

## تشخیص آسیب‌شناسی و ملکولی ویروس آبله پرندگان در مرغان بومی شهر خرم‌آباد

• حسن نوروزیان (نویسنده مسئول)

گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان

• قاسم فرجانی کیش

گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان

• حسین حسینی

گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴-۱۰-۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۲-۲۰

Email: noroozianh@yahoo.com



### چکیده

آبله یک بیماری ویروسی متداول و واگیردار در گونه‌های مختلف پرندگان اهلی و وحشی با گسترش جهانی است که عموماً برای گونه‌های مختلف پرندگان اختصاصی میزبان است. در مطالعه حاضر، همه‌گیری‌های آبله پرندگان در مرغان بومی حومه خرم‌آباد با علائم بالینی نظیر بی‌اشتهایی، کز کردن، ژولیدگی پرها، ضایعات به صورت ندول‌های زگیل مانند بر روی تاج، ریش و اطراف پلک‌ها، روی سطح دهان، حلق و اپیگلوت با میزان ابتلای ۵۰ درصد و تلفات پنج تا ۲۰ درصد مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمایش هیستوپاتولوژی ضایعاتی از قبیل دژنراسانس، واکوئل‌دار شدن و هیپرپلازی سلول‌های پوششی و گنجیدگی‌های اتوزینوفیلیک درون سیتوپلاسمی (بولینجر بادی) در سلول‌های مبتلا مشاهده گردید. در آنالیز فیلوژنی جدایه‌های Fowl pox virus تعیین توالی شده در مطالعه حاضر دور از دیگر جدایه‌های ایران و در کنار جدایه‌هایی از تانزانیا، مصر و آلمان قرار گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که آگاهی از وضعیت وقوع آبله در مرغان بومی با توجه به آسیب این بیماری به اقتصاد مناطق روستایی و نقش آنها به عنوان منبع بیماری برای گله‌های طیور صنعتی واجد اهمیت زیادی است.

کلمات کلیدی: آبله پرندگان، مرغ بومی، PCR، هیستوپاتولوژی، آنالیز فیلوژنی

• Veterinary Researches & Biological Products No 117 pp: 2-10

#### Pathological and molecular diagnosis of avian pox in backyard chickens in Khorram Abad

By: Norouzian, H., (Corresponding author), Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran. Farjanikish, G., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran and Hosseini, H., Department of Clinical Sciences, Islamic Azad University, Karaj Branch, Karaj, Iran.

Email: noroozianh@yahoo.com

Received: 2016-01-20 Accepted: 2016-05-09

Avian pox is a world-wide, contagious and common viral disease of numerous domestic and wild bird species and is generally host specific for different species of birds. In the present study, avian pox infection was identified in backyard chickens of Khorramabad with clinical signs including anorexia, depression and ruffled feathers and morbidity and mortality rates of 50% and 5 to 20%, respectively in affected flocks. On clinical examination, the lesions were observed as wart-like nodules with different sizes on the comb, wattle and around the eyelids. In addition, in some affected birds, fibrinonecrotic lesions in oral mucosa, pharynx and epiglottis was observed. Histopathologic examination of lesions revealed degeneration, vacuolization and hyperplasia of epithelial cells associated with intracytoplasmic eosinophilic inclusion bodies (Bollinger bodies). Based on the phylogenetic analysis, the isolated fowl poxvirus was classified in a different subclade far from other Iranian isolates and near to isolates from Tanzania, Egypt and Germany. The evaluation of avian pox situation in backyard chickens is very important because of its economic losses in rural areas and their role as sources of infection in commercial poultry.

**Key words:** Avian pox, Backyard chickens, PCR, Histopathology, Phylogenetic analysis

#### مقدمه

آبله پرندگان یک بیماری متداول و واگیردار در گونه‌های مختلف پرندگان اهلی و وحشی است. عامل بیماری متعلق به وایروس آبله پرندگان (Avian pox virus) است که از خانواده پاکس ویریده (Poxviridae) و جنس آوی پاکس وایروس (Avipoxvirus) است. وایروس‌های خانواده آبله، وایروس‌های بزرگ و دو رشته‌ای DNA دار با اندازه ۱۳۰ هزار جفت باز تا ۲۸۰ هزار جفت باز هستند (۲، ۹، ۲۸، ۲۹).

وایروس آبله پرندگان (Avipoxvirus) دارای میزبان اختصاصی است. تاکنون وایروس آبله ماکیان (Fowl pox virus)، وایروس آبله بوقلمون (Turkey pox virus)، وایروس آبله قناری (Canary pox virus)، وایروس آبله بلدرچین (Quail pox virus)، وایروس آبله کبوتر (Pigeon pox virus)، وایروس آبله پنگوئن (Penguin pox virus) و چندین گونه دیگر شناخته شده‌اند. وقوع بیماری آبله در ۲۳۲ گونه پرندگان گزارش شده است (۷، ۲۴). حشرات در انتقال بیماری آبله نقش مهمی دارند. از این رو طیور بومی بویژه در فصول گرم در معرض همه‌گیری‌های این بیماری قرار می‌گیرند (۴، ۸).

بیماری آبله پرندگان گسترش جهانی داشته و سرعت انتشار آهسته‌ای دارد. این بیماری سبب مرگ و میر چندانی نمی‌شود، مگر آنکه دستگاه تنفسی با عوامل دیگری درگیر شود (۷، ۱۹، ۲۵). بیماری آبله معمولاً به

دو فرم جلدی و دیفتری‌تیک دیده می‌شود (۲۶، ۶). در فرم پوستی ضایعات به صورت ندول‌های زگیل مانند در تمام نقاط پوست بدن و بیشتر در جاهایی از بدن که بدون پر بوده ظاهر می‌شود (۱۷، ۱۸، ۲۰). جراحات در ابتدا کوچک و سفید و بعد بزرگ و زرد رنگ می‌شوند. بعد از دو هفته پر خون و اطراف آن آماس‌دار دیده می‌شود و در حدود یک هفته بعد پوسته‌هایی روی آن‌ها ظاهر می‌شود (۶، ۳۰، ۳۳). در شکل دیفتریایی یا مرطوب، بیشتر دهان و مجاری تنفسی (حنجره و نای) و گاهی اوقات داخل سینوس‌ها، مجرای بینی و گلو درگیر شده که غشای موکوسی سفید رنگ در این نواحی دیده می‌شود (۱۷، ۲۷، ۳۲).

پرورش طیور بومی در مناطق روستایی ایران نقش مهمی در اقتصاد بخش کشاورزی کشور دارد. بیماری آبله یکی از بیماری‌های شایع در طیور بومی است که هر ساله منجر به خسارت قابل توجهی می‌شود. تشخیص سریع و دقیق این بیماری در کنار بررسی ویژگی‌های ژنتیکی سویه‌های وایروس عامل آن اهمیت زیادی در برنامه‌ریزی برای کنترل بیماری آبله در طیور بومی دارد. مطالعات اندکی در خصوص این بیماری در ایران انجام شده است (۱۳، ۲۴). در مطالعه غلامی آهنگران و همکاران (۲۰۱۴) بررسی طیور بومی که علائم آبله را نشان می‌دادند حاکی از تأیید ابتلای ۶۶/۱ و ۸۰/۷ درصد موارد مشکوک به آبله به ترتیب با روش بررسی هیستوپاتولوژی و PCR بود (۱۳). در مطالعه نیری فسایی و همکاران از

بررسی ۱۰ جدایه آبله پرندگان از ماکیان قناری و مرغ مینا شباهت ۱۰۰-۷۱ درصد ژن 4b core با دیگر جدایه‌های Genbank گزارش شد (۲۴). هدف از مطالعه حاضر تشخیص بیماری آبله پرندگان در مرغان بومی با روش‌های آسیب شناسی و PCR و جداسازی عامل بیماری و بررسی ژن 4b core جدایه‌های بدست آمده بود.

