DOI: 10.22092/VJ.2021.352092.1777
شماره ۱۳۴ بهار ۱۴۰۱
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

مقایسه اثربخشی و قدرت تکثیر واکسن‌های نیوکاسل درحضور تیتر بالای آنتی‌بادی در گله‌های تخم‌گذار تجارتی

• **حسین حسینی**
گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
• **فرزاد جعفری**
گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی ،دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ، تهران ، ایران
• **محمدحسین فلاح مهرابادی**
بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **محمدرضا قرآنی**
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران
• **لیلا آقائیان، زهرا ضیافتی‌کافی، ناصر صدری و امیر مدیری‌همدان**
گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی ،دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ، تهران ، ایران
• **آرش قلیان چی لنگرودی (نویسنده مسئول)**
گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی ،دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ، تهران ، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹-۰۷-۱۳ تاریخ پذیرش:۱۳۹۹-۱۰-۱۸
Email: ghalyana@ut.ac.ir

چکیده

بیماری نیوکاسل یکی از بیماری‌های مهمی است که گونه‌های مختلف پرندگان را درگیر می‌نماید. واکسن‌های مختلف زنده و کشته جهت کنترل این بیماری استفاده می‌شود که دارای تروپیسم و حدت متفاوت می‌باشند. جهت بررسی اثربخشی بر روی افزایش تیتر و امکان تکثیر ویروس واکسن در حضور تیتر بالای آنتی‌بادی نیوکاسل، در این مطالعه پنج واکسن B1، ویتاپست، I2، لاسوتا، کلون لاسوتا در گله تخم‌گذار ۲۵ هفته (هر گروه ۵۰ عدد مرغ) و با روش آشامیدنی در پنج سالن مجزای همسن مورد مقایسه قرار گرفتند. قبل از شروع آزمایش و سه هفته بعد از واکسیناسیون خون‌گیری به عمل آمد. پنج روز بعد از واکسیناسیون از مرغ‌های علامت زده شده جهت تایید تکثیر واکسن، سواپ حلقی گرفته شد. آزمون HI و آزمون Real Time RT-PCR به ترتیب روی نمونه‌های سرم و سواب‌ها گذاشته شد. میزان تیتر گروه‌ها بعد از سه هفته با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشت ، اما واکسن های لاسوتا و I2 توانسته بودند سبب افزایش تیتر گردند. هم‌چنین در گروه لاسوتا میزان پراکندگی تیترها کاهش یافته بود. ویروس واکسن‌های ویتاپست و B1 در هیچ کدام از نمونه‌های گرفته شده ردیابی نشدند، در واقع در این سطح آنتی‌بادی، قابلیت تکثیر نداشتند. نتایج نشان داد که واکسن لاسوتا یک گزینه مناسب جهت استفاده در گله‌هایی با آنتی‌بادی بالای نیوکاسل می‌باشد. در ادامه پیشنهاد می‌شود در این زمینه برروی ایمنی سلولی، مخاطی و مطالعات چالش تحقیقات تکمیلی صورت پذیرد.

کلمات کلیدی: بیماری نیوکاسل، واکسیناسیون، سرولوژی، اثربخشی

Veterinary Researches & Biological Products No 134 pp: 194-200

Newcastle disease vaccination in layer flocks: Comparison of efficacy and Vaccine replication in high antibody titer

By: Hosseini, H., Department of Clinical Science, College of veterinary medicine, Karaj branch of Islamic Azad University, Karaj, Iran. Jafari, F., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. Tehran, Iran. Fallah Mehrabadi, M.H., Department of Poultry Viral Diseases, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran. Ghorani, M.R., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran. , Aghaeean, L., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. Tehran, Iran. Ziafati Kafi, Z., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. Tehran, Iran. Sadri, N., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. Tehran, Iran. Modiri Hamdan, A., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. Tehran, Iran. and Ghalyanchi Langeroudi, A., (Corresponding Author) Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran. Tehran, Iran.

