Archive of SID

DOI: 10.22092/vj.2018.123431.1502

شماره ۱۲۴ پاییز ۱۳۹۸

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

پایش بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزای مرغان بومی در دو اقلیم متفاوت استان اصفهان

• **عبدالرضا نبی‌نژاد (نویسنده مسئول)**

موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازي رازي، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزي، کرج، ایران

• **علیرضا آذربایجانی**

بخش تحقیقات علوم دامی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزي و منابع طبیعی استان اصفهان،سازمان تحقیقات، آموزش وترویج کشاورزي، اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۰۷-۱۸ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷-۰۹-۲۶

Email: nabinejad@yahoo.com

چکیده

پرورش مرغ‌بومی اشتغالزا، خوداتکا و تامین کننده بخشی از نیاز پروتیینی جوامع روستایی و شهری ایران است، به منظور پایش بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزادرمرغان‌بومی، تعداد ۹۰۰ قطعه جوجه‌بومی ۵۰-۴۵ روزه در۶۰ خانوار روستایی ساکن در یک اقلیم گرم-خشک (شهرستان‌های برخوار و نجف‌آباد) و یک اقلیم سرد-مرطوب (شهرستان‌های خوانسار و سمیرم) استان اصفهان توزیع و به مدت یکسال بدون انجام واکسیناسیون نگهداری شدند، در هفته‌های ۸، ۲۰، ۳۲، ۴۴ و۵۶ برای تعیین عیار آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل وآنفلوانزای H9N2 به روش Hemagglutination Inhibition (HI) از ورید بالی ۱۵٪ از پرندگان خون‌گیری شد؛ با تهیه سواب کلواکی و حلقی نیز سروتیپ‌های H5 و H7 ویروس آنفلوانزا به روش RT-PCR آزمایش شد، طبق نتایج میانگین یکساله عیار آنتی‌بادی علیه نیوکاسل در شهرستان‌های برخوار و نجف‌آباد به ترتیب ۴/۲ و ۶/۵ و در شهرستان‌های خوانسار و سمیرم به ترتیب معادل ۵/۴ و ۵/۸ بود. همچنین میانگین یکساله عیار آنتی‌بادی علیه آنفلوانزا در شهرستان‌های برخوار و نجف‌آباد به ترتیب ۵/۲۰ و ۶/۰ و در شهرستان‌های خوانسار و سمیرم به ترتیب ۵/۵ و ۶/۲ بود. در آزمایش ملکولی به روش RT-PCR تمام نمونه‌های سواب از نظر H5 و H7 منفی بود. بر اساس میانگین یکساله عیارها و ضریب تغییرات آنها، میزان شیوع نیوکاسل و آنفلوانزا در مرغان بومی مستقر در اقلیم گرم و خشک بیشتر بود، همچنین میزان تلفات ناشی از عوامل عفونی و سایر عوامل به ترتیب حدود ۹٪ و ۱۱٪ بود. لذا با توجه به مقتضیات پرورش مرغ بومی در مناطق روستایی، اعمال مدیریت بهداشتی منظم و برنامه پیشگیرانه تلفیقی در مرغان بومی توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: آنفلوانزا، اقلیم، اصفهان، فراوانی، مرغ‌بومی، نیوکاسل

www.SID.ir

Archive of SID

● Veterinary Researches & Biological Products No 124 pp: 19-29

ND and AI diseases investigation in native chickens of two different climates of Isfahan province

By: Nabinejad. A., (Corresponding Author) Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, (AREEO), Karaj, Iran and Azarbayejany A., Animal Science Departement, Isfahan Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.

Received: 2018-10-10 **Accepted: 2018-12-17**

Email: nabinejad@yahoo.com

To study the ND and AI status of native fowl, 900 native chicks aged 8 to 56 weeks in 60 rural households in a warm-dry climate (Borkhar and Najaf Abad cities) and a cold-wet climate (Khansar and Semirom cities) of Isfahan province were distributed and maintained, At 8, 20, 32, 44, and 56 weeks, 15% of the birds were sampled from wing vein and tested by HI method to determine the antibodies against Newcastle and Influenza diseases, meanwhile by providing cloacal and pharyngeal swabs, the highly pathogenic influenza viruses H5 and H7 was tested using RT-PCR, The mean of anti-Newcastle antibody in Borkhar and Najaf Abad cities was 4.2 and 6.5 respectively, and their mean CV% was 63.7% and 31.9% respectively; The mean anti-Newcastle antibody in the Khansar and Semirom was 4.5, 5.8, and the mean CV% was 52.1% and 33.5% respectively. The mean of anti Influenza antibody in Borkhar and Najaf Abad was 5.21 and 0.6 respectively, also the mean CV% was 63.7% and 33.0%, respectively. The mean of anti influenza antibody in Khansar and Semirom was 5.5, 6.2 and the mean CV% was 29.8% and 19.3%, respectively. The molecular tests results of the H5 and H7 was also negative. In overall the incidence rate of birds in the warm and dry climate was more prevalent. The mortality rate due to infectious agents and physical accidents / animal attacks was about 9% and 11%, respectively. In conclusion, it is recommended that combined surveillance and preventive management be applied for native chickens.

Key words: Native Chicken, Newcastle, Influenza, Climate, Isfahan, Abundance

مقدمه

پرورش و نگهداري مرغ و خروس‌بومي از گذشته‌هاي دور به دلايل ارزانی، خوداتکایی و اشتغالزایی در ایران رایج بوده است، مرغ‌بومی (مرغ خانگي، مرغ محلي يا مرغ روستايي) يکی از منابع مهم تغذیه‌ای خانوارهای روستایی و عشايري نيز به شمار می‌رود، علاوه بر همه چیزخواری مرغان‌بومی، تطابق با اقلیم‌های مختلف و مقاومت نسبی به بیماری‌ها از مزایای دیگر پرورش آن‌هاست، نزديك به ۳۰ درصد توليد تخم‌مرغ در كشور هند توسط مرغان بومي روستايي انجام مي‌شود و حتي در كشور پيشرفته‌اي نظير فرانسه با وجود مرغداري‌هاي عظيم صنعتي، در حدود ۳۰ درصد از توليد گوشت مرغ و تخم‌مرغ با روش سنتي توليد و به بازار عرضه مي‌گردد (۳)؛ مرغ و خروس بومی به دلیل چرای آزاد در مزرعه، اصطبل و اطراف آبگیرها به آسانی می‌تواند به ویروس‌های نیوکاسل و آنفلوانزا آلوده شود، اما به دلیل شرایط زیستی راحت، استرس کم علائم بیماری را کمتر ظاهر نموده و گاه به دلیل دور بودن از منظر، علائم بیماری آن از دید انسان مخفی می‌ماند، لذا می‌توانند به عنوان مخزن یا ناقل عمل کنند، ویروس‌های تنفسی طیور در آب و هوای سرد و مرطوب قدرت ماندگاری بیشتری دارند، در عین حال در آب و هوای مرطوب و سرد سیستم ایمنی دستگاه تنفسی طیور عملکرد بهتری دارد، لذا مقایسه کمی و کیفی این دو بیماری در دو اقلیم متفاوت گرم- خشک و سرد -مرطوب مهم و نتیجه بخش می‌باشد (۱۷).

