مجله دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، اسفند ۱۳۹۸، دوره ۷۷، شماره ۱۲، صفحه‌های ۷۳۵ تا ۷۳۹

مقاله اصیل

ارزیابی مدت زمان دفع ویروس آنفلوانزای اندمیک ایران (تحت تیپ H9N2) از مرغ نژاد تخم‌گذار

امین درخشان‌فر[۱و۲]، هادی توکلی[۳*]، جواد مویدی[۱و۲]، علی پوست فروش فرد[۲]

۱- مرکز تحقیقات علوم و فناوری تشخیص آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

۲- مرکز پژوهشی مقایسه‌ای و تجربی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز، شیراز، ایران.

۳- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان، ایران.

[*] نویسنده مسئول: کرمان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده دامپزشکی، بخش علوم درمانگاهی.

تلفن: ۳۳۲۲۲۰۴۷-۰۳۴

E-mail: tavakkoli@uk.ac.ir

چکیده

دریافت: ۱۳۹۸/۰۶/۲۳ ویرایش: ۱۳۹۸/۰۶/۳۰ پذیرش: ۱۳۹۸/۱۲/۲۰ آنلاین: ۱۳۹۸/۱۲/۲۸

زمینه و هدف: ویروس آنفلوانزای تحت تیپ H9N2 که در بسیاری از مناطق ایران به‌صورت اندمیک وجود دارد به‌عنوان یک کاندید جهت ایجاد پاندمی‌های آینده مطرح است. در مطالعه حاضر مدت زمان دفع ویروس آنفلوانزای اندمیک ایران (تحت تیپ H9N2) از طریق مدفوع و ترشحات حلقی مرغ نژاد تخم‌گذار مورد بررسی قرار گرفت.

روش بررسی: این مطالعه تجربی از تیر ۱۳۹۶ تا مهر ۱۳۹۶ در مرکز تحقیقات علوم و فناوری تشخیص آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز و بخش علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان انجام شده است. در ابتدا ویروس آنفلوانزا با مشخصات A/Chicken/Iran/SH-110/99 (H9N2) در مایع آلانتوییک تخم‌مرغ جنین‌دار کشت داده شد و EID50 ویروس با روش Reed and Muench تعیین گردید. سپس مقدار ۱۰۶ EID50/ml ویروس از طریق بینی به جوجه‌های نژادهای لاین تلقیح گردید. نمونه‌برداری از حلق و مدفوع پرندگان در روزهای ۲، ۵، ۱۰ و ۱۷ پس از تلقیح انجام شد. وجود ویروس در نمونه‌های پرندگان چالش شده با استفاده از روش مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز- رونوشت معکوس (RT-PCR) مورد ارزیابی قرار گرفت.

یافته‌ها: دفع ویروس آنفلوانزا از ترشحات حلقی و مدفوع پرندگان دو روز پس از آلودگی آغاز شد و به‌ترتیب تا روزهای ۱۰ و ۱۷ ادامه داشت. بیشترین میزان خطر آفرین بودن ماکیان تجاری مبتلا به آنفلوانزا، روزهای دو تا پنج پس از آلودگی بود.

نتیجه‌گیری: ردیابی ویروس در نمونه‌های پرندگان چالش شده با ویروس آنفلوانزای H9N2 نشان داد که ویروس به مدت طولانی‌تری می‌تواند از طریق مدفوع پرنده آلوده، در مقایسه با ترشحات حلق، به محیط اطراف منتشر گردد و برای انسان در تماس مشکل آفرین باشد.

کلمات کلیدی: ماکیان، تحت تیپ H9N2، آنفلوانزا، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز.