Received:2020-10-04 **Accepted: 2021-01-07**

Email: ghalyana@ut.ac.ir

Newcastle disease is one of the most important diseases affecting various species of birds. Different live and killed vaccines are used to control the disease that has different tropisms and severity. One of the uses of this vaccine is its use during the breeding period of poultry. To investigate the effectiveness of titer increase and the possibility of proliferation of vaccine in the presence of high antibodies against Newcastle, in this study, five vaccines B1, Vitapest, I2, Lasota, Clone Lasota in 25 weeks' old laying hens (in each group, 50 chickens) and were compared by drinking vaccination in five separate salons of the same age. Blood was taken from marked chickens before and three weeks after vaccination. Five days after vaccination, pharyngeal swabs were taken from the chickens to confirm the vaccine's proliferation. The HI test and the Real-Time PCR test was performed on sera and swabs, respectively. The HI titers did not significantly differ after three weeks. But in Lasota and I2 groups, it was able to increase the titer. Also, the distribution of titers was reduced only in the Lasota group. The proliferation test results showed that the Vitapest and B1 vaccine viruses were not detected in any samples. They cannot proliferate at this antibody level. The results showed that Lasota is a good offer for use in flocks with high antibodies against Newcastle. It is suggested that additional research be performed on cellular, mucosal, and challenge studies in this field.

Key words: Newcastle, Vaccination, Serology, Effectiveness

مقدمه

بیماری نیوکاسل یکی از بیماری‌های مهم در صنعت طیور می‌باشد که سالانه خسارت‌های زیادی را وارد می‌کند. این بیماری در بسیاری از کشورها به صورت اندمیک درآمده است. عامل این بیماری یک ویروس از خانواده پارامیکسوویریده و جنس ارتوآوولاویروس (ویروس RNA دار با سنس منفی و پوشش‌دار) می‌باشد که و به صورت ارتواولاویروس تیپ یک نامیده می‌شود. این ویروس دارای پاتوتیپ‌های مختلفی از لحاظ حدت می‌باشد، که می‌توانند تروپیسم‌های مختلفی از جمله به سیستم‌های تنفسی، گوارشی و عصبی داشته باشند. دو گلیکوپروتئین عمده که در سطح پوشش ویروس وجود دارد که شامل هماگلوتینین-نورامینیداز (Hemagglutinin-neuraminidase) و فیوژن (Fusion) می‌باشند(۵). برای تعیین حدت جدایه‌ها از روش پاتوتیپینگ که در آن به صورت آزمایشگاهی ویروس زنده به پرنده تزریق می‌شود، استفاده می‌شود (شاخص ICPI). در این روش ، ویروس‌ها به ترتیب کاهش حدت جدایه به پاتوتایپ‌های ۱-ولوژنیک ۲-مزوژنیک ۳-لنتوژنیک ۴- بدون علائم تقسیم شده‌اند. ویروس‌های لنتوژنیک معمولا عفونت‌های تنفسی ایجاد می‌کنند و در پرندگان عاری از پاتوژن علائمی ایجاد نمی‌کنند و معمولا جهت ساخت واکسن از آن‌ها استفاده می‌شود. ویروس‌های