مرغ و خروس بومی از یک سو دارای ارتباط نزدیک با پرندگان و دام‌های دیگر بوده و از سوی دیگر ارتباط نزدیکی با انسان دارد، لذا می‌توانند نقش مهمی در تکثیر و انتشار بیماری‌های قابل انتقال بین پرندگان، دام‌ها و انسان داشته باشند، ویروس‌ها از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای پرندگان بوده و ضمن آسیب به سلامت آن‌ها، سبب کاهش تولیدات و کیفیت آن می‌شوند، ویروس نیوکاسل و ویروس آنفلوانزا از شایع‌ترین و مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای طیور در ایران و جهان می‌باشند، این دو بیماری مسری در همه استان‌ها و اقلیم‌های ایران می‌توانند دستگاه‌های حیاتی مختلف پرنده و بویژه قسمت تحتانی دستگاه تنفسی را متاثر و صنعت پرورش طیور را با مشکل مواجه کنند، از منظر اقتصادی و بهداشت عمومی نیز به علت توانایی ایجاد بیماری و مرگ و میر در پرندگان، قطع تجارت پرندگان، تهدید امنیت غذایی و لزوم اقدامات فنی و کنترلی از قبیل پرداخت غرامت و واکسیناسیون هزینه‌های گزافی را به صنعت طیور وارد می‌کنند (۱۰).

بیماری نیوکاسل عفونت پرندگان با پارامیکسوویروس تیپ یک پرندگان (Avian Paramyxovirus I: APMV-I) از جنس آولاویروس خانواده پارامیکسوویریده می‌باشد، این بیماری دارای تنوع زیادی در نوع، سویه‌های ویروس و شدت بیماری بوده و بر مبنای علائم بالینی در جوجه‌های آلوده به پنج پاتوتیپ تقسیم می‌شوند (۱۵)، شکل ولوژنیک بیماری نیوکاسل (vND) از نظر اقتصادی زیان بارترین آثار را بر صنعت طیور دارد، تحقیقات نشان داده است که این شکل از بیماری در طیور

www.SID.ir

Archive of SID

بومی اندمیک و شایع تر است (۲).
عامل بیماری آنفلوانزای پرندگان، ویروس آنفلوانزا متعلق به خانواده ویروس‌هاي پوشش دار ارتومیکسوویریده واجد یک رشته RNA هشت قطعه‌اي با پلاریته منفی می‌باشد، این ویروس‌ها به سه جنس A ، B و C تقسیم‌بندي شده، که فقط ویروس‌هاي تیپ A می‌توانند در پرندگان ایجاد عفونت طبیعي نمایند. ویروس‌هاي تیپ A بر اساس شاخص‌هاي آنتي‌ژنیکي موجود درد و گلکیوپروتئین سطحي یعني هماگلوتینین (Hemagglutinin:HA) ونورآمینیداز (Neuraminidase:NA) به چندین تحت تیپ مختلف طبقه‌بندي شده‌اند. از نظرحدت وشدت بیماري‌زایي در طیوراهلي، این ویروس‌ها به دو پاتوتیپ (Pathotype) شامل ویروس‌هاي با بیمار یزایي زیاد Highly pathogenic avian influenza virus (HPAI) و ویروسهای با بیماری‌زایی کم Low pathogenic avian influenza virus (LPAI) تقسیم‌بندي شده‌اند، برخی از ویروس‌های HPAI امکان انتقال به سایر پستانداران از جمله خوك و اسب و انسان را دارند (۱۸).
در مطالعه حاضر با توزیع رایگان ۹۰۰ قطعه جوجه بومی در بین خانوارها روستایی، وضعیت بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزا آنها در دو اقلیم گرم-خشک و سرد-مرطوب به روش‌های سرولوژی و مولکولی بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

تعداد ۹۰۰ قطعه جوجه بومی ۴۵ تا ۵۰ روزه بین۶۰ خانوار روستایی توزیع و برای مدت یکسال (۱۳۹۴-۱۳۹۳) نگهداری گردید، جوجه‌ها متعلق به هر دو جنس نر و ماده و توسط مرکز تکثیر، پرورش و اصلاح نژاد مرغ‌بومی استان اصفهان تولید شده بودند، به این منظور بر اساس جدول یک، ابتدا دو اقلیم غالب در استان اصفهان شامل یک اقلیم گرم و خشک (شهرستان‌های نجف آباد و برخوار) ویک اقلیم سرد و مرطوب (شهرستان‌های خوانسار و سمیرم) انتخاب و به طور تصادفی در هر شهرستان سه روستا و در هر روستا پنج خانوار روستایی به عنوان محل نگهداری جوجه‌های بومی انتخاب شد.
در هر خانوار روستایی ۱۵ قطعه جوجه بومی توزیع و از سن هشت تا ۵۶ هفتگی بر اساس شرایط خانوارها و بدون هر گونه اقدام درمانی یا واکسیناسیون نگهداری گردید، به منظور بررسی وضعیت عیار آنتی‌بادی در سنین ۸، ۲۰، ۳۲، ۴۴ و ۵۶ هفتگی با مراجعه به محل نگهداری پرنده، ضمن بررسی و ثبت وضعیت موجود با استفاده از سرنگ پنج میلی‌لیتری از طریق ورید بالی از ۱۵ درصد از پرندگان موجود خون‌گیری و نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل گردید، همچنین به منظور رصد سروتیپ‌های HPAI ویروس آنفلوانزا (H5 و H7) نمونه سواب حلقی و سواب کلواکی جهت آزمایش RT-PCR تهیه و به آزمایشگاه سلولی مولکولی بخش تحقیقات دامپزشکی اصفهان منتقل شد. درآزمایشگاه عیار آنتی‌بادی بر علیه بیماری‌های نیوکاسل و سروتیپ H9N2 آنفلوانزا با استفاده از آزمایش HI تعیین شد (۱)، همچنین با استفاده از کیت استخراج و کیت مولتی پلکس پی سی آر آنفلوانزا ساخت شرکت بیوچک (Bio Chek) سواب‌های حلقی و کلواکی جهت تعیین آلودگی به ویروس آنفلوانزای H5 و H7 آزمایش شد (۵)، در پایان نیز نتایج عیار بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزا به تفکیک هر خانوار ومراتب نمونه‌گیری در مدت یکسال با تعیین میانگین و ضریب تغییرات (CV:Coefficient of Variation٪) موردآنالیز آماری قرارگرفت.