### مواد و روش کار

در مطالعه حاضر ۵۷ پرندۀ ی زنده و تلف‌شده از موارد ابتلاء در ۱۰ گله طیور بومی (مرغ و بوقلمون) مشکوک به بیماری آبله که طی سال‌های ۹۳ و ۹۴ به کلینیک دامپزشکی دانشگاه لرستان ارجاع داده شده بودند، مورد بررسی قرار گرفت. این موارد از سنین مختلف شامل جوجه‌ها و پرندۀ‌های بالغ با تاریخچه عدم واکسیناسیون بر علیه ویروس آبله و میزان ابتلای حدود ۵۰ درصد و میزان تلفات متغیر از پنج تا ۲۰ درصد و دارای علائم بالینی عمومی شامل بی اشتها، کز کردن، ژولیدگی پرها، سختی تنفس و ضایعات ندول مانند پوستی بودند. جهت انجام آزمایشات پس از مرگ، مرغ‌های تلف شده تحت کالبدگشایی قرار گرفتند.

### کشت و جداسازی ویروس

از نمونه‌های اخذ شده (شامل ضایعات جلدی و اپیگلوت به صورت pool) هموژن ۱۰ درصد (با استفاده از PBS) تهیه شد و در تخم مرغ جنین‌دار نه تا ۱۱ روزه روی پرده کوریوآلانتوئیک تلقیح گردید (۲۲، ۲۳). تخم مرغ‌ها به مدت پنج روز انکوبه شده و هر روز مورد نوربینی قرار گرفتند. جنین‌های تلف‌شده در روز اول حذف گردیده و در روزهای بعد به دمای چهار تا هشت درجه منتقل شدند.

برای بررسی پرده کوریوآلانتوئیک، پوسته تخم مرغ‌ها در اطراف محل تزریق به دقت برش‌زده شد به طوری که CAM به خوبی در معرض دید قرار گرفت. سپس با قیچی به دقت آن قسمت از CAM جدا و روی صفحه‌ای با زمینه تیره قرار داده شد و حضور ضایعات pock مورد بررسی قرار گرفت.

### استخراج DNA

نمونه CAM برای ایجاد هموژن مورد استفاده قرار گرفت و سپس DNA ویروس با استفاده از کیت QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده جدا گردید.

### آزمایش PCR

پرایمرهای مورد استفاده در PCR از توالی ژن 4b ویروس آبله پرندگان سویه HP44 انتخاب شدند (۲۱). توالی پرایمرها عبارت بود از:

F primer: 5'-CAGCAGGTGCTAAACAACAA-3'

R primer: 5'-CGGTAGCTTAACGCCGAATA-3'

طول قطعه تکثیر شده ۵۷۸ جفت باز بود. آزمایش PCR با حجم ۵۰ میکرولیتر و با افزودن مواد زیر انجام شد: ۲۵ میکرولیتر PCR master (mix Cinnagen)، ۲ میکرولیتر از هر پرایمر (۱۰ پیکومول در میکرولیتر) و پنج میکرولیتر از DNA استخراج شده. برنامه حرارتی عبارت بود از دناتوراسیون اولیه به مدت دو دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، ۳۵ سیکل

شامل دناتوراسیون به مدت ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد، اتصال پرایمر به مدت ۳۰ ثانیه در ۶۰ درجه سانتی‌گراد، گسترش به مدت ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و گسترش نهایی به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد بود. از ویروس واکسینال آبله طیور (موسسه تحقیقات و سرم‌سازی رازی - ایران) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز گردید و با استفاده از اشعه UV بررسی شد. محصول PCR با استفاده از کیت GeneJET Gel Extraction Kit (Fermentas, Canada) تخلیص و استخراج شد. سپس محصول استخراج شده در وکتور کلونینگ pTZ57R/T کلون شد (Fermentas, Canada) و سه کلون با استفاده از پرایمرهای M13 forward & reverse تعیین توالی شد (SequeTech, USA). نتایج تعیین توالی در Genbank ثبت گردید (Accession Numbers: KU212807, KU522209, KU522210).

### آنالیز فیلوژنتیک

ویرایش و بررسی توالی نوکلئوتیدی با استفاده از نرم افزار EditSeq program, version 5 (DNASTAR Inc., USA) صورت گرفت. آنالیز فیلوژنتیک با استفاده از نرم افزار MegAlign program, version 5 (DNASTAR Inc) و با روش الگوریتم ClustalW انجام شد.

### هیستوپاتولوژی

جهت مطالعه هیستوپاتولوژی از ضایعات جلدی، اپیگلوت، نای و ریه نمونه‌برداری به عمل آمد. پس از نمونه‌برداری، نمونه‌های اخذ شده در داخل فرمالین ۱۰ درصد جهت تهیه مقاطع بافتی به بخش پاتولوژی موسسه ارسال شدند. نمونه‌ها پس از طی مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی، آغشتگی با پارافین و قالب‌گیری به ضخامت‌های پنج تا شش میکرونی برش و به روش هماتوکسیلین و ائوژین رنگ‌آمیزی شدند و به وسیله میکروسکوپ نوری مورد مطالعه قرار گرفت.

### نتایج

#### علائم بالینی و کالبدگشایی پرندگان مورد مطالعه

در اکثر مبتلایان (بیش از ۷۰ درصد)، ضایعات ماکروسکوپی به صورت ندول‌های زگیل مانند با اندازه مختلف بر روی تاج، ریش، اطراف پلک‌ها و روی پاها بود. در موارد پیشرفته بیماری ندول‌ها به دلمه تبدیل شده بود. در برخی از موارد ضایعات فرم دیفتریایی آبله به صورت دانه‌های شفاف و برجسته روی سطح دهان، حلق و اپیگلوت مشاهده شد. در بعضی از مبتلایان این ضایعات به شکل پنبه‌ری و زردرنگ درآمده بود (شکل ۱). ندول‌ها نسبتاً نرم بودند و لایه‌های سطحی به راحتی برداشته می‌شد و بافت زیرین معمولاً دچار پرخونی و خونریزی شده بود.

#### کشت و جداسازی ویروس

حدوداً پنج روز پس از تلقیح ویروس، ضایعات pock به طور واضحی روی پرده کوریوآلانتوئیک مشاهده گردید.

### هیستوپاتولوژی

نتایج آزمایش هیستوپاتولوژی بیانگر درژنسانس، نکروز و هیپرپلازی

بومی به ویژه مرغ و خروس در معرض این بیماری قرار دارند. علاوه بر این، میزان وقوع آبله در گله‌های طیور صنعتی بویژه در گله‌های واکسینه در سال‌های اخیر افزایش یافته است. این افزایش ممکن است بدلیل حضور سویه‌های ناشناخته یا واریانت ویروس باشد (۳، ۱۱، ۱۶). برخی مطالعات شیوع بیماری را در فصل‌های خاصی از سال گزارش داده اند و وقوع بیماری را به فعالیت پشه‌های ناقل ارتباط داده‌اند. تعداد کمی از این مطالعات شیوع بیماری را در فصل تابستان گزارش داده‌اند (۴، ۹). اما بیشتر مطالعات شیوع بیماری را در اواخر پاییز و زمستان گزارش داده‌اند (۱۴، ۱۹). در مطالعه‌ای روی طیور بومی در اکوادور، روستاییان بیماری فصلی با ضایعات زگیل مانند گزارش می‌کردند که احتمالاً آبله بوده است (۱۵). در مطالعه دیگری در ۷۰۰ قطعه مرغ بومی در دو روستای کشور برزیل که به طور معمول بدلیل بیماری آبله دچار تلفات زیادی می‌شدند، نشان داده شد که آموزش روستاییان و واکسیناسیون مرغان با واکسن‌های رایج منجر به کاهش وقوع موارد جدید بیماری تا نه درصد شد (۲۷).

ویروس آبله مقاومت بسیار زیادی به خشکی دارد. انتقال بیماری از راه هوا و تماس پرند با مواد آلوده به ویروس است. ویروس از راه زخم‌ها و خراش‌های جلدی و یا مخاط چشم وارد بدن شود و در سلول‌های اپی‌تلیال پوست، مخاط چشم و غشاء موکوسی دهان تکثیر می‌شود. تشخیص اولیه بیماری آبله در طیور بر اساس تاریخچه و مشاهده زخم‌های جلدی مقدور است که جهت تایید آن از روش‌های مختلف آزمایشگاهی نظیر کشت و جداسازی ویروس، PCR و هیستوپاتولوژی استفاده می‌شود (۲۸).