پاتوتیپ انتریک بدون علائم، به دستگاه گوارش تمایل دارند و اعتقاد بر این است که باعث بیماری بالینی نمی‌شوند(۲, ۹). واکسیناسیون در بیماری نیوکاسل سبب کاهش میزان دفع ویروس ولوژن نیوکاسل (vNDV)، کاهش پرندگان عفونی، کاهش مرگ‌ومیر و نهایتا کاهش واگیری گله به بیماری نیوکاسل می‌گردد. واکسن نمی‌تواند به طور کامل پرندگان واکسینه را در مقابل مرگ و میر حاصل از درگیری با vNDV مصون نگه دارد. فرمولاسیون واکسن‌هایی که به شرایط چالش توسط ویروس شبیه باشند باعث کاهش دفع ویروس در سواپ‌های حلقی از پرندگان واکسینه شده خواهند شد (۱۵). این نکته قابل تذکر است که واکسیناسیون باید در کنار مدیریت و امنیت‌زیستی کارآمد جهت جلوگیری از ابتلای گله بیه بیماری انجام شود. واکسن‌های مورد استفاده در این مطالعه در ادامه به اختصار توضیح داده شده است. الف: واکسن B۱: این واکسن از سویه Hitchner B۱ که یک ویروس بیماری نیوکاسل لنتوژن است، ساخته شده است. واکسن B۱ یک واکسن متمایل به دستگاه تنفسی، با حدت کمتر نسبت به واکسن لاسوتا می‌باشد. ب: واکسن لاسوتا: این واکسن از سویه لاسوتا که یک ویروس لنتوژن است ساخته شده است. لاسوتا حدتی بیشتر از سویه B۱ دارد. لاسوتا واکسنی مناسب در واکسیناسیون‌های نوبت دوم به بعد علیه بیماری نیوکاسل است. ویروس این واکسن به دستگاه تنفس تمایل داشته و به خوبی در آنجا تکثیر می‌یابد. به دلیل حدت بالای واکسن، احتمال بروز واکنش‌های پس از واکسیناسیون در این سویه بالاست اما باید در نظر داشت که واکسن لاسوتا قوی‌ترین واکسن زنده موجود در ایران علیه مبارزه با ویروس مزرعه حاد نیوکاسل می‌باشد. ج: واکسن کلون‌شده‌ی لاسوتا: بعضی از شرکت‌های تولیدکننده واکسن با استفاده از تکنیک کلونینگ اقدام به تولید واکسن‌هایی با ایمنی‌زایی بالا و حدت پایین کرده‌اند. در این تکنیک شرکت سازنده یک جدایه ویروس لاسوتا را تکثیر می‌دهد تا یک جمعیت هموژنی از آن بدست آورده و در قالب واکسن مورد استفاده قرار دهد. این واکسن‌ها با هدف کاهش حدت سویه واکسن نسبت به ویروس لاسوتای رایج و در عین حال حفظ ایمنی‌زایی مشابه با سویه لاسوتا طراحی و تولید شده اند. د: واکسن ویتاپست: این واکسن از سویه PHY-LMV-42 ساخته شده است که یک ویروس بیماری نیوکاسل غیربیماری‌زا می‌باشد. از این سویه به دلیل غیربیماری‌زا بودن این واکسن و نیز تمایل گوارشی این واکسن، انتظار می‌رود هیچ گونه عارضه‌ی تنفسی متعاقب مصرف این واکسن دیده نشود. ه: واکسن I۲: از سویه‌های ژنوتیپ یک ویروس نیوکاسل بوده که از استرالیا جدا شده و جز واکسن‌های مقاوم به حرارت تقسیم بندی می‌شود(۱, ۱۱). در خارج از کشور و ایران برای محافظت گله‌های در حال تولید (تخم‌گذار، مادر و اجداد)، از واکسن نیوکاسل هر دو تا چهار هفته استفاده می‌شود و با توجه به تیتر بالای این گله‌ها همواره این سوال وجود داشت که آیا واکسیناسیون اثر دارد یا خیر؟ و آیا واکسن‌ها در تیتر بالای آنتی‌بادی تکثیر می‌یابند یا خیر؟ هم چنین از کدام سویه واکسن نیوکاسل استفاده نماییم؟ هدف از انجام این مطالعه مقایسه چهار واکسن رایج مصرفی در کشور بر روی مرغ تخم‌گذار می‌باشد تا بتوانیم میزان تکثیر آن در گله و قدرت آن در افزایش تیتر HI را با یکدیگر مقایسه نماییم.

مواد و روش‌ها

در پنج سالن مختلف و همسن (۲۵ هفته) ۲۵۰ عدد مرغ تخم‌گذار از نژاد LSL (هر سالن ۵۰ عدد مرغ) انتخاب و تگ پا زده شد. قبل از واکسیناسیون از مرغ‌های علامت زده خون‌گیری بعمل آمد و هرسالن یک نوع واکسن نیوکاسل به روش آشامیدنی داده شد. این واکسن‌ها شامل: B۱، لاسوتا ، کلون لاسوتا، I۲ و ویتاپست بودند. پنج روز بعد از واکسن، از پرندگان علامت زده شده جهت بررسی تکثیر سویه واکسن، سواپ حلقی تهیه شد. همچنین جهت بررسی اثر واکسن روی تیتر آنتی‌بادی، سه هفته بعد از واکسیناسیون نیوکاسل از همه مرغ‌های علامت زده خون‌گیری به عمل آمد.

آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)

بر روی نمونه‌های سرمی در یک زمان، آزمون HI با توجه به دستورالعمل استاندارد سازمان دامپزشکی کل کشور و با استفاده از آنتی‌ژن واکسن لاسوتا (تیتر HA آنتی ژن: ۸) گذاشته شد.

استخراج RNA و Real time RT-PCR جهت ردیابی ویروس واکسن

جهت بررسی میزان دریافت واکسن و میزان تکثیر سویه واکسن (پنج روز بعد از تلقیح)، RNA نمونه‌های سواپ گرفته شده توسط کیت

جدول ۱- پرایمرهای استفاده شده برای تشخیص سویه لنتوژن ویروس بیماری نیوکاسل.

نام پرایمر	توالی پرایمر (5’-3’)
FT-NDV-LF3	TCCGBAGGATACAAGAGTCYGTGACC
FT-NDV-LF4	TCCGBAGGATACAAGAGTCYGTGACT
FT-NDV-LR2	AGAGCYACACCGCCAATAAT
FT-NDV-LR3	AGAGCYACACCACCGATAAT
FT-NDV-Lprob	FAM-CAGGGRCGCCTTATA-TAMRA

ستونی شرکت سینا کلون (One Pure RNA extraction kit) استخراج و سپس توسط روش ارجاع داده شده توسط کیت سنتز cDNA شرکت ترموفیشر و با استفاده از راندم هگزامر ساخته شد(۱۰). آزمون Real Time PCR جهت ردیابی سویه لنتوژن نیوکاسل (جدول ۱)، انجام گرفت(۷).

تجزیه و تحلیل آماری

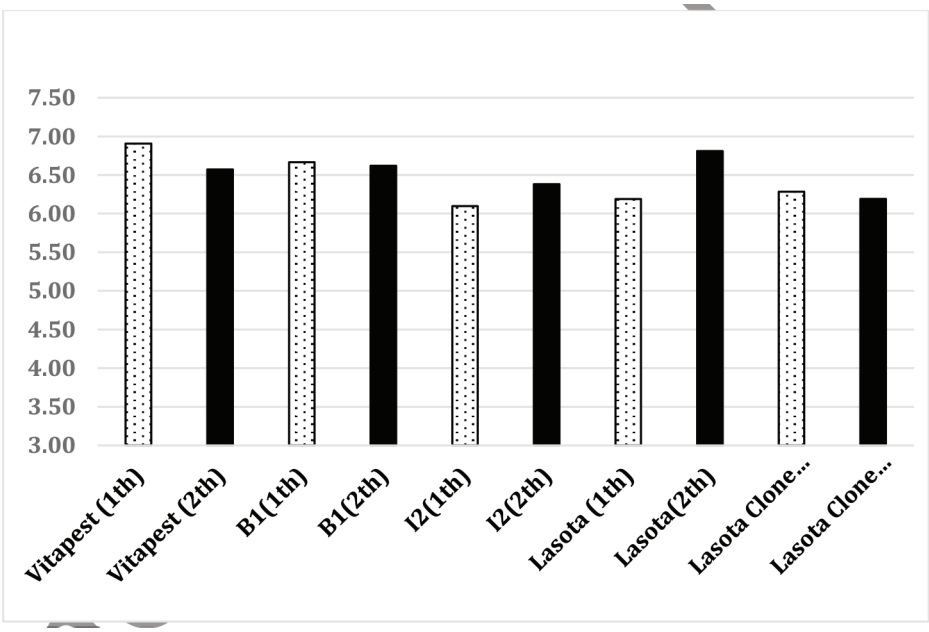
تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Office Excel و Graphpad ۶ با استفاده از آزمون‌های توصیفی و آزمون ANOVA با سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

تیترهای آنتی‌بادی درهر گروه قبل و بعد از واکسن توسط آزمون HI تعیین و میزان پراکندگی آن تعیین گردید. میزان تیتر آنتی‌بادی گروه‌ها در هفته سوم بعد از واکسیناسیون با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۱). اما در گروه لاسوتا و I۲ توانسته بود سبب افزایش تیتر گردد (شکل ۲). همچنین در گروه لاسوتا میزان پراکندگی تیترها کاهش یافته بود (شکل ۳). نتایج آزمون تکثیر نشان داد ویروس واکسن ویتاپست و B۱ ردیابی نشد و در واقع در این سطح آنتی‌بادی قابلیت تکثیر نداشتند. سویه‌های I۲، لاسوتا کلون و لاسوتا به ترتیب در ۲۰ ، ۱۰ و ۵۰ درصد نمونه‌ها ردیابی شدند (شکل۴).