نتایج

در جدول‌های دو تا پنج نتایج میانگین عیار آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزا و ضریب تغییرات عیار در شهرستان‌های مختلف به تفکیک محل و مراتب نمونه‌گیری نشان داده است؛ جدول شش نتایج یکساله کلی میانگین عیار آنتی‌بادی علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزا و میانگین ضریب تغییرات عیار را در اقلیم‌ها وشهرستان‌های مختلف را مقاسیه نموده است. جدول هفت نیز نتایج آزمایش RT-PCR را برای سروتیپ‌های H5 و H7 نشان می‌دهد.
بر اساس نتایج جداول، میانگین یکساله عیار آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل در بین واحدهای پرورش‌دهنده مرغان بومی تحت مطالعه در شهرستان‌های برخوار و نجف‌آباد مستقر در اقلیم گرم و خشک به ترتیب برابر ۴/۲ و ۶/۵ ودر شهرستان‌های خوانسار و سمیرم مستقر در اقلیم سرد و مرطوب به ترتیب برابر ۵/۴ و ۵/۸ بود (شکل ۱)، همچنین میانگین ضریب تغییرات از میانگین (CV٪) یکساله بیماری نیوکاسل در شهرستان‌های برخوار و نجف‌آباد به ترتیب معادل ۶۳/۷٪ و ۳۱/۹٪ و در شهرستان‌های خوانسار و سمیرم به ترتیب معادل ۵۲/۱٪ و ۳۳/۵٪ بود (شکل ۲). میانگین عیار آنفلوانزا بر علیه سروتیپ H9N2

جدول ۱- وضعیت دما ، بارندگی، طول و عرض جغرافیایی اقلیم‌ها و شهرستان‌های مطالعه شده

اقلیم	شهر	متوسط دمای سالانه(سلسیوس)	متوسط بارش سالانه میلی متر مکعب	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی
گرم و خشک	برخوار	۱۷/۸	۱۳۰/۴	۳۵۰۹۲۳	۶۰۸۷۷۴
	نجف آباد	۲۰/۵	۱۱۵/۸	۳۲۶۳۳۱۱	۵۱۳۶۵۵
سرد و مرطوب	سمیرم	۱۱/۶۶	۴۳۲	۳۱۴۲۱۴۸	۵۱۵۷۲۴۵
	خوانسار	۱۳/۵۸	۴۸۰/۷	۳۳۲۳۰۶	۵۰۳۲۱۱۰۸

www.SID.ir

Archive of SID

نیز در شهرستان‌های برخوار و میمه به ترتیب برابر ۵/۲۰ و ۶/۰ و در شهرستان‌های خوانسار و سمیرم به ترتیب برابر ۵/۵ و ۶/۲ بود (شکل ۱)، همچنین در همین گروه میانگین ضریب تغییرات (CV٪) بر علیه سروتیپ H9N2 ویروس آنفلوآنزا در شهرستان‌های برخوار و میمه به ترتیب معادل ۶۳/۷٪ و ۳۳/۴٪ و در شهرستان‌های خوانساروسمیرم به ترتیب معادل ۲۹/۸٪ و ۱۹/۳٪ بود (شکل ۲). در آزمایش مولکولی سواب‌های حلقی و کلواکی هیچ یک از نمونه‌ها از نظر آنفلوانزای فوق حاد H۵ و H۷ مثبت نبود (۱۸)؛ همچنین بررسی تلفات و گزارشات میدانی در طول مدت مطالعه نشان داد که میزان تلفات ناشی از عوامل عفونی حدود ۹٪ و میزان تلفات ناشی از حوادث فیزیکی و حمله حیوانات حدود ۱۱٪ بود.

بحث

به طور کلی بر اساس نتایج بدست آمده در جداول دو تا هفت، می‌توان گفت که کلیه مرغان‌بومی تحت مطالعه از نظر عیار آنتی‌آبادی علیه ویروس‌های نیوکاسل و آنفلوانزا در بازه زمانی یکساله (۱۳۹۴-۱۳۹۳) در هر دو اقلیم و تمامی روستاها شهرستان‌های تحت مطالعه مثبت بوده و در معرض ویروس قرار گرفته‌اند. مقایسه میانگین عیار آنتی‌بادی یکساله و میانگین ضریب تغییرات نتایج در جدول شش حاکی از آن است که وضعیت بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزا در مرغان بومی روستاهای شهرستان‌های مستقر در اقلیم گرم و خشک (برخوار و نجف‌آباد) از شیوع بیشتری برخوردار بوده است؛ شهرستان‌های برخوار و نجف‌آباد از مراکز عمده پرورش طیور صنعتی در استان اصفهان بوده و می‌توان زمینه انتشار بالای ویروس در این شهرستان‌ها را نیز به تاثیر هم افزاینده و متقابل طیور صنعتی و طیور بومی مستقر در روستاها دانست. در واقع وجود مخازن زیادکوتاه مدت و با طول عمر کم مانند طیور صنعتی و نیز مخازن بلند مدت و با طول عمر زیاد طیور بومی به راحتی شرایط مناسبی برای گردش ویروس را فراهم می‌نمایند (۷,۱۴). میانگین عیار آنتی بادی یکساله و میانگین ضریب تغییرات بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزا

جدول ۲- نتایج عیار نیوکاسل و ضریب تغییرات آن در مرغان بومی پرورش داده شده در اقلیم گرم وخشک از ۸ تا ۵۶ هفتگی