با توجه به دشواری و وقت‌گیر بودن روش‌های معمول تایید تشخیص ویروس آبله نظیر کشت ویروس در تخم‌مرغ جنین‌دار و هیستوپاتولوژی، از روش PCR استفاده می‌شود (۲۱). ژن *fpv167* که در این مطالعه به عنوان هدف PCR بکار رفته است، ۷۵/۲ کیلوالتون وزن دارد. این ژن بدلیل حفاظت‌شدگی نسبی در سویه‌های مختلف ویروس آبله هدف مناسبی برای آزمایش PCR است (۵). این آزمایش PCR قادر است میزان یک دهم حداقل تعداد ویرون قابل تشخیص در روش جداسازی ویروس را شناسایی کند (۲، ۲۱).

این نکته نیز حائز اهمیت است که اگر ویروس‌های موجود در نمونه ارسالی به آزمایشگاه بدلیل شرایط بد نگهداری غیرفعال شده باشند، نتیجه آزمایش کشت ویروس منفی خواهد بود اما آزمایش PCR باز هم قادر به شناسایی ویروس است.

اطلاعات بسیار کمی راجع به وضعیت آبله پرندگان در ایران بخصوص درباره توالی ژنتیکی ویروس‌های در گردش در گله‌های بومی و صنعتی وجود دارد (۱۳، ۲۴). در مطالعه غلامی آهنگران و همکاران (۲۰۱۴) روی ۳۲۸ مرغ بومی در نواحی غرب ایران که علائم آبله (شامل ضایعات جلدی و مخاطی) را نشان می‌دادند، حاکی از تایید ابتلا ۶۶/۱ و ۸۰/۷ موارد مشکوک به آبله به ترتیب با روش بررسی هیستوپاتولوژی و PCR بود و PCR به عنوان روش مناسبی برای تشخیص آبله پرندگان تایید گردید (۱۳). یک مخزن احتمالی برای این ویروس‌های ناشناخته جمعیت طیور بومی است. در مطالعه حاضر توالی نوکلئوتیدی ژن *fpv167* در یکی از جدایه‌های بدست آمده از گله‌های بومی درگیر به بیماری آبله

سلولهای پوششی مبتلا بود. وجود واکوئل‌های با اندازه‌های مختلف در سلول‌های پوششی مشهود بود. علاوه بر این گنجیدگی‌های درون سیتوپلاسمی ائوزینوفیلیک (اجسام بولینجر) در سلول‌های پوششی، ارتشاح سلول‌های آماسی به ویژه هتروفیل‌ها و پرخونی فعال در بافت پوششی نواحی درگیر به خوبی مشاهده شد (شکل ۲). در برخی از موارد در لایه‌های سطحی بافت پوششی پوست، دلمه‌های پوستی، خونریزی شدید و کلنی‌های باکتریایی (که بیانگر عفونت ثانویه بود)، دیده شد.

### آزمایش PCR

قطعه‌ای به طول مورد انتظار ۵۷۸ جفت باز در آزمایش PCR انجام شده روی هموژن‌های بافتی بدست آمده از گله‌های مبتلا تکثیر و مشاهده شد (شکل ۳).

### شباهت نوکلئوتیدی و آنالیز فیلوژنتیک

نتایج بدست آمده از آنالیز BLAST حاکی از شباهت بیشتر توالی جدایه LNHF-1 (ماکیان) با جدایه IR/H756/13 از ایران و جدایه FWPV65 بدست آمده از ماکیان تانزانیا و توالی‌های جدایه‌های LNHF-2 (بوقلمون) و LNHF-3 (ماکیان) با جدایه‌های Elsharqyia FWPV1 از ماکیان مصر و جدایه *FPV167* از ماکیان چین بود. میزان شباهت قطعه ژن *fpv167* مربوط به جدایه‌های LNHF-1، LNHF-2 و LNHF-3 بدست آمده از مطالعه حاضر با دیگر جدایه‌های Genbank از ۶۸/۱ تا ۹۹ درصد متغیر بود (شکل ۴). از مقایسه توالی نوکلئوتیدی ژن *fpv167* جدایه‌های Avipoxvirus (جدایه‌های ماکیان و قناری) ایران، تعداد ۱۱۹ تفاوت نوکلئوتیدی ثابت بین این دو دسته مشاهده شد که بر مبنای تفاوت آمینواسیدی منجر به اختلاف در ۳۵ آمینواسید می‌شود (شکل ۵). در آنالیز فیلوژنتیک جدایه بررسی شده در این مطالعه از نظر ژن *fpv167* در دسته A در کنار جدایه‌های FWPV65 بدست آمده از ماکیان در تانزانیا، جدایه Elsharqyia FWPV1 بدست آمده از ماکیان در مصر و GB 134/01 بدست آمده از بوقلمون در آلمان قرار گرفت (شکل ۶).

### بحث و نتیجه‌گیری

پرورش طیور به ویژه مرغ بومی از گذشته‌های دور در ایران رایج بوده است و امروزه در بیشتر روستاها، کمتر خانه‌ای را می‌توان یافت که فاقد پرندگان بومی باشد. خانواده‌های روستایی و عشایری، با نگهداری تعدادی مرغ و خروس، آن‌ها را پرورش می‌دهد و با استفاده از گوشت، تخم و پر آن‌ها، بخشی از نیازهای افراد خانواده را برطرف می‌کردند. با افزایش جمعیت و تغییر شرایط اقتصادی و اجتماعی، پرورش طیور بومی نیز گسترش پیدا کرده به طوری که خیلی از خانوارهای شهری نیز اقدام به تهیه و نگهداری چندین مرغ و خروس کرده‌اند که گاهی به دلیل عدم آگاهی و نگهداری اشتباه باعث تلف شدن جوجه‌ها، مرغ و خروس‌ها شده‌اند. بدنبال آن میزان حساسیت این پرندگان به بسیاری از بیماری‌ها و عفونت‌ها نیز افزایش یافت به طوری که بعضی از این گونه بیماری‌ها که حتی در گذشته مشاهده نگردید، امروزه موجب بروز خسارات فراوانی به روستائیان و پرورش دهندگان می‌شود. آبله یک بیماری ویروسی و واگیردار در طیور می‌باشد که با مرگ و میر نیز همراه است. اکثر پرندگان

با دیگر توالی‌های مشابه از ایران و جهان موجود در Genbank مقایسه شده است.

تغییرات نوکلئوتیدها در محل اتصال پرایمرها ممکن است باعث کاهش حساسیت و ویژگی آزمایش PCR شود. بویژه در مورد سویه‌های Avipoxvirus، بدلیل تفاوت‌های چشمگیر ژنوم، پیدا کردن یک ناحیه حفاظت شده برای چسبیدن پرایمرها دشوار است (۱۲). ژن *fpv167* به علت حفاظت شدگی نسبی برای آزمایش PCR هدف مناسبی است (۵). ضایعات هیستوپاتولوژیک مشاهده شده در مطالعه حاضر مشابه با مشاهدات سایر محققین بود که دژنراسانس، هیپرتروفی و هیپرپلازی سلول‌های پوششی و گنجیدگی‌های درون سیتوپلاسمی ائوزینوفیلیک بزرگ در سلول‌های مبتلا مشاهده کرده بودند (۴، ۷، ۸، ۳۲). اگرچه معمولاً تشخیص بیماری آبله بر مبنای علائم بالینی، کالبدگشایی و یافته‌های هیستوپاتولوژی دشوار نیست، اما روش PCR قادر به تشخیص مقادیر بسیار کم ویروس در نمونه‌های آلوده است (۱۰). از این جهت روش بکار رفته در مطالعه حاضر می‌تواند برای تشخیص موارد همه‌گیری آبله در گله‌های طیور بومی در مراحل اولیه بیماری بکار رود.