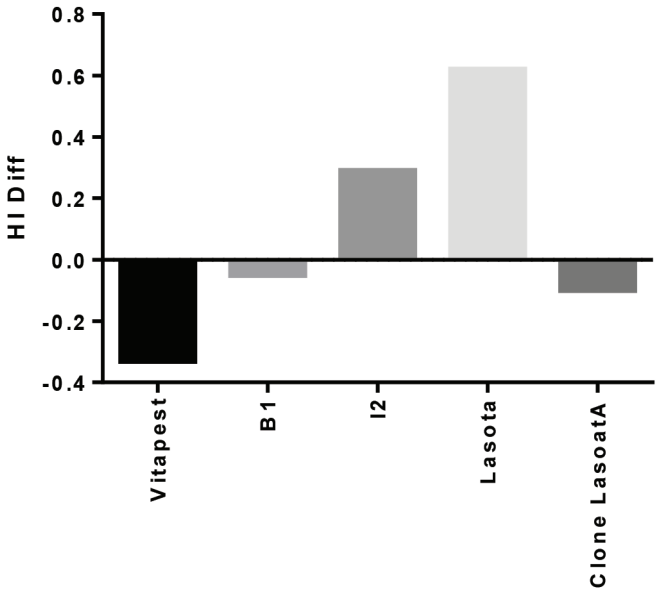
بحث

بیماری نیوکاسل یکی از بیماری‌های رایج در صنعت طیور بوده و خسارات فراوانی را سالانه وارد می‌کند. بعد از بروز بیماری نیوکاسل در انگستان در سال ۱۹۳۳، واکسن H از سویه بیماری‌زا به عنوان اولین واکسن بیماری تهیه گردید. سپس سویه B۱ و لاسوتا از سویه‌های غیر بیماری‌زای مزرعه به عنوان واکسن معرفی شدند(۳). امروزه واکسن‌هایی با تروپیسم تنفسی (B۱ و لاسوتا و کلون لاسوتا) و تروپیسم گوارشی (Vitapest و Avinew و 6/10 و I2) در کشور توزیع می‌گردند که از لحاظ Intracerebral Pathogenicity Index (ICPI) نیز با هم تفاوت‌هایی دارند(۸). در بین واکسن‌های نیوکاسل و به ویژه انواع تنفسی آن، ویروس B۱ از قدیمی‌ترین سویه‌های ویروس بوده که به دلیل ملایم بودن، محدودیت تکثیر در حضور آنتی‌بادی مادری دارد و قدرت انتقال جوجه به جوجه آن نیز پایین می‌باشد. هم چنین مطالعات برای واکسن B۱، نقش ضعیف‌تری را در محافظت در برابر سویه‌های حاد در نظر می‌گیرند(۶). ویروس لاسوتا برای حل این مشکل استفاده شد و این سویه قابلیت تکثیر در حضور آنتی‌بادی با تیتر بالای مادری را دارد، اما واکنش‌های التهابی بعد از واکسن گزارش شده است. در این راستا محققین در دنیا، سویه کلون و انتخاب شده لاسوتا را پیشنهاد نمودند. ویروس کلون لاسوتا نیز قابلیت تکثیر در حضور آنتی‌بادی مادری با واکنش پس از واکسن کمتری را داشته و قابلیت انتقال جوجه به جوجه را در مطالعات نشان داده است (۶). در واقع ICPI این واکسن تقریبا به واکسن B1 شبیه است(۱۳). واکسن Clon30 از اولین

