۹۸ نیز گزارش کردند که واکسن کشته روغنی محافظت خوبی بر علیه علائم بالینی در شرایط تجربی و مزرعه ایجاد می‌کند (۱۳ و ۱۴).

در این مطالعه نیز ۴ گروه از جوجه‌ها واکسینه شدند و ۴ جدایه ویروس مربوط به سال ۸۹ به آن‌ها تلقیح گردید. یک گروه نیز به عنوان کنترل مثبت جهت ارزیابی واکسن در نظر گرفته شد. تیترا آنتی‌بادی HI در گروه واکسینه از هفته دوم پس از واکسیناسیون شروع به افزایش کرد. کاهش آهسته در هفته پنجم مشاهده گردید که پس از تلقیح ویروس به دلیل توانایی واکسن در ایجاد ایمنی تیترا موثری را نشان داد که این نتایج با گزارش‌های به دست آمده از وصفی مرندی (Vasfi Marandi) و همکاران در سال ۲۰۰۲ مطابقت دارد (۷). نتایج حاصل مربوط به جداسازی ویروس در گروه‌های مختلف نشان داد که واکسن توانسته است در روز پنجم پس از تلقیح ویروس، میزان انتشار ویروس از نای و کلواک را به شدت کاهش دهد اما در گروه کنترل که واکسنی دریافت نکرده بودند انتشار تا روز یازدهم ادامه داشت. نتایج به دست آمده در این تحقیق با گزارش‌های به دست آمده از تحقیقات انجام شده تا حد زیادی همخوانی دارد (۶، ۷ و ۱۲).

نتیجه گیری

به طور کلی نتایج تحقیق حاضر نشان می دهد که واکسیناسیون طیور با استفاده از واکسن ساخت موسسه رازی می تواند زمان انتشار ویروس آنفلوآنزا را تا حد زیادی کم کند و ایمنی مناسبی را در جوجه ها در مقابل سویه در گردش مرغداری ها ایجاد نماید.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از مدیریت و کارکنان موسسه واکسن و سرم سازی رازی شیراز به دلیل حمایت های مالی و اجرایی کمال امتنان را دارند.

References

1. Roussan DA, khassan GY, Rifai RH, Totanji WS, Shaheen IA. Avian influenza virus H9 subtype in poultry flocks in Jordan. *Prev Vet Med.* 2009; 88(1): 77-81.
2. Kwon HJ, Cho SH, Ahn YJ, Kim JH, Yoo HS, Kim SJ. Characterization of a chicken embryo-adapted H9N2 subtype avian influenza virus. *Open Vet Sci J.* 2009; 3: 9-16.
3. Mosakhani F. Recognition of influenza hemagglutinin gene from iranian industrial poultry in the years 1382-1383. MSc Thesis. Islamic Azad University, Science and Research Branch. 2005.
4. Kim MC, Choi JG, Kwon JS, Kang HM, Paek MR, Jeong OM, Kwon JH, Lee YJ. Field application of the H9M2e enzyme-linked immunosorbent assay for differentiation of H9N2 avian influenza virus-infected chickens from vaccinated chicken. *Clin Vaccine Immunol.* 2010; 17(12): 1977-1984.
5. Rajabi Z, Taif Nasrabadi H, Soyofi Khojin AB. In vitro quality evaluation of avian influenza subtype H9N2 oil-emulsion vaccine. *J Vet Res.* 2010; 65(4): 295-299. [In Persian].
6. Zamani Moghaddam AK, Bozorgmehri Fard MH, Vasfi Marandi M, Tabatabaai AM. Comparative experiment study of immunogenesis of different inactivated H9N2 avian influenza vaccine in broiler chickens. *J Facul Vet Med.* 2001; 56(3): 103-107.
7. Vasfi Marandi M, Bozorgmehri Fard MH, Hashemzadeh M. Efficacy of inactivated H9N2 avian influenza vaccine against non-highly pathogenic A/Chicken/Iran/ZMT-173/1999 infection. *Arch Razi Ins.* 2002; 53: 23-26.
8. Vervelde L, de Geus E, Jansen C, Heller DE. Contribution of the genetic background to the immune response of broilers vaccinated or challenged with LPI H9N2. *BMC Proc.* 2011; 5(4): 1-4.
9. Grimes SE. A basic laboratory manual for the small-scale production and testing of I-2 Newcastle disease vaccine. Bangkok: FAO Regional Office for Asia and the Pacific (RAP), 2002.
10. Noroozian H, Vasfi Marandi M, Gorashi SA. Characterization and phylogenetic analysis of neuraminidase gene in isolated avian influenza viruses of H9N2 subtype from Iran. *J Vet Res.* 2010; 65(4): 311-318. [In Persian].
11. Choi JG, Lee YJ, Kim YJ, Lee EK, Jeong OK, Sung HW, Kim JH, Kwon JH. An inactivated vaccine to control the current H9N2 low pathogenic avian influenza in Korea. *J Vet Sci.* 2008; 9(1): 67-74.
12. Moghadam Pour M, Momayez R, Akhavadeghan MA. The efficacy of inactivated oil-emulsion H9N2 avian influenza vaccine. *Iran J Vet Res.* 2006; 7(2): 85-88.
13. Garcia A, Johnson H, Srivastava DK, Jayawardene DA, Wehr DR, Webster RG. Efficacy of inactivated H5N2 influenza vaccines against lethal A/Chicken/Queretaro/19/95 infection. *Avian Dis.* 1998; 42(2): 248-256.