مقدمه

آنفلوانزا بیماری ویروسی به شدت مسری است که انسان، پرندگان و بسیاری از حیوانات را درگیر می‌کند. ویروس آنفلوانزا در خانواده ارتومیکسوویریده قرار می‌گیرد و براساس ویژگی‌های آنتی‌ژنیکی نوکلئوپروتیین و پروتیین ماتریکس به سه جنس یا تیپ A، B و C دسته‌بندی می‌شوند. ویریون‌های اورتومیکسوویروس‌ها با قطر ۱۲۰-۸۰ nm بیضی تا چندشکلی هستند، اما می‌توانند به‌صورت رشته‌ای (فیلامنتوس) هم باشند. این ویروس دارای RNA چندشکلی و با تقارن مارپیچی است و ژنوم آن از هشت قطعه RNA تک رشته‌ای تشکیل شده است که ۱۰ پروتیین را کد می‌کند. ویروس آنفلوانزای تیپ A براساس خواص آنتی‌ژنیکی آنتی‌ژن‌های

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-19]

هماگلوتینین و نورآمینیداز به تحت تیپ‌هایی طبقه‌بندی می‌شود. در حال حاضر ۱۸ نوع هماگلوتینین و ۱۱ نوع نورآمینیداز تشخیص داده شده است.[۱و۲]

گزارشات متعددی از شیوع این بیماری در مناطق مختلف جهان وجود دارد.[۳-۵] از سال ۱۹۷۵ تا به امروز، چندین همه‌گیری بزرگ آنفلوانزا به وقوع پیوسته که موجب ایجاد خسارات، مشکلات بهداشتی و حتی مرگ‌ومیر در جوامع انسانی شده است. در حال حاضر تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا بسیار مورد توجه مجامع علمی قرار گرفته است. این تحت تیپ افزون‌بر این‌که در بسیاری از مناطق جغرافیایی جهان به‌صورت اندمیک وجود دارد، به‌عنوان یک کاندید جهت ایجاد پاندمی‌های آینده نیز مطرح می‌باشد.[۶-۸] پژوهش‌های مختلف در خصوص شیوع تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا در ایران نشان داده است که این تحت تیپ به‌صورت گسترده‌ای در جمعیت‌های انسانی، طیور و دامی ایران در حال چرخش است.[۹-۱۱] ویروس‌های آنفلوانزا می‌توانند آثار جانبی مختلفی بر جنین داشته باشند و عوارض جانبی و پاتولوژیک ویروس‌ها بر مادران باردار و جنین در حال رشد همواره به‌عنوان یکی از مباحث بحث‌برانگیز در علوم پزشکی مطرح بوده است.[۱۲و۱۳] این درحالی‌است که پژوهش‌های کمی در خصوص آثار جانبی تحت تیپ H9N2 ویروس آنفلوانزا اندمیک ایران بر جنین انسان انجام شده است. از این‌رو انجام مطالعات بیشتر در خصوص آثار تراتوژنیک و پاتولوژیک این ویروس بر رشد، وزن و همچنین اندام‌های خارجی و داخلی بدن جنین ضروری می‌باشد. جنین ماکیان می‌تواند به‌عنوان یک مدل مناسب جهت ارزیابی آثار پاتولوژیک بیومولکول‌ها مطرح باشد و پژوهشگران زیادی نیز از این مدل جهت ارزیابی آثار داروها و ترکیبات مختلف بر جنین استفاده کرده‌اند.[۱۴-۱۶] مطالعه کنونی با هدف ارزیابی مدت زمان دفع ویروس آنفلوانزای اندمیک ایران (تحت تیپ H9N2) از مدفوع مرغ نژاد تخم‌گذار انجام شد.