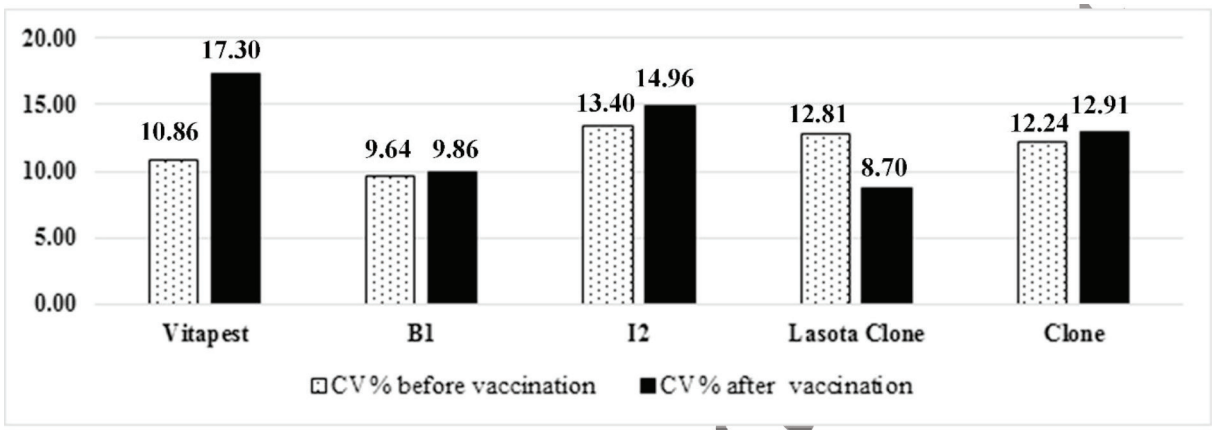


شکل ۱ - تغییرات HI در گروه های مختلف نیوکاسل (قبل : ۱th و بعد :۲th) از واکسیناسیون با سویه های مختلف واکسن زنده نیوکاسل.

سویه‌های کلون شده از ویروس‌های اجدادی این ویروس بوده و بعد از آن شرکت‌های مختلف به تهیه سویه کلون خود اقدام نمودند. واکسن ویتاپست از سویه ۴۲-PHY-LMV ساخته شده است که یک ویروس بیماری نیوکاسل غیربیماری‌زا می‌باشد. به دلیل تمایل ویروس به دستگاه گوارش، مزایای واکسن‌های گوارشی در این واکسن دیده می‌شود. در زمینه واکسیناسیون نیوکاسل مقالات متعددی وجود دارد که انواع روش، زمان، دز و سویه مورد استفاده را مورد مقایسه قرار داده است. در مطالعه‌ای در بررسی ایمونوژنسیته واکسن‌های نیوکاسل، نشان داده شد که سویه‌های گوارشی از سویه‌های B۱ و لاسوتا دارای ایمونوژنسیته کمتری در جوجه‌های دارای آنتی‌بادی می‌باشد (۱۴). در مطالعه‌ای در مرغ‌های تخم‌گذار تفاوتی در ایجاد آنتی‌بادی بین سویه Ulster 2C با سایر واکسن‌های لنتوژن مانند Clon۳۰ مشاهده نکردند (۱۲). در مطالعه‌ای برروی جوجه‌های گوشتی، واکسن لاسوتا و واکسن گوارشی VG/GA نسبت به سویه B۱ خاصیت ایمنی‌زایی بهتری نشان داده بودند (۴). در منابع اشاره شده که واکسن‌های زنده توسط آنتی‌بادی مادری خنثی می‌شوند (درواقع توانایی تکثیرشان از بین می‌رود) و این در



شکل۲- اختلاف تیتر ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) قبل و بعد از واکسیناسیون جوجه با واکسن های زنده مختلف نیوکاسل.



شکل ۳- درصد تغییرات پراکندگی(CV%) تیتر قبل و بعد از واکسیناسیون با سویه های زنده مختلف نیوکاسل.

مناطقی رخ می‌دهد که از واکسن‌های متعدد در مرغان مادر برای تولید جوجه‌هایی با آنتی‌بادی مادری بالا استفاده می‌کنند.