14. Naeem, K. The avian influenza H7N3 outbreak in South Central Asia. Proceeding of the 4th International Symposium on Avian Influenza, Athens, Georgia. US Animal Health Association. 1998; 31-35.



Evaluation of efficiency of killed avian influenza vaccine (produced in Razi vaccine and serum research institute) against current influenza virus isolates in Shiraz, Iran

Samaneh Hooshmand¹, Mohammad Javad Mehrabanpour², Abdollah Rahimian³

¹M.Sc., Department of Microbiology, Jahrom Branch, Islamic Azad University, Jahrom, Iran

²Assistant Professor, Department of virology of Razi vaccine and serum research institute Shiraz, Iran

³M.Sc., Department of virology of Razi vaccine and serum research institute Shiraz, Iran

Abstract

Background and objective: Influenza virus H9N2 is a low pathogenic avian influenza that its first outbreak in Iran was reported in 1998 and caused appreciable economic losses in the poultry industry. Vaccines are one of applicable approach for protect the avians from avian influenza viruses. This study aimed to evaluate a killed avian influenza vaccine (produced in Razi vaccine and serum research institute) against current isolates in Shiraz.

Materials and Methods: In this study, fifty broiler chickens were divided into 5 ten-bird groups including test and control groups. Forty broiler chickens (group 1, 2, 3 and 4) were vaccinated with the killed oil-emulsion influenza vaccine that was obtained from Razi Vaccine and Serum Research Institute. Ten chickens were used as control group (Nonvaccinated group). After two weeks both vaccinated and control chickens were inoculated with H9N2 influenza viruses that were isolated from chickens farms of Shiraz in 2010. The cloacal and tracheal swab samples were collected from chickens at 1, 3, 5, 7, 9 and 11 days after infection and were processed for virus isolation.

Results: The results showed that after five days for group 1 and after seven days for groups 2, 3 and 4, virus shedding into tracheal and cloacal samples was significantly decreased. However, the shedding continued for 11 days in control group.

Conclusion: The results suggested that the killed oil-emulsion influenza vaccine could efficiently decrease AI replication and its shedding in the broiler chickens.

Keywords: Influenza virus, killed oil-emulsion vaccine, avian influenza, H9N9 Strain

Correspondence to: Mohammad Javad Mehrabanpour

E-mail: mehrabanpour.j@yahoo.com

Tel: +989173111924

Journal of Microbial World 2011 3(4): 215-221