توالی‌های نوکلئوتیدی می‌تواند حاوی اطلاعات با اهمیتی در مورد ویژگی‌های ویروس عامل همه‌گیری باشد و مقایسه توالی‌های بدست آمده از جدایه‌های مختلف ویروس آبله در مطالعات اپیدمیولوژیک مورد استفاده قرار می‌گیرد. مقایسه توالی نوکلئوتیدی ژن *fpv167* جدایه‌های Avipoxvirus (شامل جدایه‌های ماکیان و قناری) ایران تعداد ۱۱۹ تفاوت نوکلئوتیدی ثابت بین این دو دسته نشان داد که بر مبنای تفاوت آمینواسیدی منجر به اختلاف در ۳۵ آمینواسید می‌شود. در مقایسه جدایه‌های بدست آمده از مطالعه حاضر (جدایه LNHF-2 بدست آمده در این مطالعه از بروز بیماری در بوقلمون بدست آمده است) با یکدیگر و با جدایه بوقلمون GB 134/01 هیچ اختلاف آمینواسیدی در ژن *fpv167* دیده نشد. بنابراین میزان اختلاف بین گونه‌ای بین جدایه ماکیان بررسی شده در این مطالعه و جدایه‌های بوقلمون مثل IR/H 335/12 بسیار کمتر از جدایه‌های قناری مثل IR/H 364/12 بود. بررسی تعداد بیشتری از ویروس‌های Turkey pox و Fowl pox ایران از نظر ژن‌های *fpv167* و *fpv140* نکات مهمی را در این خصوص آشکار خواهد کرد و چه بسا انتقال بین گونه‌ای بین این دو گونه روی داده باشد. اگرچه، شواهدی دال بر انتقال بین گونه‌ای ویروس Fowl pox به بوقلمون پیش از این هم گزارش شده است. برخی مطالعات انجام شده حاکی از افزایش توانایی Avipoxvirus در شکستن سد بین گونه‌ای و انتقال از یک گونه به گونه دیگر است (۱۶، ۳۲). در این صورت آلودگی ماکیان بومی ممکن است تهدیدی برای گونه‌های حیات وحش باشد. پاور و همکاران در سال ۲۰۱۱ بیان کردند که ویروس آبله جدا شده از گونه‌های پرندگان در معرض انقراض حیات وحش هندوستان از ماکیان بومی منشأ گرفته است (۲۵).

آنالیزهای فیلوژنتیک انجام شده روی جدایه‌های Avipoxvirus به طور کلی سه دسته A (Fowl pox-like virus) و B (Canary pox-like virus) و C (psittacine pox virus) ایجاد می‌کند و در هر دسته هم زیر دسته‌هایی وجود دارد (۱، ۱۲، ۲۲). نتایج آنالیز فیلوژنتیک انجام شده در این مطالعه هم نشان داد که الگوی اشاره شده در دسته‌بندی جدایه‌های Avipoxvirus وجود دارد و جدایه بررسی شده در این مطالعه از نظر

ژن *fpv167* در دسته A در کنار جدایه‌های FWPV65 بدست آمده از ماکیان در تانزانیا، Elsharqyia FWPV1 بدست آمده از ماکیان در مصر و GB 134/01 بدست آمده از بوقلمون در آلمان قرار می‌گیرد. در بررسی آنالیز فیلوژنتیک همچنین مشخص شد که جدایه‌های بررسی شده در مطالعه حاضر با دیگر جدایه‌های آبله بدست آمده از بوقلمون و ماکیان در ایران در یک زیر دسته قرار نمی‌گیرند که ناشی از تفاوت ژنتیکی آن‌هاست. این مساله نشان می‌دهد که جدایه‌های بدست آمده از طیور بومی در مطالعه حاضر با یکدیگر و با جدایه‌های در گردش در جمعیت طیور صنعتی از نظر بیماری‌زایی و آنتی ژنتیکی متفاوت است و دست کم می‌توان گفت که تنوع ژنتیکی قابل توجهی در بین جدایه‌های Avipoxvirus در کشور ما وجود دارد. این درحالیست که تعداد اندکی توالی ژنتیکی Avipoxvirus مربوط به ایران در Genbank وجود دارد. جارمین و همکاران در سال ۲۰۰۶ در آنالیز فیلوژنتیک جدایه‌های Avipoxvirus علاوه بر ژن *fpv167* از یک لوکوس دیگر (*fpv140*) هم استفاده کردند و نتیجه گرفتند که اختلافات بین سویه‌ها در آنالیز اخیر بهتر آشکار می‌شود (۱۲). بنابراین بررسی جدایه‌های Avipoxvirus ایران از نظر این لوکوس مفید خواهد بود. بدون شک مطالعات بیشتر و بررسی تعداد دیگری جدایه آبله از گله‌های مرغ بومی در نقاط مختلف کشور، یافته‌های این مطالعه را در خصوص تفاوت‌های ژنتیکی جدایه‌های Avipoxvirus ایران کامل خواهد کرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج مطالعه حاضر نشان‌دهنده‌ی حضور ویروس آبله پرندگان در طیور بومی حومه شهرستان خرم آباد بود. تلفات طیور بومی بدلیل آبله پرندگان منجر به آسیب به اقتصاد مناطق روستایی می‌گردد. علاوه بر این، طیور بومی مبتلا می‌تواند به عنوان منبع بیماری برای گله‌های طیور صنعتی باشند. متأسفانه هیچ درمانی برای این بیماری وجود ندارد و با توجه به نبود راه‌های درمان بیماری‌های ویروسی، اطلاع رسانی مناطق روستایی جهت واکسیناسیون طیور بومی امری ضروری به نظر می‌رسد.

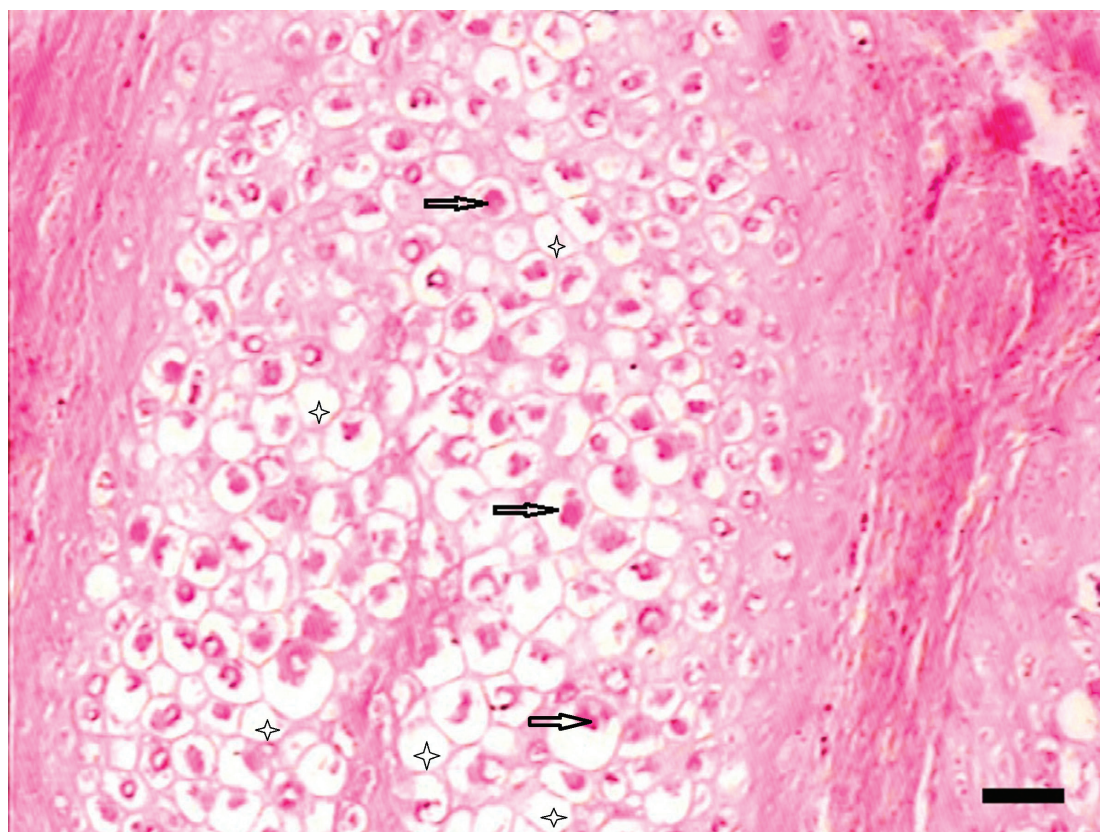
### منابع مورد استفاده

1. Adams, C.J., A. Sanford, H. Feldman, M. Jonathan and A.C. Sleeman. 2005. Phylogenetic analysis of avian poxviruses among free-ranging birds of Virginia. *Avian Dis* 49: 601-605.
2. Afonso, C.L., E.R. Tulman, Z., Lu, L. Zsak, G.F. Kutishand and D.L. Rock. 2000. The genome of fowlpox virus. *J Virol* 74: 3815-3831.
3. Ariyoshi, R., K. Takase, Y. Matsuura, K. Deguchi, A. Ginna-ga and H. Fujikawa. 2003. Vaccination against fowlpox virus via drinking water. *J Vet Med Sci* 65(10):1127-1130.
4. Beytut, E. and M. Haligur. 2007. Pathological, immunochemical, and electron microscopic findings in the respiratory tract and skin of chickens naturally infected with avipoxvirus. *Turkish J Vet Anim Sci* 31(1): 1-7.

