

الكشف عن أنماط الفيروسات الغدية الطيرية المعزولة من حالات التهاب الكبد ذي المشتملات عند دجاج اللحم في سورية

¹ نور علي البراقي

² أ.د. محمد فاضل

(الإيداع: 2 تشرين الأول 2023، القبول: 14 كانون الثاني 2024)

الملخص:

تبين من خلال دراسة سابقة (البراقي، نور وفاضل، محمد، 2022) وجود الفيروسات الغدية الطيرية FAdVs المتسببة لالتهاب الكبد ذي المشتملات في العديد من مزارع تربية دجاج اللحم في المنطقة الساحلية وريف حمص، حيث تبين من خلال إجراء اختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR وجود الحمض الريبي النووي منقوص الأوكسجين DNA للفيروسات الغدية الطيرية في 11 عينة من أصل 15 عينة مدروسة. تم قياس تركيز DNA في نواتج تفاعل PCR لتلك العزلات وحددنا سبع عينات كانت نواتج PCR لها ذات نقاوة وتركيز جينين وذلك بهدف معرفة تسلسلها الجيني وبالتالي الكشف عن الأنماط التي تنتمي إليها، وقد تبين بعد إخضاعها للسلسلة الجينية Genetic Sequencing أن جميعها تنتمي إلى مجموعة الفيروسات الغدية الطيرية (E) وإلى النمط المصلي (8b) تحديداً. تم مقارنة التسلسل الجيني للعزلات المحلية فيما بينها لمعرفة مدى تشابهها، وقد تبين وجود تطابق 100% بين بعض العزلات، وتشابه بنسبة 98% بين بعضها الآخر، بينما كانت عينة واحدة من العينات السبعة المدروسة مختلفة بتسلسلها الجيني عن بقية العينات حيث تراوحت نسبة التشابه بين 91.2% و93.3% مع العينات الأخرى. وبمقارنة التسلسل الجيني للفيروسات الغدية الطيرية المحلية مع التسلسل الجيني للعزلات العالمية المنشورة في البنك الجيني العالمي GenBank تبين أن أقربها للفيروسات المشخصة في سورية ضمن هذا العمل هي العزلة الصينية MF573922 والبريطانية KT862811 واليابانية LC506173 وذلك بنسبة 99.8% في حين كانت مختلفة عن العزلة البلجيكية AF508955 والعزلة اليابانية KT862810.

الكلمات المفتاحية: التهاب الكبد ذي المشتملات- الفيروسات الغدية الطيرية- تفاعل البوليميراز المتسلسل- السلسلة الجينية.

¹ طالبة دراسات عليا / دكتوراه/ قسم أمراض الحيوان اختصاص أمراض الدواجن- كلية الطب البيطري- جامعة حماه.

² أستاذ أمراض الدواجن - قسم أمراض الحيوان اختصاص أمراض الدواجن- كلية الطب البيطري- جامعة حماه.

Detection of Avian Adenoviruses types isolated from cases of Inclusion Body Hepatitis in broilers in Syria

Nour Alburaki* Prof. Mohamed Fadel**

(Received: 2 October 2023, Accepted: 14 January 2024)

Abstract:

In a previous study, we revealed the presence of avian adenoviruses (FAdVs), which cause Inclusion Body Hepatitis, in some of broiler farms in Syria, which located in the coastal region and Homs countryside, whereas eleven out of fifteen studied samples were positive for presence of adenoviruses DNA after PCR test.

The DNA concentration was measured in the PCR products of the positive samples, and we identified seven samples whose PCR products had a good DNA purity and concentration, in order to know their genetic sequence and the types to which they belong to. After subjecting them to genetic sequencing, it was found that they all belong to the avian adenovirus group E and to serotype (8b).

The genetic sequences of the local isolates were compared among themselves to see how similar they were. It was found that there was a 100% match between some of the isolates, and a similarity of 98% between others, while one of the seven studied samples was different in its genetic sequence from the rest of the samples and the similarity rate ranged between 91.2% and 93.3% with the other samples.