شماره محل نمونه‌گری	۸ هفتگی		۲۰ هفتگی		۳۲ هفتگی		۴۴ هفتگی		۵۶ هفتگی		میانگین یکساله عیار نیوکاسل		ضریب تغییرات میانگین عیار (CV٪)	
	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد
۱	۵	۵	۰	۷	۴	۷	۶	۶	۵	۷	۴	۶/۴	۵۸/۶	۱۳/۹
۲	۵	۳	۸	۸	۵	۶	۵	۸	۶	۸	۵/۸	۶/۶	۲۲/۴	۳۳/۱
۳	۰	۳	۰	۷	۷	۶	۶	۷	۶	۸	۳/۸	۶/۲	۹۱/۹	۳۱
۴	۳	۳	۵	۸	۶	۵	۴	۸	۴	۷	۴/۴	۶/۲	۲۵/۹	۳۴/۹
۵	۲	۳	۵	۸	۵	۶	۷	۷	۸	۶	۵/۴	۴/۷	۴۲/۶	۵۱/۱
۶	۰	۲	۵	۷	۳	۴	۶	۶	۴	۷	۳/۶	۵/۲	۳۹/۹	۴۱/۶
۷	۲	۰	۰	۶	۶	۵	۵	۶	۵	۶	۳/۶	۴/۶	۶۹/۷	۵۶/۶
۸	۰	۴	۱۰	۷	۴	۸	۶	۷	۷	۶	۵/۴	۶/۴	۶۸/۷	۲۳/۶
۹	۰	۰	-	۶	۴	۵	۳	۸	۶	۸	۳/۲	۵/۴	۷۶/۹	۶۰/۸
۱۰	۰	۷	۰	۶	۳	۶	۷	۷	۵	۶	۳	۶/۴	۱۰۲	۸/۵
۱۱	۳	۶	۰	۵	۵	۵	۴	۸	۳	۵	۳	۵/۸	۶۲/۳	۲۲/۴
۱۲	۰	۸	۰	۷	۲	۸	۵	۷	۶	۸	۲/۶	۷/۶	۱۰۷	۷/۲
۱۳	-	۶	۶	۶	۸	۶	۳	۸	۴	۵	۵/۲	۶/۲	۴۲/۲	۱۷/۶
۱۴	۷	۷	۰	۸	۹	۶	۸	۸	۷	۶	۶/۲	۷	۵۷/۴	۴۴/۱

www.SID.ir

Archive of SID

درمرغان بومی روستاها شهرستان‌های مستقر در اقلیم سرد و مرطوب (خوانسار و سمیرم) نشان می‌دهد که گردش ویروس در این شهرستان‌ها نیز قابل توجه بوده و علی‌رغم تراکم نسبی پرورش طیور صنعتی، به نظر می‌رسد جمعیت بالای طیور بومی از یک طرف و بقاء ویروس در شرایط اقلیمی سرد و مرطوب از طرف دیگر زمینه مناسبی برای تکثیر و گسترش ویروس‌های نیوکاسل و آنفلوانزا را فراهم نموده است، بر اساس مقایسه کلی ضرایب تغییرات مربوط به میانگین عیار آنتی‌بادی علیه نیوکاسل و آنفلوانزا ملاحظه می‌شود که تقریبا در همه شهرستان‌ها وضعیت CV٪ مربوط به نیوکاسل و آنفلوانزا نزدیک به هم بوده که این موضوع نشان دهنده آن است که احتمالا مدل و الگوی گردش ویروس در میزبانان هم شکل و هم سطح است، به عبارتی می‌توان گفت که ویروس‌های مزبور دارای مخازن و میزبان‌های مشابه و نزدیک به هم هستند (۱۰).

میاحی و همکاران در القاء عفونت تجربی متعاقب بیماری گامبورو در مرغان مادر نژاد بومی نشان دادند که ویروس بیماری گامبورو در جوجه‌های مادر بومی می‌تواند منجر به حساسیت بیش‌تر آنها به بیماری نیوکاسل و تشدید بیماری‌زایی و دفع ویروس شود که این امر ناشی از عملکرد ضعیف یا ناموثر سیستم ایمنی متعاقب مواجهه با عوامل سرکوبگر سیستم ایمنی است (۱۵).

مطالعات سرولوژیک و مولکولار بر روی مرغان بومی زنده مستقر در اماکن پرنده فروشی در باتانگاس فیلیپین در سال ۲۰۱۷ نشان داد که ۹۷/۹۶٪ از این پرندگان دارای عیار مثبت و آلودگی به ویروس نیوکاسل بوده‌اند؛ لذا توصیه موکد بر معاینات بالینی منظم و واکسیناسیون این پرندگان انجام شده است (۱۶). مطالعات مولکولار و فیلوژنیک ویروس نیوکاسل در پرندگان آبزی کوییزلند شمالی استرالیا در سال ۲۰۱۲ نشان داد که ویروس نیوکاسل جدا شده قرابت بسیاری به ویروس سوش واکسینال دارد، میزان ویروس‌های جدا شده از اردک‌های جوان ۲/۷ برابر اردک‌های پیر بوده است (۱۳)، این موضوع موید ارتباط نزدیک پرندگان آبچر و بخصوص اردک‌ها با اماکن پرورش طیور صنعتی و بومی است و

جدول ۳- نتایج عیار آنفلوانزا سروتیپ H9N2 و ضریب تغییرات آن در مرغان بومی پرورش داده شده در اقلیم گرم وخشک از ۸ تا ۵۶ هفتگی .

شماره محل نمونه‌گری	۸ هفتگی		۲۰ هفتگی		۳۲ هفتگی		۴۴ هفتگی		۵۶ هفتگی		میانگین یکساله عیار نیوکاسل		ضریب تغییرات میانگین عیار (CV٪)	
	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد	برخوار	نجف اباد
۱	۸	۷	۶	۷	۶	۶	۴	۶	۵	۶	۵/۸	۶/۴	۵۸/۶	۴۱/۵
۲	۸	۶	۵	۷	۴	۵	۶	۸	۶	۵	۵/۸	۶/۲	۲۲/۴	۳۵/۲
۳	۰	۶	۶	۷	۴	۷	۷	۴	۶	۷	۴/۶	۶/۲	۹۱/۹	۱۵/۹
۴	۷	۵	۴	۸	۵	۶	۴	۶	۶	۷	۵/۲	۶/۴	۲۵/۹	۲۳/۵
۵	۶	۶	۵	۷	۶	۵	۵	۵	۵	۶	۵/۴	۵/۸	۴۲/۶	۲۴/۴
۶	۴	۴	۶	۸	۵	۵	۶	۷	۶	۶	۵/۴	۶	۶۳/۹	۵۶/۴
۷	۴	۵	۴	۶	۶	۵	۵	۶	۴	۷	۴/۶	۵/۸	۶۹/۷	۷۲/۷
۸	۵	۸	۶	۶	۶	۶	۶	۷	۶	۶	۵/۸	۶/۶	۶۸/۷	۴۸/۵
۹	۶	۵	-	۸	۴	۶	۷	۵	۶	۵	۵/۷	۵/۸	۷۶/۹	۳۳/۱
۱۰	۵	۶	۰	۴	۵	۴	۶	۷	۴	۶	۴	۵/۴	۱۰۲/۷	۳۸/۵
۱۱	۶	۵	۶	۶	۶	۶	۴	۵	۴	۴	۵/۲	۵/۲	۶۲/۳	۱۶/۱
۱۲	۶	۸	۴	۵	۴	۵	۴	۶	۵	۵	۴/۶	۵/۸	۱۰۷/۴	۳۷/۳
۱۳	۴	۶	۶	۷	۶	۶	۵	۸	۶	۸	۵/۴	۷	۴۲/۲	۱۷/۲
۱۴	۶	۶	۵	۶	۷	۷	۴	۶	۵	۵	۵/۴	۶	۵۷/۴	۸/۲