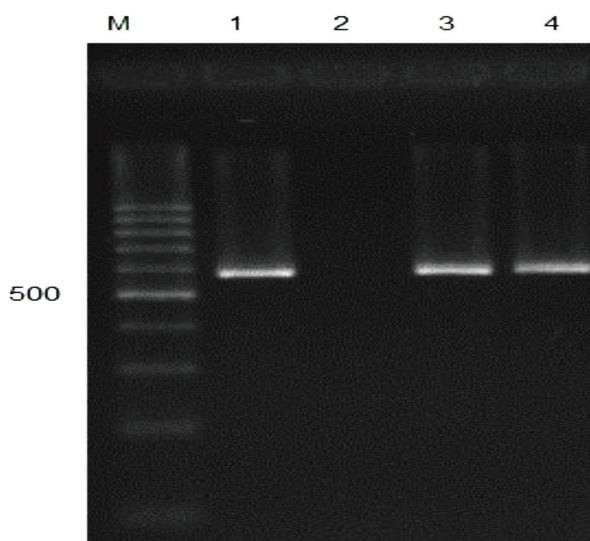
5. Binns, M.M., M.G. Bournsnel, F.M. Tomley and J. Campbell. 1989. Analysis of the fowlpoxvirus gene encoding the 4b core polypeptide and demonstration that it possesses efficient promoter sequences. *Virology* 170: 288-291.
6. Bolte, A.L., J. Meurer and E.F. Kaleta. 1999. Avian host spectrum of avipoxviruses. *Avian Pathology* 28: 415-432.
7. Boulanger, D., T. Smithband and M. A. Skinner. 2000. Morphogenesis and release of Fowl Pox Virus. *J Gen Virol* 81: 675 -687.
8. Silva, P. S., T. Batinga, T. S. Sales, E.G. Herval, I. Ramos, P.C. Maia and L.B. Fernandes. 2009. Fowlpox: identification and adaptation of prophylactic measures in backyard chickens in Bahia, Brazil. *Braz J Poult Sci* 11 (2): 115-119.
9. Deem, S.L., D.J. Heard and J.H. Fox. 1997. Avian pox in eastern screech owls and barred owls from Florida. *J Wildlife Dis* 33: 323-327.
10. Fallavena, L.B., N.C. Rodrigues, W. Scheufler, N. S. Martins, A.C. Braga, C.P. Salle and H.L. Moraes. 1993. Atypical fowlpox in broiler chickens in southern Brazil. *Vet Rec*, 39(4): 902-906.
11. Fatunmbi, O.O. and W.M. Reed. 1996. Evaluation of a Commercial Modified Live Virus Fowl Pox Vaccine for the Control of "Variant" in Fowl Poxvirus Infections. *Avian Dis* 40(3): 582-587.
12. Jarmin, S., R. Manvell, R.E. Gough, S.M. Laidlaw and M.A. Skinner. 2006. Avipoxvirus phylogenetics: identification of a PCR length polymorphism that discriminates between the two major clades. *J Gen Virol* 87: 2191-2201.
13. Gholami-Ahangaran, M., N. Zia-Jahromi and A. Namjoo. 2014. Molecular detection of avian pox virus from nodular skin and mucosal fibrinonecrotic lesions of Iranian backyard poultry. *Trop Anim Health Prod* 46(2): 349-353.
14. Gülbahar, M.Y., M. Çabalar and B. Boynukara. 2005. Avipoxvirus infection in Quails. *Turkish J Vet Anim Sci* 29:449-454.
15. Hernandez-Divers, S.M., P. Villegas, F. Prieto, J.C. Unda, N. Stedman, B. Ritchie, R. Carroll, S.J. Hernandez-Divers. 2006. A Survey of Selected Avian Pathogens of Backyard Poultry in North-western Ecuador. *J Avian Med Surg* 20(3):147-158.
16. Hess, C., B. Maegdefrau-Pollan, I. Bilic, D. Liebhart, S. Richter and P. Mitsch. 2011. Outbreak of cutaneous form of poxvirus on a commercial turkey farm caused by the species fowlpox. *Avian Dis* 55:714-718.
17. Hsieh, Y.C., S.H. Chen, C.W. Wang, Y.F. Lee, W.C. Chung, M.C. Tsai, T.C. Chang, Y.Y. Lien and S.S. Tsai. 2005. Unusual pox lesions found in Chinese jungle mynahs (*Acridotheres cristatellus*). *Avian Pathol* 34(5): 415-417.
18. Khan, A., A. Yousaf, M.Z. Khan, M. Siddique, S.T. Gul and F. Mahmood. 2009. Cutaneous form of pox infection among captive peafowl (*Pavo cristatus*) chicks. *Avian Pathol* 38: 65-70.
19. Kirmse, P. 1967. Pox in wild birds: an annotated bibliography. *J Wildlife Dis* 3: 14-20.
20. Lawson, B., S. Lachish, K.M. Colville, C. Durrant and K.M. Peck. 2012. Emergence of a novel avian pox disease in British tit species. *PLoS ONE* 7(11): 1-13.
21. Lee, L.H. and K.H. Lee. 1997. Application of the polymerase chain reaction for the diagnosis of fowlpoxvirus infection. *J Virol Methods* 63:113-119.
22. Luschow, D., T. Hoffmann and H.M. Hafez. 2004. Differentiation of avian poxvirus strains on the basis of nucleotide sequences of 4b gene fragment. *Avian Dis* 48:453-462.
23. Manarolla, G., G. Pisoni, G. Sironi and T. Rampin. 2010. Molecular biological characterization of avian poxvirus strains isolated from different avian species. *Vet Microbiol* 140: 1-8.
24. Nayeri Fasaei, B., O. Madadgar, A. Ghalyanchi Langeroodi and M.M. Ghafari. 2014. Molecular detection and phylogenetic analysis of Avipoxvirus strains isolated from different bird species. *Iranian J Vet Res* 15(1): 40-44.
25. Pawar, R.M., S.S. Bhushan, A. Poornachandar, U. Lakshmikanth and S. Shiva. 2011. Avian pox infection in different wild birds in India. *Europ J Wildlife Res* 57: 785-793.
26. Pledger, A. 2006. Avian pox virus infection in a mourning dove. *Can Vet J* 46: 1143-1145.
27. Tanizaki, E., T. Kotani and Y. Odagiri. 1986. Pathological changes of tracheal mucosa in chickens infected with fowl pox virus. *Avian Dis* 31(1): 169-175.
28. Tripathy, D.N. and W.M. Reed. 2003. Pox. pp. 253-269. In: Diseases of Poultry, 11th Edition, Saif, Y.M., Barnes, H.J. Glisson, J.R. Fadly, A.M., Mc Dougald L.R. and Swayne, D.E., eds. Iowa State University Press, Ames, Iowa, USA.
29. Tulman, E.R., C.L. Afonso, Z. Lu, L. Zsak, G.F. Kutish and D.L. Rock. 2004. The genome of canarypox virus. *J Virol* 78: 353-366.
30. Van Riper, C., S.G. Van Riper and W.R. Hansen. 2002. Epizootiology and effect of avian pox on Hawaiian forest birds. *The Auk* 119(4): 929-942.
31. Weli, S.C., T. Traavik, M. Tryland, D.H. Coucheron and O. Nilssen. 2004. Analysis and comparison of the 4b core protein gene of avipoxviruses from wild birds: evidence for interspecies spatial phylogenetic variation. *Arch Virol* 149: 2035-2046.
32. Yoshikawa, M.T. and J. Alam. 2002. Histopathological studies of fowl pox in bantams. *Int J Poult Sci* 1(6): 197-199.
33. Zhao, K., W. He, S. Xie, D. Song, H. Lu, W. Pan, P. Zhou, W. Liu, R. Lu, J. Zhou, and F. Gao. 2014. Highly pathogenic fowlpox virus in cutaneously infected chickens in China. *Emerg Infect Dis* 20(7): 1208-1210.