نتایج ناشی از این پژوهش نشان داد که سویه لاسوتا توانسته بود در تیتر بالای آنتی‌بادی در ۵۰ درصد جمعیت، تکثیر نماید و سهم سایر سویه‌ها پایین یا صفر بود. حتی لاسوتای کلون نتوانسته بود به میزان سویه لاسوتا تکثیر کند. یکی دیگر از نقاط قوت لاسوتا این است که می‌تواند در گله چرخش و سایر جوجه‌های منفی را نیز مثبت کند. هم چنین واکسن لاسوتا باعث افزاش سطح تیتر آنتی‌بادی شده و در سایر گروهها (غیر از I۲) این حالت مشاهده نشد. در این مطالعه تنها سویه کم حدت‌تر که هم قابلیت تکثیر و هم قابلیت افزیش تیتر داشت سویه I۲ مقاوم به حرارت بود. شاید به علت خاصیت مقاوم به حرارت، در سیستم‌های آشامیدنی مزارع قابلیت ماندگاری مناسب داشته و می‌تواند در دز مناسب‌تر به جوجه برسد. یکی از دلایلی که در گله‌های در حال تولید و به ویژه در پیک تولید از واکسن لاسوتا استفاده نمی‌کنند نگرانی از اثر این واکسن بر روی کاهش تولید است که می‌توان در این مورد، واکسن I۲ را پیشنهاد نمود. گرچه نویسندگان اعتقاد دارند مزایای استقاده از لاسوتا از مشکلات احتمالی افت تولید (ناچیز بوده و با مدیریت واکسیناسیون و شرایط گله قابل کنترل است) بسیار بیشتر است. همچنین در مورد قضاوت در مورد سایر واکسن‌های استفاده شده که سبب گردد علی‌رغم عدم تکثیر یا افزایش تیتر، ایمنی لوکال و مخاطی را تحریک نماید، نیازمند بررسی بیشتر می‌باشد. از آنجایی که ایمنی مخاطی ایجاد شده در ایمنی ناشی از واکسن نیوکاسل قابل بررسی می‌باشد، بهتر است کار تکمیلی در سطح تجاری و با استفاده از نتایج به دست آمده بر روی ایمنی سلولی-مخاطی و هم چنین در چالش با سویه ولوژن در حال چرخش در مزارع پرورش کشور صورت پذیرد.

نتیجه گیری کلی

به طور کلی میزان تیتر گروه‌ها سه هفته بعد از خون‌گیری با یکدیگر اختلاف معنی‌دار نداشت، اما واکسن‌های لاسوتا و I۲ توانسته بودند سبب افزایش تیتر آنتی‌بادی گردند. هم چنین در گروه واکسن لاسوتا میزان پراکندگی تیتر کاهش یافته بود. ویروس واکسن‌های ویتاپست و B۱ در هیچ کدام از نمونه‌های اخذ شده در پنج روز بعد از واکسیناسیون ردیابی نشدند. در واقع می‌توان نتیجه گرفت در این سطح آنتی‌بادی قابلیت تکثیر نداشتند. نتایج این مطالعه نشان داد که واکسن لاسوتا و I۲ یک گزینه مناسب جهت استفاده در گله‌هایی با آنتی‌بادی بالای نیوکاسل می‌باشد.

تشکر و قدردانی

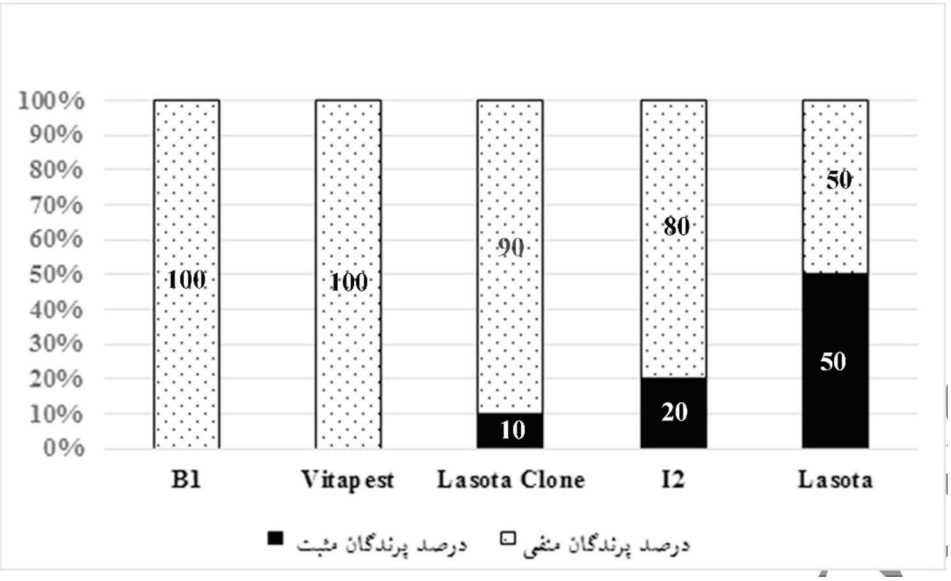
از تمام کارشناسان آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و آزمایشگاه دامپزشکی PCR و جناب آقای دکتر برین که در روند اجرای این پروژه همکاری نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