www.SID.ir

Archive of SID

طبیعتا نشان‌گر نقش این پرندگان در تکثیر و انتشار ویروس نیوکاسل و آنفلوانزا می‌باشد. از آنجا که عوامل موثر در گسترش و گردش ویروس مانند تراکم طیور بومی، گونه پرنده‌های پرورشی، نوع سیستم پرورش و نگهداری ارتباط و تماس بین طیور در روستاهای مختلف کشور، تراکم مزارع پرورشی طیور صنعتی، ارتباط بین پرورش‌دهندگان طیور صنعتی و افراد روستا، استفاده از کارگران بومی در مزارع پرورش صنعتی و عرضه طیور صنعتی به صورت زنده در روستاها و یا بازارهای زنده فروشی در مناطق مختلف کشور با هم تفاوت دارد، همچنین چون شرایط اقلیمی و آب و هوایی و محیطی متفاوت نقش بسیار زیادی در بقا و گردش ویروس در نقاط مختلف کشور دارد، لذا در مناطق مرطوب‌تر به علت کارآیی مطلوب سیستم موکوسیلیاری تنفسی پرنده و رسوب ریز قطره‌ها در بستر به دلیل افزایش وزن، میزان شیوع بیماری‌های ویروسی کمتر است، ضمن آنکه تفاوت سطح ایمنی اکتسابی و وجود مقاومت ژنتیکی در بین گونه‌ها و نژادهای مرغان بومی نیز قابل توجه است (۱۲).

در بررسی HI نیوکاسل۲۹۲ مزرعه مرغ‌بومی مستقر روستاها و اماکن فروش که جمعا حدودا ۸۰٪ تولیدات طیور غنا را تشکیل می‌دهند، ۸۱/۸٪ از طیور تحت مطالعه مثبت بودند و میزان شیوع و تنوع عیار آنتی‌بادی در مرغان بومی مستقر در خانوارها بیشتر از اماکن فروش پرنده بود (۴). مطالعه سرولوژیک نیوکاسل در مرغان بومی غیر واکسینه مستقر در روستا و اماکن زنده فروشی در ایالت زامفرای نیجریه نشان داد که ۳۵/۸٪ از موارد مثبت متعلق به پرندگان مستقر در اماکن زنده فروشی و ۲۶/۸٪ از موارد مثبت مربوط به پرندگان مستقر در روستاها بود (۱۴). مقایسه حساسیت مرغان بومی واکسینه شده و غیر واکسینه منطقه کیبوتو موزامبیک در برابر نیوکاسل نشان داد که مرغان بومی غیر واکسینه پنج برابر مرغان بومی واکسینه شده در معرض خطر مرگ و میر بیماری نیوکاسل قرار دارند (۱۲).

بررسی سرو اپیدمیولوژیک آنفلوانزا H9N2 در سال ۹۲-۹۳ نشان داد که در همه‌ی مزارع پرورش طیور گوشتی و بیشتر مزارع پرورش طیور

جدول ۴- نتایج عیار نیوکاسل و ضریب تغییرات آن در مرغان بومی پرورش داده شده در اقلیم سردومرطوب از ۸ تا ۵۶ هفتگی.

شماره محل نمونه‌گری	۸ هفتگی		۲۰ هفتگی		۳۲ هفتگی		۴۴ هفتگی		۵۶ هفتگی		میانگین یکساله عیار نیوکاسل		ضریب تغییرات میانگین عیار (CV٪)	
	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم
۱	۸	۵	۵	۴	۷	۳	۰	۸	۴	۶	۴/۸	۵/۲	۶۴/۸	۴۱/۵
۲	۸	۶	۵	۳	۵	۳	۱	-		۵	۵	۴/۲۵	۵۰/۹	۳۵/۲
۳	۷	۵	۲	۷	۶	۵	۲	۵	۷	۶	۴/۸	۵/۶	۵۳/۹	۱۵/۹
۴	۹	۴	۴	۶	۷	۷	۰	-	۶	۷	۵/۲	۶	۶۵/۷	۲۳/۵
۵	۹	۳	۱۲	۵	۷	۶	۲	۶	۸	۵	۷/۶	۵	۶۷/۹	۲۴/۴
۶	۸	۰	۵	۷	۵	۷	۰	۷	۴	۶	۵/۲۵	۵/۴	۵۴/۸	۵۶/۴
۷	۸	۰		۳	۷	۷	۰	۹	۶	۵	۵/۲۵	۴/۸	۶۸/۴	۷۲/۷
۸	۱۰	۲	۵	۴	۷	۷	۱	۹	۵	۸	۵/۶	۶	۵۸/۶	۴۸/۵
۹	۱۰	۴	۵	۶	۶	۶	۳	۱۰	۷	۷	۶/۲	۶/۶	۴۱/۷	۳۳/۱
۱۰	۴	۳	۶	۵	۷	۶	۰	۹	۶	۸	۴/۶	۶/۲	۶۰/۷	۳۸/۵
۱۱	۸	۵	۶	۷	۶	۷	۳	۷	۷	۸	۶	۶/۸	۳۱/۱	۱۶/۱
۱۲	۷	۳	۴	۴	۶	۷	۰	۸	۶	۷	۴/۶	۵/۸	۶۰/۷	۳۷/۳
۱۳	۶	۶	۶	۵	۷	۶	۴	۷	۶	۸	۵/۸	۶/۶	۱۸/۸	۱۷/۲
۱۴	۸	۷	۵	۷	۷	۷	۱	۶	۵	۶	۵/۲	۶/۶	۵۱/۶	۸/۲

www.SID.ir

Archive of SID

تخم‌گذار صنعتی استان‌های کشور عیار آنتی‌بادی علیه ویروس وجود دارد و هر دو نوع این مزارع از نظر سطح امنیت زیستی در سطح پایینی قرار دارند، این احتمال وجود دارد که ویروس H9N2 بین مزارع پرورشی و طیور بومی در گردش باشد و طیور بومی به عنوان مخزن نقش مهمی در بقای این ویروس و اپیدمیولوژی آن داشته باشند (۶)؛ همچنین در مطالعه مقطعی سرواپیدمیولوژی آنفلوانزای H9N2 مشخص شد که وضعیت آب و هوایی منطقه به عنوان یک عامل مخاطره آمیز بوده و میزان شیوع در روستاهایی که در منطقه خزري قرار دارند، به طور بسیار معنی‌داري کمتر از روستاهایی است که در سایر مناطق آب وهوایی قرار دارند ($p<۰/۰۰۱$)، در روستاهای نزدیک به رودخانه، تالاب و دریاچه تا شعاع ۳ کیلومتري، میزان شیوع به طور معنی‌داري کمتر از سایر روستاها بود. در روستاهایی که پرندگان تلف شده به مصرف گوشتخواران می‌رسید میزان شیوع به طور معنی‌داري ($P=۰/۰۴۴$) بیشتر بود؛ میزان شیوع در مورد سایر متغیرهاي مورد بررسی شامل منبع تأمین آب روستا، قرار گرفتن روستا در مسیر وزش بادهاي موسمی، دفن بهداشتی پرندگان تلف شده و وجود واحدهاي پرورشی صنعتی در نزدیک روستا تفاوت آماري معنی‌داري نداشت (۷).