شکل ۱- آبله پرندگان. ندول‌های با اندازه مختلف بر روی تاج، ریش، اطراف پلک‌ها (شکل سمت چپ، نوک پیکان‌ها). ضایعات پنبه‌ری و زرد رنگ فرم دیفتریایی به صورت دانه های شفاف و برجسته روی حلق و اپیگلوت (شکل سمت راست، نوک پیکان).



شکل ۲: آبله پرندگان. واکوئل های با اندازه‌های مختلف (اشکال ستاره‌ای) به همراه گنجیگی‌های درون سیتوپلاسمی اتوزینوفیلیک در سلول‌های پوششی (نوک پیکان) (HE stain, Bar= ۱۰۰ μm).



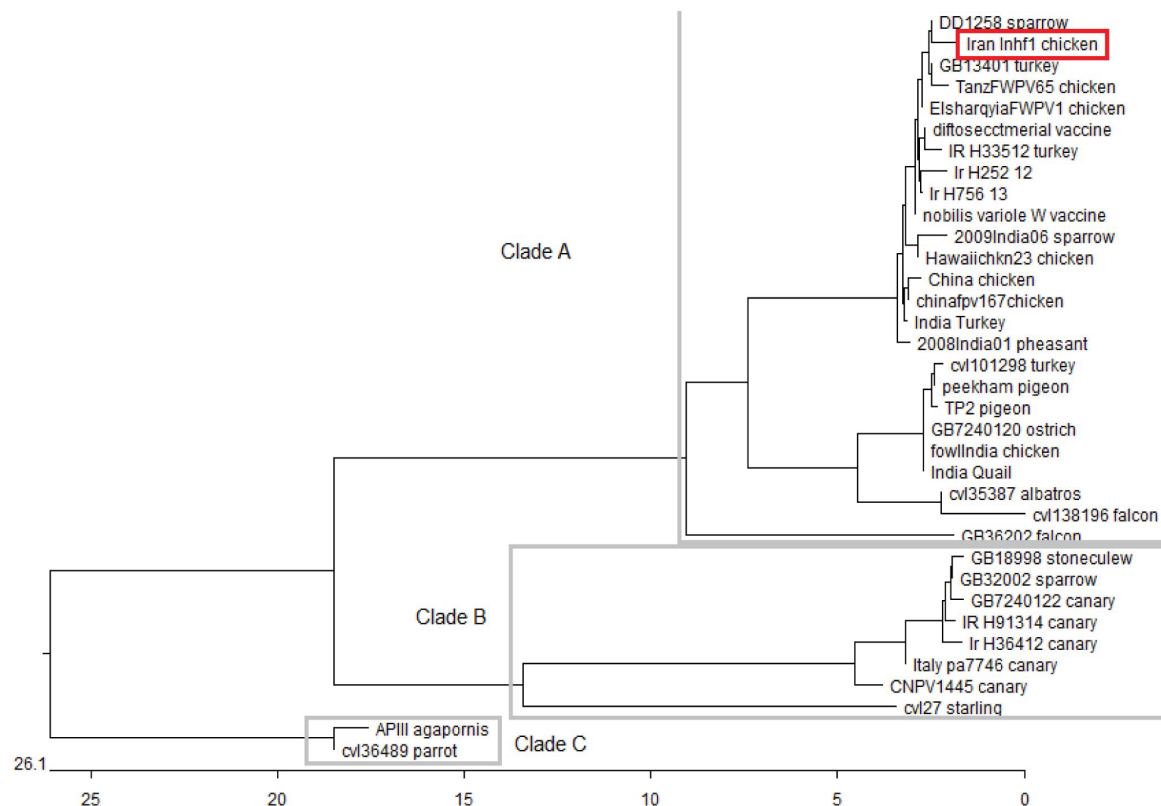
شکل ۳- نتایج PCR بدست آمده از نمونه پرده کوریوآلانتوئیک و نمونه بافت آلوده: M= مارکر ۱۰۰ جفت باز (Canada, Fermentas)، ۱= کنترل مثبت، ۲= کنترل منفی، ۳= پرده کوریوآلانتوئیک، ۴= نمونه مثبت