روش بررسی

در این پژوهش جهت ارزیابی مدت زمان دفع ویروس آنفلوانزای اندمیک ایران (تحت تیپ H9N2) از پرنده آلوده و تعیین مدت زمان خطرآفرین بودن ویروس برای انسان، از ۱۴ قطعه جوجه تخم‌گذار تجاری چهار هفته نژادهای-لاین که تحت شرایط کاملا استاندارد تولید شده بود استفاده گردید. جوجه‌ها پس از انتقال به آزمایشگاه از لحاظ سلامت بررسی و تا زمان انجام آزمایش تحت شرایط استاندارد تغذیه، نور، دما و تهویه نگهداری شدند. پیش از شروع آزمایش، جوجه‌ها به‌طور تصادفی به دو گروه مساوی هفت قطعه‌ای (گروه آزمایش و گروه کنترل) تقسیم گردید. در پژوهش حاضر از جدایه ویروس با مشخصات A/Chicken/Iran/SH-110/99(H9N2) که از موسسه رازی تهیه شده بود، استفاده گردید. در ابتدا ویروس در مایع آلانتوییک تخم‌مرغ جنین‌دار ۱۰ روزه کشت داده شد و پس از برداشت، EID50 ویروس با روش رید و مانش تعیین گردید.[۱۷و۱۸] در سن ۲۸ روزگی، مقدار ۰/۲ ml مایع آلانتوییک حاوی EID50/ml ۱۰۶ ویروس آنفلوانزا از طریق قطره بینی به جوجه‌های گروه آزمایش تلقیح گردید و جوجه‌های گروه کنترل Phosphate-buffered saline (PBS) دریافت کردند. در روزهای ۲، ۵، ۱۰ و ۱۷ پس از تلقیح، سواپ حلق و مدفوع از جوجه‌ها دریافت شد و RNA آن‌ها با استفاده از RNXTM-Plus (CinnaGen Co., Tehran, Iran) براساس پروتکل شرکت سازنده استخراج گردید. سپس سنتز cDNA با استفاده از کیت Cycle Script RT Premix (Bioneer, Daejeon, Korea) انجام شد. جهت انجام تست PCR از کیت AccuPower® PCR PreMix (Bioneer, Daejeon, Korea) کره در حجم نهایی ۲۰ µl شامل ۵ µl cDNA و ۱۰ پیکومول از پرایمرهای اختصاصی (Forward:TTATATACACAAAACCTTGG و Reverse:AACACACTTGTTGTTGTRCC) استفاده گردید و برنامه دمایی شامل ۳۵ سیکل (۹۴ °C به‌مدت ۶۰ ثانیه، ۵۳ °C به‌مدت ۶۰ ثانیه، ۷۲ °C به‌مدت ۶۰ ثانیه) و در نهایت ۷۲ °C به‌مدت ۱۰ دقیقه توسط Mini Opticon real-time PCR system (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA, USA) انجام گرفت. جهت تجزیه و تحلیل آماری نتایج از SPSS software, version 21 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) استفاده شد.

یافته‌ها

مدت زمان دفع ویروس آنفلوانزای اندمیک ایران (تحت تیپ H9N2) از پرنـده آلوده به ویروس در روزهای مختلف پس از چالش

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-19]

جدول ۱: ارزیابی وجود ویروس آنفلوانزا H9N2 در نمونه‌های حلق و مدفوع مرغ تخم‌گذار چالش شده با ویروس در روزهای مختلف پس از چالش

نوع نمونه	تعداد موارد مثبت در روزهای پس از چالش ویروس			
	روز ۲	روز ۵	روز ۱۰	روز ۱۷
حلق	۷(٪۱۰۰)	٦(٪۸۵/۷)	۲(٪۲۸/٦)	۰
مدفوع	٤(٪۵۷/۱)	۷(٪۱۰۰)	۵(٪۷۱/٤)	۲(٪۲۸/٦)

از نمونه‌های حلق و مدفوع مرغ تخم‌گذار جدا گردید (جدول ۱). در نمونه‌های گرفته شده از حلق پرندگان در دومین روز پس از چالش ۱۰۰٪ پرندگان، در روز پنج پس از چالش ۸۵/۷٪ پرندگان و در روز ۱۰ پس از چالش ۲۸/٦٪ پرندگان از نظر وجود ویروس مثبت بودند، اما در روز ۱۷ پس از چالش در هیچ‌کدام از پرندگان، نمونه مثبت ویروس تشخیص داده نشد. از سوی دیگر در نمونه‌های گرفته شده از مدفوع پرندگان در روز دو پس از چالش ۵۷/۱٪ پرندگان، در روز پنج پس از چالش ۱۰۰٪ پرندگان و در روز ۱۰ پس از چالش ۷۱/٤٪ پرندگان حضور ویروس تشخیص داده شد. افزون‌براین ویروس آنفلوانزا تا روز ۱۷ پس از چالش نیز در مدفوع پرنده بیمار ردیابی گردید (٪۲۸/٦). از هیچیک از جوجه‌های گروه کنترل ویروس آنفلوانزا جدا نگردید.