در مطالعه سرولوژیک طیور بومی که در اطراف دریاچه مهارلو انجام شد، میزان شیوع ویروس آنفلوانزاي H9N2 برابر ۸۱/۶٪ بیان شد، همچنین در مطالعه طیور بومی دزفول، ۷۸/۲٪ اردک‌ها و ۶۲/۹٪ مرغان از نظر تیتر سرمی مثبت بودند، که گردش ویروس در محیط دلیل مواجهه مکرر پرندگان و مثبت شدن عیار سرمی آن‌ها بوده است (۱۱).

مرور تحقیقات انجام شده روی آنفلوانزای پرندگان نشان می‌دهد که اگرچه ردپایي از ویروس آنفلوانزاي طیور در سال‌هاي دور در بین طیور ایران مشهود بوده است ولي اولین جداسازی ویروس آنفلوانزاي H9N2 در سال ۱۳۷۷ و متعاقب همه‌گیري در واحدهاي صنعتي پرورش طیور در دو استان تهران و قزوین و سپس کل کشور انجام پذیرفت، دلایل اصلی انتشار سریع ویروس، عدم رعایت مقررات قرنطینه در مرزهاي

جدول ۵- نتایج عیار آنفلوانزا سروتیپ H9N2 و ضریب تغییرات آن درمرغان‌بومی پرورش داده شده در اقلیم گرم وخشک از ۸ تا ۵۶ هفتگی

شماره محل نمونه‌گری	۸ هفتگی		۲۰ هفتگی		۳۲ هفتگی		۴۴ هفتگی		۵۶ هفتگی		میانگین یکساله عیار نیوکاسل		ضریب تغییرات میانگین عیار (CV٪)	
	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم	خوانسار	سمیرم
۱	۵	۵	۶	۷	۷	۵	۰	۵	۵	۵	۴/۶	۵/۶	۵۸/۷	۱۵/۹
۲	۱۱	۵	۵	۷	۵	۵	۴	۵	۴	۶	۵/۸	۵/۷	۵۰/۸	۱۶/۶
۳	۷	۹	۴	۶	۶	۷	۸	۷	۵	۴	۶	۶/۸	۲۶/۳	۲۸/۲
۴	۷	۶	۵	۷	۷	۵	۵	۵	۶	۵	۶	۵/۷	۱۶/۶	۱۶/۶
۵	۷	۴	۴	۵	۷	۵	۴	۵	۵	۸	۵/۴	۵/۸	۲۸	۲۸/۳
۶	۵	۷	۶	۶	۵	۶	۵	۶	۵	۵	۵/۲	۶	۸/۶	۱۱/۷
۷	۴	۰		۵	۷	۶	۴	۶	۶	۶	۵/۶	۶/۲	۵۴/۶	۳۶/۷
۸	۳	۶	۴	۸	۷	۶	۵	۶	۸	۵	۵/۴	۶/۲	۳۸/۴	۱۷/۶
۹	۸	۸	۴	۷	۶	۶	۶	۶	۵	۸	۵/۸	۶/۸	۲۵/۵	۱۹/۱
۱۰	۴	۵	۴	۸	۷	۶	۵	۶	۴	۷	۴/۸	۶	۲۷/۱	۲۶/۳
۱۱	۴	۶	۶	۸	۶	۵	۵	۵	۵	۸	۵/۲	۶/۸	۱۶	۱۹/۱
۱۲	۴	۵	۶	۷	۶	۶	۸	۶	۴	۸	۵/۶	۶/۴	۲۹/۸	۱۷/۸
۱۳	۵	۸	۶	۸	۷	۷	۶	۷	۵	۷	۵/۸	۷/۴	۱۴/۴	۷/۴
۱۴	۴	۷	۶	۶	۷	۵		۵	۶	۶	۵/۶	۶	۲۲/۲	۱۱/۷

www.SID.ir

Archive of SID

بين‌المللي و استاني، ضعف اصول بهداشتی و حساسیت پرندگان بود، تحقیقات فیلوژنیک نشان داد که به احتمال قوي منشاء آلودگي کشور پاکستان بوده است، علي‌رغم اينكه جدايه‌هاي ايراني ويروس آنفلوانزاي H9N2 جزء ويروس‌هاي با بيماري‌زايي كم طبقه‌بندي شد ولي در شرايط مزرعه با همراهي ساير عوامل بيماري‌زا علائم باليني شديد، تلفات بسيار زياد و كاهش شديد توليد تخم‌مرغ را نشان داد، بررسی‌ها گواه آنستکه واكسيناسيون بر ضد ويروس آنفلوانزاي H9N2 باعث كاهش دفع ويروس شده است ولی با گذشت زمان به دلیل تغییر در برخی از ژن‌های بیماري‌زا اثربخشي واكسن‌ها كاهش يافت، به دليل نقش مهم پرندگان وحشي در انتشار آلودگي در اجراي برنامه‌هاي مراقبت بيماري توجه خاص به اين پرندگان توصيه گرديده است (۱۰).

در بررسی سرولوژیک HI سروتیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا در ۲۵ مزرعه مرغ گوشتی شمال غرب ایران، از ۳۱۰ نمونه خون ۴۰/۶٪ مثبت تشخیص داده شد. رعایت ضوابط بهداشتی، پایش و مراقبت دائم و کاربرد واکسن موثر بهترین ابزار برای پیشگیری از شیوع عفونت‌های ناشی از ویروس آنفلوانزاي H9N2 گزارش شده است (۸).

گو و همکاران در بررسی وضعیت موجود ویروس آنفلوانزاي H9N2 در چین، ضمن اشاره به اهمیت گردش این ویروس در پرندگان مختلف و از جمله طیور بومی آبچر و غیر آبچر، خاستگاه اولیه این ویروس را ساب تیپ جدا شده از بوقلمون (H9N2-A/turkey/Wisconsin/1/1966) برشمرده و گردش دائم این ویروس را در آسیا، خاور میانه و شمال آفریقا از سال ۱۹۹۰ گزارش نمودند، ایشان قابلیت ایجاد بیماری توسط ویروس H9N2 در پرندگان و گونه انسان را متذکر و اشاره نمودند که این ویروس می‌تواند قسمتی یا حتی تمامی مجموعه ژن‌های کشنده داخلی ویروس‌های H10N8, H7N9 و H5N6 را باز آرایی نماید (۹).