| Percent Identity |      |      |      |      |      |      |      |      |      |      |       |       |      |       |      |       |      |      |      |       |      |      |       |       |      |      |      |      |       |       |       |       |       |                |                        |  |  |
|------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------|-------|------|-------|------|-------|------|------|------|-------|------|------|-------|-------|------|------|------|------|-------|-------|-------|-------|-------|----------------|------------------------|--|--|
|                  | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11    | 12    | 13   | 14    | 15   | 16    | 17   | 18   | 19   | 20    | 21   | 22   | 23    | 24    | 25   | 26   | 27   | 28   | 29    | 30    | 31    | 32    | 33    |                |                        |  |  |
| 1                |      | 98.6 | 74.7 | 99.3 | 99.4 | 76.2 | 73.3 | 91.6 | 75.9 | 90.5 | 92.9  | 99.6  | 99.4 | 99.6  | 91.9 | 99.6  | 74.7 | 74.9 | 87.6 | 91.1  | 74.7 | 99.2 | 91.9  | 99.3  | 97.6 | 99.5 | 97.8 | 74.2 | 74.2  | 99.0  | 75.4  | 99.6  | 90.8  | 1              | 2008India01 pheasa     |  |  |
| 2                | 1.4  |      | 74.3 | 98.6 | 98.9 | 76.1 | 73.3 | 91.3 | 75.6 | 89.5 | 91.9  | 99.1  | 99.6 | 99.1  | 90.8 | 99.1  | 74.3 | 74.5 | 87.1 | 90.2  | 74.3 | 99.4 | 90.8  | 98.6  | 97.1 | 98.9 | 97.2 | 74.0 | 74.0  | 98.3  | 75.2  | 99.6  | 90.2  | 2              | 2009India06 sparrow    |  |  |
| 3                | 31.2 | 31.8 |      | 74.7 | 72.9 | 72.2 | 74.3 | 72.4 | 99.6 | 71.9 | 74.2  | 74.7  | 74.3 | 74.7  | 74.5 | 74.7  | 74.9 | 75.1 | 73.2 | 74.5  | 74.7 | 73.1 | 74.5  | 74.7  | 71.9 | 74.5 | 72.1 | 75.1 | 74.8  | 74.7  | 75.8  | 74.4  | 73.1  | 3              | APIII agapornis        |  |  |
| 4                | 1.6  | 2.3  | 31.2 |      | 99.8 | 76.1 | 73.3 | 91.6 | 75.8 | 90.5 | 93.1  | 100.0 | 99.8 | 100.0 | 92.0 | 100.0 | 74.3 | 74.5 | 87.6 | 91.1  | 74.3 | 99.4 | 92.0  | 99.8  | 97.6 | 99.8 | 97.6 | 74.0 | 74.0  | 99.3  | 75.2  | 100.0 | 90.8  | 4              | TanzFWPV65 chicken     |  |  |
| 5                | 0.6  | 1.1  | 31.1 | 0.2  |      | 76.1 | 72.4 | 89.2 | 75.6 | 91.7 | 92.9  | 97.4  | 99.0 | 98.7  | 91.7 | 97.4  | 72.0 | 72.2 | 85.7 | 89.3  | 72.0 | 93.7 | 91.7  | 99.8  | 99.2 | 99.2 | 99.2 | 74.0 | 74.0  | 99.8  | 72.0  | 99.4  | 91.0  | 5              | chinafpv167chicken     |  |  |
| 6                | 28.9 | 29.1 | 33.2 | 29.2 | 29.2 |      | 78.6 | 71.1 | 74.5 | 75.3 | 75.1  | 74.1  | 74.3 | 75.5  | 75.3 | 74.1  | 96.0 | 96.2 | 72.8 | 73.4  | 95.8 | 70.4 | 75.3  | 76.1  | 76.2 | 75.9 | 76.2 | 96.3 | 96.6  | 76.1  | 93.1  | 74.2  | 73.1  | 6              | CNPV1445 canary        |  |  |
| 7                | 31.7 | 31.7 | 30.1 | 31.7 | 31.8 | 22.1 |      | 75.1 | 74.7 | 73.7 | 75.1  | 73.3  | 73.9 | 73.3  | 75.1 | 73.3  | 82.1 | 82.3 | 75.9 | 75.1  | 81.9 | 72.6 | 75.1  | 73.3  | 72.2 | 73.3 | 72.2 | 84.0 | 84.6  | 73.3  | 82.5  | 73.6  | 74.5  | 7              | cv127 starling         |  |  |
| 8                | 8.3  | 8.8  | 33.0 | 8.3  | 8.3  | 32.9 | 29.3 |      | 72.6 | 94.5 | 100.0 | 91.6  | 92.3 | 91.6  | 97.1 | 91.6  | 73.0 | 73.2 | 87.8 | 97.1  | 73.0 | 89.2 | 97.1  | 91.6  | 88.4 | 91.6 | 88.6 | 74.0 | 73.8  | 91.6  | 73.8  | 92.1  | 97.2  | 8              | cv135387 albatros      |  |  |
| 9                | 29.3 | 29.8 | 0.4  | 29.6 | 29.9 | 31.8 | 29.5 | 32.7 |      | 73.9 | 75.4  | 74.9  | 74.5 | 75.5  | 75.8 | 74.9  | 75.3 | 75.5 | 73.2 | 74.3  | 75.1 | 74.8 | 75.8  | 75.9  | 74.0 | 75.2 | 74.0 | 75.5 | 75.3  | 75.8  | 76.2  | 74.6  | 73.3  | 9              | cv136489 parrot        |  |  |
| 10               | 9.1  | 10.2 | 31.9 | 10.2 | 8.8  | 31.0 | 30.0 | 3.0  | 30.5 |      | 97.1  | 88.1  | 90.5 | 88.3  | 99.3 | 88.1  | 71.6 | 71.7 | 84.8 | 96.5  | 71.6 | 85.4 | 99.3  | 90.5  | 89.5 | 88.8 | 90.2 | 74.6 | 74.4  | 90.5  | 71.8  | 90.6  | 100.0 | 10             | cv1101298 turkey       |  |  |
| 11               | 11.8 | 12.4 | 33.8 | 12.1 | 11.2 | 34.8 | 29.3 | 0.0  | 34.9 | 7.3  |       | 92.8  | 92.3 | 92.9  | 97.9 | 92.8  | 72.1 | 72.3 | 88.4 | 97.8  | 72.1 | 92.1 | 97.9  | 93.3  | 90.8 | 92.7 | 91.0 | 74.0 | 73.8  | 92.1  | 75.0  | 92.1  | 97.2  | 11             | cv1138196 falcon       |  |  |
| 12               | 0.4  | 0.9  | 31.2 | 0.0  | 0.2  | 29.9 | 31.7 | 8.3  | 30.9 | 9.3  | 9.3   |       | 99.8 | 100.0 | 91.6 | 100.0 | 74.3 | 74.5 | 88.1 | 91.6  | 74.3 | 97.5 | 91.6  | 100.0 | 95.9 | 99.8 | 96.1 | 74.0 | 74.0  | 100.0 | 75.2  | 100.0 | 90.8  | 12             | DD1258 sparrow         |  |  |
| 13               | 0.6  | 0.4  | 31.6 | 0.2  | 0.4  | 29.5 | 31.5 | 8.2  | 31.2 | 9.6  | 8.2   | 0.2   |      | 99.8  | 91.1 | 99.8  | 74.3 | 74.5 | 87.7 | 91.1  | 74.3 | 96.8 | 91.1  | 99.8  | 98.8 | 99.8 | 99.0 | 74.0 | 74.0  | 99.8  | 72.8  | 99.6  | 90.5  | 13             | diffsectmerial vacc    |  |  |
| 14               | 0.4  | 0.9  | 31.2 | 0.0  | 0.2  | 29.4 | 31.7 | 8.3  | 29.9 | 9.2  | 9.9   | 0.0   | 0.2  |       | 91.8 | 100.0 | 74.3 | 74.5 | 87.6 | 91.1  | 74.3 | 98.8 | 91.8  | 100.0 | 96.3 | 99.1 | 96.5 | 74.0 | 74.0  | 100.0 | 75.2  | 100.0 | 90.8  | 14             | ElshargyiaFWPV1 ch     |  |  |
| 15               | 8.7  | 9.9  | 31.9 | 9.5  | 8.8  | 31.0 | 29.9 | 2.9  | 30.0 | 0.2  | 6.1   | 9.0   | 9.5  | 8.7   |      | 91.6  | 74.2 | 74.3 | 88.4 | 100.0 | 74.2 | 91.0 | 100.0 | 92.2  | 89.7 | 91.6 | 89.9 | 74.6 | 74.4  | 91.4  | 75.6  | 90.9  | 100.0 | 15             | fowlIndia chicken      |  |  |
| 16               | 0.4  | 0.9  | 31.2 | 0.0  | 0.2  | 29.9 | 31.7 | 8.3  | 30.9 | 9.3  | 9.3   | 0.0   | 0.0  | 9.0   |      | 74.3  | 74.5 | 88.1 | 91.6 | 74.3  | 97.5 | 91.6 | 100.0 | 95.9  | 99.8 | 96.1 | 74.0 | 74.0 | 100.0 | 75.2  | 100.0 | 90.8  | 16    | GB13401 turkey |                        |  |  |