بحث

در پژوهش حاضر ردیابی ویروس در نمونه‌های مدفوع پرندگان چالش شده با ویروس آنفلوانزای H9N2 نشان داد که ویروس به مدت طولانی‌تری می‌تواند از طریق مدفوع پرنده آلوده، در مقایسه با ترشحات حلق، به محیط اطراف منتشر گردد به‌طوری که تا ۱۷ روز بعد چالش پرنده با ویروس آنفلوانزا، این ویروس در مدفوع پرنده ردیابی گردید. با توجه به اینکه در مطالعات اولیه، دفع ویروس از مدفوع پرنده پس از روز ۱۷ مشاهده نشد، از این‌رو مدت زمان ۱۷ روز جهت ارزیابی مدت زمان دفع ویروس آنفلوانزای اندمیک ایران (تحت تیپ H9N2) از مرغ نژاد تخم‌گذار در نظر گرفته شد. با توجه به موارد یاد شده می‌توان نتیجه گرفت که مدفوع ماکیان تخم‌گذار آلوده می‌تواند باعث انتشار طولانی‌مدت ویروس در محیط گردد و میزان خطرآفرین بودن آن برای انسان‌های در تماس در مقایسه با ترشحات حلقی بیشتر می‌باشد. بنابراین در هنگام مواجه شدن با پرنده مبتلا به آنفلوانزا باید حداکثر تلاش را جهت کاهش تماس با پرنده به‌کار بست و از سوی دیگر این موضوع را نیز مدنظر قرار داد که ویروس می‌تواند از طریق مدفوع پرنده مبتلا به مدت ۱۷ روز در محیط دفع و به میزبان‌های حساس از جمله انسان منتقل گردد.

نتایج بررسی‌های مولکولی نیز حاکی از دفع ویروس از ترشحات نای و مدفوع پرندگان از یک روز تا ۲۰ روز پس از آلودگی بوده است. افزون‌براین، ردپای ویروس آنفلوانزای H9N2 در حیوانات دیگری مانند سگ و بوفالو نیز مورد بررسی قرار گرفته است و آنتی‌بادی اختصاصی با استفاده از روش مهار آگلوتیناسیون در آن‌ها تشخیص داده شده است. شناسایی آنتی‌بادی علیه این ویروس در سگ و بوفالو نشان‌دهنده این مطلب است که احتمال وجود یک چرخه بین پرنده، سگ و بوفالو وجود دارد، بنابراین انجام مطالعات بیشتر برای تشخیص نقش احتمالی بوفالو در انتقال بین‌گونه‌ای و بیماری‌زایی ویروس آنفلوانزای H9N2 به‌ویژه انتقال بین‌گونه‌ای با انسان ضروری به نظر می‌رسد.[۱۹و۲۰]

پیشنهاد می‌گردد که از برخورد مادران باردار طی دوران بارداری با ویروس آنفلوانزا به‌ویژه تحت تیپ H9N2 تا حد امکان پیشگیری گردد، افزون‌براین در صورت وجود مرغ تخم‌گذار مبتلا به آنفلوانزا، این پرنده می‌تواند به مدت ۱۷ روز ویروس را از طریق ترشحات آلوده خود به محیط دفع نماید و در طول این مدت بیشترین خطر را برای انسان‌های در تماس با آن و مادران باردار داشته باشد.

در پژوهش حاضر، ویروس آنفلوانزای تحت تیپ H9N2 در روزهای مختلف پس از چالش از نمونه‌های حلق و مدفوع مرغ تخم‌گذار جدا گردید. ردیابی ویروس در نمونه‌های پرندگان چالش شده با ویروس آنفلوانزای H9N2 نشان داد که ویروس به مدت طولانی‌تری می‌تواند از طریق مدفوع پرنده آلوده، در مقایسه با

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-19]

ترشحات حلق، به محیط اطراف منتشر گردد و برای انسان در تماس مشکل آفرین باشد.