1.Al-Garib, S., A. Gielkens, E. Gruys and G. Kochi. 2003. Review of Newcastle disease virus with particular references to immunity and vaccination. *World's poultry science journal* 59: 185-200.

2.Alexander, D. J., E. W. Aldous and C. M. Fuller. 2012. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian pathology* 41: 329-335.

3.Alexander, D. J., J. G. Bell and R. G. Alders. 2004. A technology review: Newcastle disease, with special emphasis on its effect on



شکل ۴- درصد پرندگان که ویروس واکسن در گروه های مختلف واکسن، پنج روز بعد از واکسن در نای آنها ردیابی گردید.

village chickens. Available online at: http://www.fao.org/3/y5162e/y5162e00.htm . Accessed 2004.

4.Anosa, G. and D. Adene. 2007. The comparative immunogenicity of three lentogenic brands of Newcastle disease vaccines in Nigeria. *Nigerian Veterinary Journal* 28: 1-5.

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

6.Eidson, C. and S. Kleven. 1980. Vaccination of chickens with a clone-selected Lastoa strain of Newcastle disease virus. *Poultry science* 59: 976-984.

7.Farkas, T., E. Szekely, S. Belak and I. Kiss. 2009. Real-time PCR-based pathotyping of Newcastle disease virus by use of TaqMan minor groove binder probes. *Journal of Clinical Microbiology* 47: 2114-2123.

8.Ghalyanchilangeroudi, A., H. Hosseini, M. Jabbarifakhr, M. H. Fallah Mehrabadi, H. Najafi, S. A. Ghafouri, F. S. Mousavi, Z. Ziafati and A. Modiri. 2018. Emergence of a virulent genotype VIIi of Newcastle disease virus in Iran. *Avian Pathology* 47: 509-519.

9.Miller, P. J. and G. Koch. Section. 2013. Newcastle disease. pp. 89-138. In: DE Swayne(13th). Diseases of Poultry. Wiley-Blackwell. New Jersey.

10.Seger, W., A. G. Langeroudi, V. Karimi, O. Madadgar, M. V. Marandi and M. Hashemzadeh. 2016. Prevalence of avian infectious bronchitis virus in broiler chicken farms in south of Iraq, 2014–2015. *Veterinary Research Forum* 7: 317–321.

11.Spradbrow, P. 1992. A review of the use of food carriers for the delivery of oral Newcastle disease vaccine. pp. 18-20. In: Spradbrow, P.B., ed., Proceedings of an international workshop, Kuala Lumpur, 6-10 October 1991. Canberra.

12.Van Eck, J. and E. Goren. 1991. An Ulster 2C strain-derived Newcastle disease vaccine: Vaccinal reaction in comparison with other lentogenic Newcastle disease vaccines. *Avian pathology* 20: 497-507.

13.Voeten, A., J. van Eck, F. Davelaar and B. Kouwenhoven. 1987. Comparison of the effect of live Newcastle disease vaccine Clone 30 in broilers administered at day 1 or at day 7 and the effect of H120 vaccination at 17 days of age: a field experiment. *Veterinary Quarterly* 9: 38-48.

14.Westbury, H., G. Parsons and W. Allan. 1984. Comparison of the immunogenicity of Newcastle disease virus strains V4, Hitchner Bl and La Sota in chickens. *Australian veterinary journal* 61: 10-13.

15.Xiao, S., B. Nayak, A. Samuel, A. Paldurai, M. Kanabagattebasavarajappa, T.Y. Prajitno, E.E. Bharoto, P.L. Collins and S.K. Samal. 2012. Generation by reverse genetics of an effective, stable, live-attenuated Newcastle disease virus vaccine based on a currently circulating, highly virulent Indonesian strain, *PloS one* 7: e52751.