| 17               | 31.3 | 31.8 | 31.2 | 31.9 | 32.5 | 2.2  | 20.1 | 34.1 | 30.5 | 32.9 | 34.8  | 31.9  | 31.9 | 31.9  | 32.3 | 31.9  |      | 99.8 | 75.1 | 74.5  | 99.4 | 72.9 | 74.5  | 74.3  | 71.4 | 74.2 | 71.4 | 99.2 | 99.4  | 74.3  | 99.8  | 74.0  | 73.3  | 17             | GB18998 stoneculw      |  |  |
| 18               | 31.0 | 31.5 | 30.8 | 31.6 | 32.1 | 2.0  | 19.8 | 33.7 | 30.2 | 32.5 | 34.5  | 31.6  | 31.6 | 31.6  | 31.9 | 31.6  | 0.2  |      | 75.3 | 74.7  | 99.6 | 73.1 | 74.7  | 74.5  | 71.6 | 74.3 | 71.6 | 99.4 | 99.6  | 74.5  | 100.0 | 74.2  | 73.5  | 18             | GB32002 sparrow        |  |  |
| 19               | 13.2 | 13.8 | 34.1 | 13.2 | 13.5 | 32.0 | 28.7 | 13.3 | 33.5 | 13.5 | 14.2  | 13.2  | 13.6 | 13.2  | 12.9 | 13.2  | 30.7 | 30.4 |      | 88.4  | 75.1 | 86.0 | 88.4  | 87.6  | 83.5 | 87.4 | 83.7 | 74.8 | 75.1  | 87.6  | 75.6  | 87.6  | 88.4  | 19             | GB36202 falcon         |  |  |
| 20               | 9.0  | 10.0 | 31.9 | 9.0  | 9.1  | 31.8 | 29.9 | 2.9  | 31.6 | 0.0  | 3.8   | 9.0   | 9.5  | 9.0   | 0.0  | 9.0   | 32.3 | 31.9 | 12.9 |       | 74.2 | 89.0 | 100.0 | 91.1  | 87.1 | 90.9 | 87.2 | 74.6 | 74.4  | 91.1  | 75.6  | 90.9  | 100.0 | 20             | GB7240120 ostrich      |  |  |
| 21               | 31.3 | 31.8 | 31.5 | 31.9 | 32.5 | 2.4  | 20.4 | 34.1 | 30.8 | 32.9 | 34.8  | 31.9  | 31.9 | 31.9  | 32.3 | 31.9  | 0.6  | 0.4  | 30.7 | 32.3  |      | 72.9 | 74.5  | 74.3  | 71.4 | 74.2 | 71.4 | 99.0 | 99.2  | 74.3  | 99.6  | 74.0  | 73.3  | 21             | GB7240122 canary       |  |  |
| 22               | 0.8  | 0.6  | 31.3 | 0.6  | 0.6  | 29.5 | 30.5 | 8.5  | 30.3 | 10.1 | 8.4   | 0.4   | 0.6  | 0.4   | 9.7  | 0.4   | 31.6 | 31.3 | 13.3 | 9.7   | 31.6 |      | 91.0  | 99.4  | 93.3 | 97.5 | 93.5 | 73.0 | 73.4  | 99.6  | 75.0  | 96.5  | 87.2  | 22             | Hawaichkn23 chicke     |  |  |
| 23               | 8.7  | 9.9  | 31.9 | 9.5  | 8.8  | 31.0 | 29.9 | 2.9  | 30.0 | 0.2  | 6.1   | 9.0   | 9.5  | 8.7   | 0.0  | 9.0   | 32.3 | 31.9 | 12.9 | 0.0   | 32.3 | 9.7  |       | 92.2  | 89.7 | 91.6 | 89.9 | 74.6 | 74.4  | 91.4  | 75.6  | 90.9  | 100.0 | 23             | India Quail            |  |  |
| 24               | 0.7  | 1.4  | 31.2 | 1.1  | 0.2  | 29.2 | 31.7 | 8.3  | 29.3 | 9.1  | 11.4  | 0.0   | 0.2  | 0.0   | 8.3  | 0.0   | 31.9 | 31.6 | 13.2 | 9.0   | 31.9 | 0.6  | 8.3   |       | 98.0 | 99.8 | 98.2 | 74.0 | 74.0  | 99.7  | 75.2  | 100.0 | 90.8  | 24             | India Turkey           |  |  |
| 25               | 1.7  | 2.3  | 31.5 | 1.7  | 0.8  | 29.5 | 32.2 | 9.2  | 30.3 | 10.6 | 14.0  | 0.6   | 0.6  | 0.6   | 10.4 | 0.6   | 32.8 | 32.5 | 14.4 | 10.0  | 32.8 | 1.0  | 10.4  | 1.3   |      | 96.9 | 98.5 | 73.8 | 73.8  | 97.6  | 72.4  | 99.0  | 90.2  | 25             | Ir H252 12             |  |  |
| 26               | 0.5  | 1.1  | 31.4 | 0.2  | 0.4  | 29.4 | 31.7 | 8.3  | 30.4 | 9.3  | 10.4  | 0.2   | 0.2  | 0.2   | 9.0  | 0.2   | 32.1 | 31.8 | 13.4 | 9.2   | 32.1 | 0.4  | 9.0   | 0.2   | 0.8  |      | 96.9 | 74.0 | 74.0  | 99.8  | 75.2  | 100.0 | 90.8  | 26             | Ir H756 13             |  |  |
| 27               | 1.3  | 1.9  | 31.0 | 1.3  | 0.6  | 28.9 | 31.9 | 8.8  | 30.1 | 10.1 | 13.1  | 0.2   | 0.2  | 0.2   | 10.0 | 0.2   | 32.0 | 31.7 | 14.0 | 9.5   | 32.0 | 0.6  | 10.0  | 0.9   | 1.3  | 0.6  |      | 74.2 | 74.2  | 97.6  | 72.2  | 99.2  | 90.4  | 27             | IR H33512 turkey       |  |  |
| 28               | 31.9 | 32.3 | 30.9 | 32.2 | 32.2 | 2.7  | 18.2 | 33.3 | 30.3 | 32.4 | 33.3  | 32.2  | 32.2 | 32.2  | 32.4 | 32.2  | 0.8  | 0.6  | 31.1 | 32.4  | 1.0  | 32.7 | 32.4  | 32.2  | 32.6 | 32.2 | 31.9 |      | 99.0  | 74.0  | 97.6  | 74.0  | 74.4  | 28             | Ir H36412 canary       |  |  |
| 29               | 31.7 | 32.0 | 31.3 | 32.0 | 32.0 | 2.5  | 17.4 | 33.5 | 30.6 | 32.4 | 33.5  | 32.0  | 32.0 | 32.0  | 32.4 | 32.0  | 0.6  | 0.4  | 30.5 | 32.4  | 0.8  | 32.1 | 32.4  | 32.0  | 32.4 | 32.0 | 31.7 | 1.0  |       | 74.0  | 98.0  | 74.0  | 74.2  | 29             | IR H91314 canary       |  |  |
| 30               | 2.1  | 2.8  | 31.2 | 0.7  | 0.2  | 29.2 | 31.7 | 8.3  | 29.6 | 10.2 | 13.4  | 0.0   | 0.2  | 0.0   | 10.6 | 0.0   | 31.9 | 31.6 | 13.2 | 9.0   | 31.9 | 0.4  | 10.6  | 2.1   | 1.7  | 0.2  | 1.3  | 32.2 | 32.0  |       | 75.2  | 100.0 | 90.8  | 30             | Iran Inh1f chicken     |  |  |
| 31               | 30.1 | 30.5 | 29.7 | 30.5 | 30.9 | 2.1  | 17.5 | 31.8 | 29.1 | 31.3 | 31.8  | 30.5  | 30.7 | 30.5  | 30.8 | 30.5  | 0.2  | 0.0  | 29.9 | 30.8  | 0.4  | 30.8 | 30.8  | 30.5  | 31.3 | 30.5 | 30.4 | 0.6  | 0.2   | 30.5  |       | 72.6  | 72.2  | 31             | Italy pa7746 canary    |  |  |
| 32               | 0.4  | 0.4  | 31.7 | 0.0  | 0.2  | 29.9 | 31.6 | 8.4  | 31.4 | 9.3  | 8.4   | 0.0   | 0.2  | 0.0   | 9.3  | 0.0   | 32.4 | 32.1 | 13.3 | 9.3   | 32.4 | 0.4  | 9.3   | 0.0   | 0.6  | 0.0  | 0.2  | 32.2 | 32.0  | 0.0   | 30.8  |       | 90.6  | 32             | nobilis variole W vacc |  |  |
| 33               | 9.3  | 9.8  | 32.3 | 9.3  | 9.1  | 31.9 | 29.9 | 2.8  | 32.0 | 0.0  | 2.8   | 9.3   | 9.6  | 9.3   | 0.0  | 9.3   | 33.0 | 32.6 | 12.9 | 0.0   | 33.0 | 10.1 | 0.0   | 9.3   | 10.0 | 9.3  | 9.6  | 32.4 | 32.4  | 9.3   | 31.3  | 9.3   |       | 33             | peekham pigeon         |  |  |
|                  | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    | 7    | 8    | 9    | 10   | 11    | 12    | 13   | 14    | 15   | 16    | 17   | 18   | 19   | 20    | 21   | 22   | 23    | 24    | 25   | 26   | 27   | 28   | 29    | 30    | 31    | 32    | 33    |                |                        |  |  |

شکل ۴- میزان شباهت نوکلئوتیدی بر حسب درصد بین جدایه‌های تعیین توالی شده در این مطالعه با دیگر جدایه‌های Avipoxvirus ایران و جهان.

[illegible]

شکل ۵- مقایسه توالی نوکلئوتیدی ژن fpv167 جدایه‌های Avipoxvirus ایران و جدایه‌های مشابه موجود در Genbank.



شکل ۶- آنالیز فیلوژنتیک  
جدایه‌های Avipoxvirus  
ایران و دیگر جدایه‌های  
موجود در Genbank.  
دسته‌بندی جدایه‌ها به  
صورت مستطیل‌های  
خاکستری. جدایه‌های  
تعیین‌شده در این  
مطالعه به صورت مستطیل  
قرمز نشان داده شده  
است.