سپاسگزاری: این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی تحت عنوان "ارزیابی مدت زمان خطرآفرین بودن ویروس آنفلوانزای اندمیک ایران (تحت تیپ H9N2) برای انسان از پرنده آلوده و بررسی آثار هیستوپاتولوژیک آنتی‌ژن‌های این تحت تیپ با استفاده از مدل جنینی جوجه" مصوب مرکز تحقیقات علوم و فناوری تشخیص آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی شیراز در سال ۱۳۹٤ به کد ۹۷۷۳-٤٥-۰۱-۹٤ می‌باشد که با حمایت معاونت تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی شیراز اجرا شده است.

References

1. Wiley D, Skehel J. Antigenic Variation in Influenza Virus Hemagglutinins. RNA Genetics: CRC Press; 2018. p. 149-56.
2. Tan J, Asthagiri Arunkumar G, Krammer F. Universal influenza virus vaccines and therapeutics: where do we stand with influenza B virus? *Curr Opin Immunol* 2018;53:45-50.
3. Zhou L, Chen E, Bao C, Xiang N, Wu J, Wu S, et al. Clusters of human infection and human-to-human transmission of avian influenza A (H7N9) virus, 2013-2017. *Emerg Infect Dis* 2018;24(2).
4. Yamayoshi S, Kiso M, Yasuhara A, Ito M, Shu Y, Kawaoka Y. Enhanced replication of highly pathogenic influenza A (H7N9) virus in humans. *Emerg Infect Dis* 2018;24(4):746-50.
5. Xue KS, Moncla LH, Bedford T, Bloom JD. Within-host evolution of human influenza virus. *Trends Microbiol* 2018;26(9):781-93.
6. Pusch E, Suarez D. The multifaceted zoonotic risk of H9N2 avian influenza. *Vet Sci* 2018;5(4).
7. Suttie A, Karlsson EA, Deng YM, Horm SV, Yann S, Tok S, et al. Influenza A(H5N1) viruses with A(H9N2) single gene (matrix or PB1) reassortment isolated from Cambodian live bird markets. *Virology* 2018;523:22-26.
8. Wu Y, Lin J, Yang S, Xie Y, Wang M, Chen X, et al. The molecular characteristics of avian influenza viruses (H9N2) derived from air samples in live poultry markets. Infection, Genetics and Evolution. 2018;60:191-6.
9. Anvar E, Hosseini SM, Tavasoti Kheiri M, Mazaheri V, Fazaei K, Shabani M, et al. Serological survey of avian influenza (H9N2) among different occupational groups in tehran and Qazvin provinces in Iran. *Jundishapur J Microbiol* 2013;6(4):1-4.
10. Hadipour M, Hadipourfard M, Pazira S, Jafarpour M, Azad F. Age distribution profile of H9N2 avian influenza virus antibody titers in humans. *Int J Anim Vet Adv* 2011;3(2):91-3.
11. Heidari A, Mancin M, Nili H, Pourghanbari G, Lankarani K, Leardini S, et al. Serological evidence of H9N2 avian influenza virus exposure among poultry workers from Fars province of Iran. *Virol J* 2016;13:16.
12. Katz MA, Gessner BD, Johnson J, Skidmore B, Knight M, Bhat N, et al. Incidence of influenza virus infection among pregnant women: a systematic review. *BMC Pregnancy Childbirth* 2017;17(1):155.
13. Creanga AA. Maternal mortality in the United States: a review of contemporary data and their limitations. *Clin Obstet Gynecol* 2018;61(2):296-306.
14. DeBord LC, Pathak RR, Villaneuva M, Liu HC, Harrington DA, Yu W, et al. The chick chorioallantoic membrane (CAM) as a versatile patient-derived xenograft (PDX) platform for precision medicine and preclinical research. *Am J Cancer Res* 2018;8(8):1642-60.
15. Kain KH, Miller JW, Jones-Paris CR, Thomason RT, Lewis JD, Bader DM, et al. The chick embryo as an expanding experimental model for cancer and cardiovascular research. *Dev Dyn* 2014;243(2):216-28.
16. Fauzia E, Barbhuyan TK, Shrivastava A, Kumar M, Garg P, Khan MA, et al. Chick embryo: A preclinical model for understanding ischemia–reperfusion mechanism. *Front Pharmacol* 2018;9:1034.
17. Reed LJ, Muench H. A simple method of estimating fifty per cent endpoints. *Am J Epidemiol* 1938;27(3):493-7.
18. Derakhshanfar A, Tavakkoli H. Evaluation of the embryonic pathological lesions and efficacy of amantadine against H9N2 influenza virus using chicken embryo model. *J Kerman Univ Med Sci* 2016;23(5):554-71.
19. Tajik J, Tavakkoli H, Soltani D. Serological investigation of the H9N2 avian influenza virus in slaughtered water buffaloes (Bubalus bubalis) in Khuzestan. *Arch Razi Inst* 2019;74(1):77-82.
20. Saberi M, Tavakkoli H, Najmaddini A, Rezaei M. Serological prevalence of avian H9N2 influenza virus in dogs by hemagglutination inhibition assay in Kerman, southeast of Iran. *Vet Res Forum*;10:249-53.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-19]