By comparing the genetic sequence of local avian adenoviruses with the genetic sequence of global isolates published in the global GenBank, it was found that the closest to the viruses diagnosed in Syria within this work is the Chinese isolate MF573922, the British isolate KT862811, and the Japanese isolate LC506173, with a percentage of 99.8%, while it was different from the Belgian isolate AF508955 and the Japanese isolate KT862810.

Keywords: Inclusion Body Hepatitis–Fowl Adenovirus – Polymerase chain reaction–Genetic Sequencing.

* Graduate student / PhD / Department of Animal Pathology, specializing in poultry diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Hama.

** Professor of Poultry Diseases – Department of Animal Diseases – Poultry Diseases – Faculty of Veterinary Medicine – University of Hama.

أولاً: المقدمة Introduction

التهاب الكبد ذو المشتملات IBH مرض فيروسي حاد يظهر عموماً عند دجاج اللحم (الفروج) بأعمار صغيرة وغالباً ما يلاحظ بين عمر 3-7 أسابيع، وقد يظهر في بعض الحالات بعمر أقل من أسبوعين أو بعد 20 أسبوعاً. وتسببه العديد من الأنماط المصلية التي تنتمي للفيروسات الغدية الطيرية (FAdV) [Saif *et al*, 2003]. سببت هذه الفيروسات خسائر اقتصادية فادحة في قطاعان الدجاج في أغلب بلدان العالم كالولايات المتحدة الأمريكية والهند وكندا وهنغاريا وكوريا ولبنان وإسبانيا [Schachner 2018] و [Niu 2018] و [Marek 2010]. ويُعد التهاب الكبد ذو المشتملات IBH في أنواع أخرى من الطيور كالديك الرومي والحمام والإوز والبيغانيات [Swayne *et al.*, 2014].

وتشير بعض الأبحاث إلى أن الأعراض لا تظهر إلا بعد التأخر مع فيروسات أخرى أو حدوث تثبيط مناعي سابق في القطيع [Toro *et al.*, 2000] و [McFarland *et al.*, 2001]

يتصف المرض بنفوق مفاجئ Sudden Mortality ويصل ذروته في اليوم الثالث إلى الرابع ويعود لطبيعته في اليوم الخامس والسادس وقد يستمر لأسبوعين أو ثلاثة أسابيع وتتراوح نسبة النفوق عادة بين 5-10% أو أقل [Mc Ferran *et al.*, 2000]، ولكنها قد تصل أحياناً إلى 30-40% [Schachner 2018]، [Swayne *et al.*, 2014].

تكون نسبة الإصابة Morbidity بمرض التهاب الكبد ذي المشتملات منخفضة، وتظهر على الطيور أعراض عامة مثل انتفاش الريش Ruffled feathers والجثو على الأرض coughing position مع اصفرار yellowish الوجه والأرجل. تنفق الطيور خلال 48 ساعة أو قد تتعافى بعد تلك المدة وتكون نسب النفوق Mortality أعلى عند الطيور بعمر أقل من ثلاثة أسابيع. [Swayne *et al.*, 2014].

يلاحظ عند الفحص التشريحي أن التغيرات تشمل كل من الكبد والتامور والكليتين.. فيصبح الكبد باهتاً وهش القوام ويتضخم مع ظهور نزف عليه وقد يظهر نزف حبري على العضلات الهيكلية [Fitzgerlad, S.D., et al 2013].