یکی از مشکلات پرورش طیور صنعتی و بومی در ایران ایجاد کمپلکسی از بیماری‌های ویروسی از جمله نیوکاسل، آنفلوانزا، برونشیت و یا حتی گامبورو در طیور به طور همزمان است (۸، ۱۵)، این حالت سبب پیچیده شدن تشخیص عامل و افزایش تلفات و هزینه‌های کنترل و پیشگیری شده و زمینه ایجاد ویروس‌های جدید و نوترکیب وحشی را فراهم می‌نماید، لذا رعایت اصول بهداشتی و بیوسکیوریتی در تمام روش‌های پرورش و نگهداری طیور اهلی و وحشی امری لازم و ضروری است (۹).

نتیجه‌گیری کلی

با توجه به گستردگی پرورش و نگهداری طیور بومی بویژه مرغ و خروس بومی و طول عمر زیاد آن‌ها، همچنین نقش ثابت شده آن‌ها در تکثیر

جدول ۶- مقایسه کلی نتایج عیارها و میزان تغییرات در هر یک شهرستان های تحت مطالعه

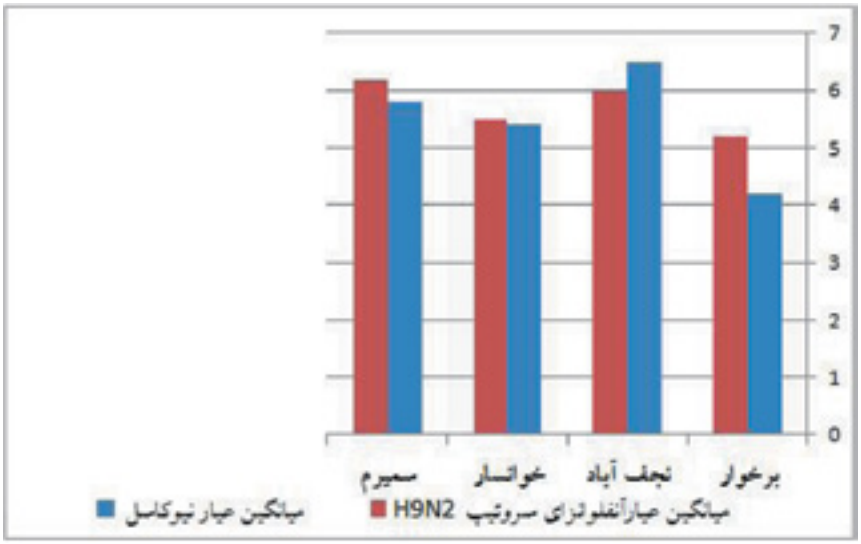
نوع بیماری		وضعیت نیوکاسل		وضعیت آنفلوآنزا H9N2	
نوع اقلیم	شهرستان	میانگین عیار یکساله	میانگین یکساله ضریب تغییرات (CV٪)	میانگین عیار یکساله	میانگین یکساله ضریب تغییرات (CV٪)
گرم و خشک	برخوار	۴/۲	٪۶۳/۷	۵/۲	٪۶۳/۷
	نجف آباد	۶/۵	٪۳۱/۹	۶	٪۳۳/۴
سرد و مرطوب	خوانسار	۵/۴	٪۵۲/۱	۵/۵	٪۲۹/۸
	سمیرم	۵/۸	٪۳۳/۵	۶/۲	٪۱۹/۳

جدول ۷- نتایج آزمایش مولکولی آنفلوانزای سروتیپ H5 و H7 در مرغان تحت مطالعه در طول مدت پرورش

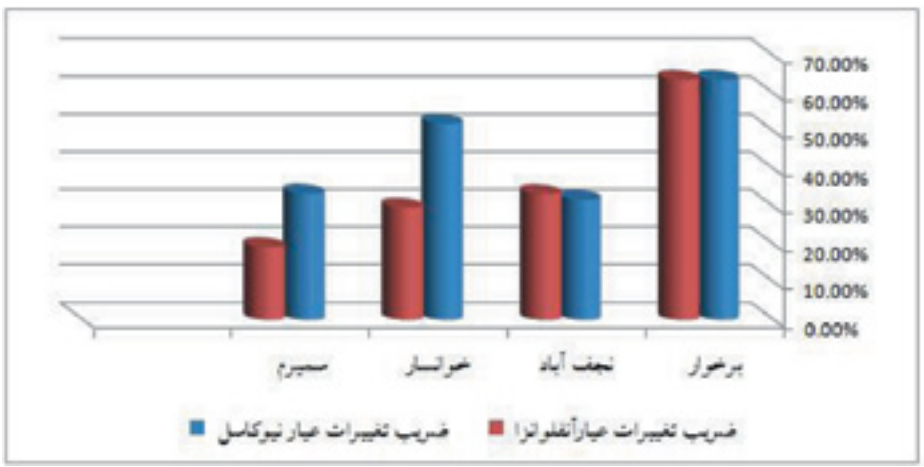
نوع اقلیم	اقلیم گرم وخشک		اقلیم سرد و مرطوب	
نوع سروتیپ	برخوار	نجف آباد	خوانسار	سمیرم
H5	Negative	Negative	Negative	Negative
H7	Negative	Negative	Negative	Negative

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱- نمودار مقایسه ای میانگین عیار آنتی بادی علیه بیماری های نیوکاسل و آنفلوانزا در مرغان بومی



شکل ۲- نمودار مقایسه ای ضریب تغییرات عیار آنتی بادی علیه بیماری های نیوکاسل و آنفلوانزا در مرغان بومی

www.SID.ir

Archive of SID

و انتشار ویروس‌ها مانند سایر انواع طیور صنعتی و بومی اجراي مداوم برنامه مراقبت بيماري ويروسی طيور بويژه نيوكاسل و آنفلوانزا در كل كشور و در سطوح مختلف اعم از واحدهاي پرورش صنعتي، طيور خانگي و پرندگان وحشي بمنظور آگاهي از تغييرات ايجاد شده در ويروس‌هاي در گردش و اتخاذ تصميمات پيشگيرانه و درماني مناسب ضروري بوده (۱۰)، و اجرای تحقیقات هدفمند، معاینات بالینی منظم، برنامه‌های تلفیقی معدوم‌سازی و واکسیناسیون و قرنطینه‌ای توصیه می‌شود (۱۶).

تشکر و قدردانی

نویسنده بر خود لازم می‌داند از حمایت‌های مالی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی و تصویب و تایید پروژه مربوطه تقدیر نماید.