TUMJ Tehran University Medical Journal, March 2020; Vol. 77, No. 12: 735-739 Original Article

Assessing the excretion time of Iranian endemic influenza virus (H9N2 subtype) from laying chicken breeds

Amin Derakhshanfar Ph.D.[1,2]
Hadi Tavakkoli Ph.D.[3*]
Javad Moayedi M.Sc.[1,2]
Ali Poostforoosh Fard D.V.M.[2]

1- Diagnostic Laboratory Sciences and Technology Research Center, School of Paramedical Sciences, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
2- Center of Comparative and Experimental Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, Iran.
3- Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

[*]Corresponding author: Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.
Tel: +98-34-33222047
E-mail: tavakkoli@uk.ac.ir

Abstract

Received: 14 Sep. 2019 Revised: 21 Sep. 2019 Accepted: 10 Mar. 2020 Available online: 18 Mar. 2020

Background: The H9N2 subtype of the influenza virus, which is endemic in many regions of Iran, is considered as a candidate for future pandemics. In the present study, excretion time of the Iranian endemic influenza virus (H9N2 subtype) from the feces and pharyngeal secretions of laying chicken breeds was evaluated.

Methods: This experimental study conducted at the Diagnostic Laboratory Sciences and Technology Research Center of Shiraz University of Medical Sciences, and the Department of Clinical Science in School of Veterinary Medicine of Shahid Bahonar University of Kerman, from June 2017 to September 2017. At first, the influenza virus A/Chicken/Iran/SH-110/99 (H9N2) was cultured in the allantoic fluid of the embryonated egg and the EID50 for virus was determined by Reed and Muench method. Afterward, the Hy-Line chicks were inoculated intranasally with 106 EID50/ml of influenza virus (H9N2 subtype) and samples were collected from the oropharynx and feces of the birds on days 2, 5, 10 and 17 after inoculation. The presence of the virus in the samples of challenged birds was assessed using the real-time polymerase chain reaction (PCR) method.

Results: The influenza virus was shed from the oro-pharyngeal secretion and feces of the birds 2 days post-infection, and continued until days 10 and 17, respectively. In comparison to the oro-pharynx, the virus was recovered in the feces for a longer time. The influenza virus was detected in 100% and 57.1% of oro-pharyngeal and feces samples of the infected birds on day 2, 85.7% and 100% on day 5, 28.6% and 71.4% on day 10, and 0% and 28.6% on day 17 post-inoculation, respectively. The maximum risk of infected chicken for humans is seen from 2 to 5 days post-infection.

Conclusion: Detection of virus in the samples of birds that challenged with the H9N2 influenza virus showed that the virus could shed from the feces to the surrounding environment longer than the pharyngeal secretions and could be hazardous to humans in contact.

Keywords: chickens, H9N2 subtype, influenza, polymerase chain reaction.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2026-03-19]