منابع مورد استفاده

1- Afonso C., P. Miller, C. Grund, G. Koch, B. Peeters, W. Selleck and G. Srinivas. Section. 2018. Newcastle disease (infection with Newcastle disease virus) 555-574. In: OIE, editor. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. The World Organisation for Animal Health.

2- Awan M., M. Otte and A. James. 1994. The epidemiology of Newcastle disease in rural poultry: a review. *Avian Pathology* 23,405-423.

3- Azarbayejani A., A. Gheisari and A. Nabinejad. 2014. Evaluation of native chicken performance in rural areas of Isfahan province. *Animal Science Journal* (in persian) 106,147-158.

4- Boakye O., B. Emikpe, R. Folitse, S. Bonnah, K. Adusei, M. Owusu and V. Oyebanji. 2016 Serological Detection of Newcastle Disease Virus Antibodies in Local Chickens and Guinea Fowls in the Area of Kumasi, Ghana Brazilian. *Journal of Poultry Science* 18,087-092.

5- Chaharaein B., A. Omara, B. Ainia, K. Yusoffb and S. Hassand. 2009 Detectionof H5,H7and H9 subtypes of avian influenza viruses by multiplex reverse transcription-polymerase chain reaction. *Microbiological Research* 164,174-179.

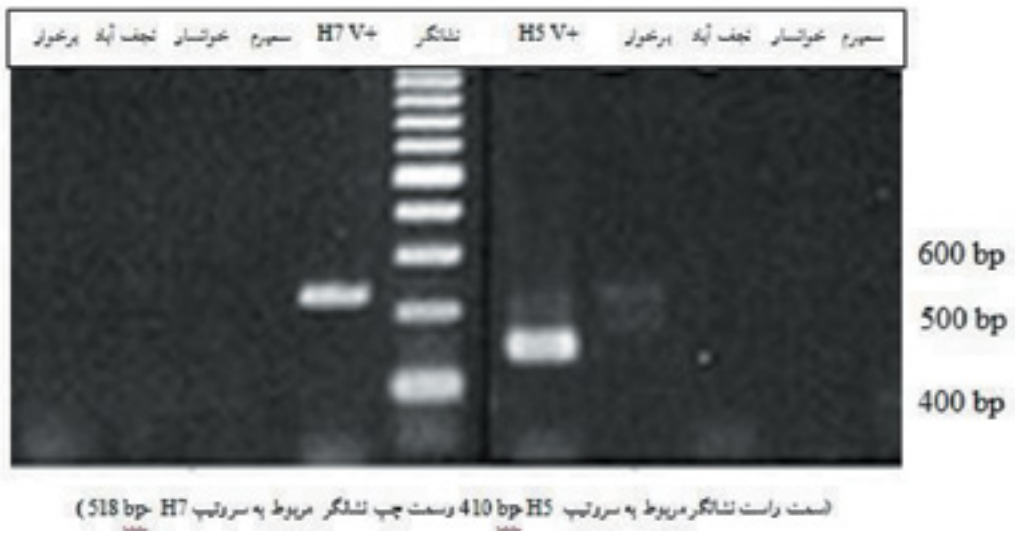
6- FallahMehrabadi M., A. Bahonar, A. Sadrzadeh, M. VasfiMarandi and F. Tehrani. 2016. Spatial pattern and cluster analysis of avian influenza H9N2 subtype in backyard poultry, Iran, 2014 and 2015. *Veterinary Research and Biological Products* 114,2-13.

7- FallahMehrabadi M., A. Bahonar, F. ZaynolabediniTehrani, M.V. Marandi, S. Aadrzadeh, S. Ghafouri, M. Meshkat and F. Masror. 2015 Seroepidemiology of Avian Influenza (H9N2) in RuralDomestic Poultry of Iran: A Cross-Sectional Study. *Iranian Journal of Epidemiology* 10,1-9.

8- Ghaniei A., M. Allymehr and A. Moradschendi. 2013. Seroprevalence of avian influenza (H9N2) in broiler chickens in Northwest of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* 3,822–824.

9- Gu M., L. Xu, X. Wang and X. LiuEmail. 2017. Current situation of H9N2 subtype avian influenza in China. *Veterinary Research* 48,1-10.

10-Hablolvarid M. 2015. Influenza disease: a review on epidemiological studies, pathogenesis and genetically alteration upon the avianinfluenza viruses circulating in Iran, on the field of veterinary



(سمت راست نشانگر مربوط به سروتیپ H5 410 bp و سمت چپ نشانگر مربوط به سروتیپ H7 518 bp)

شکل ۳- تصویر آزمایش RT-PCR برای تشخیص ویروس آنفلوانزا با نتیجه منفی

www.SID.ir

Archive of SID

medicine and medicine in two recent decades. *Veterinary Research and Biological Products* 110,17-31.

11- Hadipur M. and H. Golchin. 2011. Serosurvey Of H9N2 Avian Influenza Virus During Respiratory Disease Outbreak In Broiler Flock In Dezful, Southern Iran. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 14,62-65.

12- Harrison J. and R. Alders. 2010. An assessment of chicken husbandry including Newcastle disease control in rural areas of Chibuto, Mozambique. *Tropical Animal Health and Production* 42,729-736.

13- Hoqueabc M., G. Burgessa, D. Karo-Karoa, A. Cheama and L. Skerrattb. 2012. Monitoring of wild birds for Newcastle disease virus in north Queensland, Australia. *Preventive Veterinary Medicine* 103,49-62.

14- Jibri A., J. Umoh, J. Kabir, L. Saidu, A. Magaji, M. Bello and A. Raji. 2014. Newcastle Disease in Local Chickens of Live Bird Markets and Households in Zamfara State, Nigeria. *International Scholarly Research Notices Epidemiology* 2014,1-4.

15- Mayahi M., Z. Boroomand, R. Jafari and H. Zahabi. 2016. Study on experimental infection of Newcastle Disease virus in local breeder chicks infected with infectious bursal disease virus. *Veterinary Researches and Biological Products* 117,11-23.

16- Resplandor G.J.O. and D.V. Umali. 2017. Molecular and Serological Detection of Newcastle Disease Virus in Native Chickens from Selected Live Bird Markets in Batangas. *Philippine Advances in Animal and Veterinary Sciences* 6,1-7.

17- Saif Y., A. Fadly, J. Glisson, L. McDougald, L. Nolan and D. Swayne. 2013. Diseases of Poultry 13th ed. Blackwell Publishing Ltd. Iowa.

18- Torogh R. and S. Pourbakhsh. 1387 Development of RT-PCR for detection of nucleoprotein type A and H5, H7, H9 subtypes of highly pathogenic avian influenza viruses and its application among suspicious avian influenza cases in Iran. *Pajouhesh Va Sazandegi* (In persian) 78,139-146.

www.SID.ir