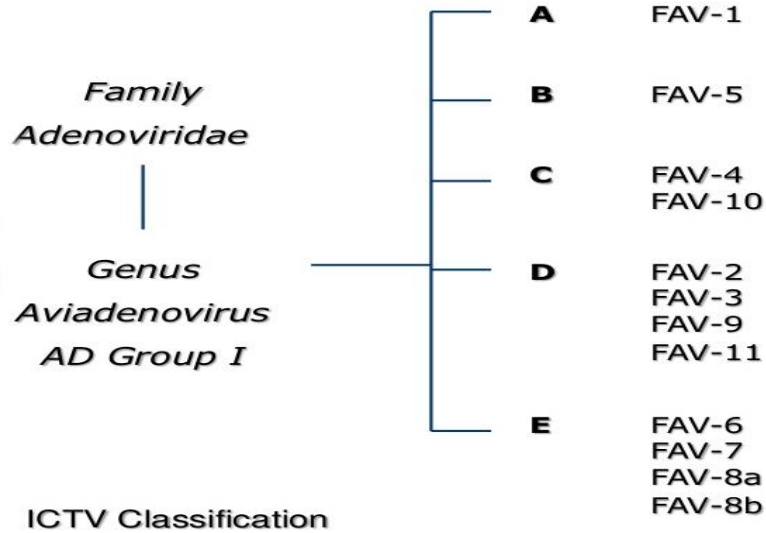
قد تتضخم الكليتان ويشحب لونها وقد يظهر عليها نزف نقطي Petechial haemorrhage ويمتلئ الحالبان بحمض البول ويمكن أن يحدث ضمور الطحال Spleen Atrophy وجراب فابريشيوس Fabricius ويمكن ملاحظة شحوب أو اصفرار نقي العظام (فقر دم مع نقص تنسج Aplastic Anaemia) [Hess M., 2013]

يرافق المرض أحياناً موه التامور (Hydropericardium) مع ظهور بقع Patches رمادية أو بيضاء على القلب [Saif *et al.*, 2003]

ويميز مرض التهاب الكبد ذي المشتملات بظهور أجسام احتوائية (مشتملات) Intranuclear Inclusion Bodies في مقاطع نسيج الكبد خلال الفحص النسيجي حيث توجد داخل نوى الخلايا الكبدية [Swayne *et al.*, 2014].

تنتقل الفيروسات الغدية الطيرية عمودياً عبر الأجنة في البيض، أو أفقياً عبر الزرق ومن خلال الأشخاص ووسائل النقل وغيرها [Saif *et al.*, 2003] وقد وُجد أن هناك أدلة على إمكانية بقاء العدوى كامنة وغير مكتشفة في المزارع الخالية من مسببات المرضية SPF لجيل كامل على الأقل [Fadly *et al.*, 1980].

تصنّف الفيروسات الغدية الطيرية ضمن الجنس Aviadenovirus والعائلة Adenoviridae وتقسم إلى 5 أنواع أو مجموعات (من A إلى E) وإلى 12 نمطاً مصلياً [Benko *et al.*, 2000].



الشكل رقم(1): تصنيف الفيروسات الغذائية الطيرية حسب اللجنة الدولية لتصنيف الفيروسات

The International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV)

قد تختلف العديد من الأنماط المصلية وحتى العزلات من النمط المصلي الواحد بقابليتها لإحداث المرض والنفوق (Schachner et al., 2016)، وقد وجدت علاقة عند بعض العزلات بين النمط الجيني Genotype وشدة الضراوة virulence لكن لم يوجد ذلك بين النمط المصلي serotype والضراوة virulence [Swayne et al., 2014].

ثانياً: هدف البحث: Purpose of research:

يهدف هذا البحث إلى تحديد أنماط الفيروسات الغذائية الطيرية FAdV المنتشرة في بعض قطعان دجاج اللحم والتي تسبب مرض التهاب الكبد ذي المشتملات IBH والمشتبه بانتشاره (البراقى، نور وفاضل، محمد، 2022) من خلال الأعراض والآفات التشريحية الملاحظة مؤخراً في قطعان دجاج اللحم في سورية، وحيث أن التهاب الكبد ذي المشتملات يكون مهيناً لأمراض أخرى مثل الجمبور وIBD وفقر الدم المعدي CIA فينجم عن ذلك خسائر إقتصادية كبيرة في قطعان دجاج اللحم.

ثالثاً: مواد وطرائق البحث Material and Methods

مواد العمل:

- عتيدة استخلاص DNA.
- مرئسات (Primers).
- عتيدة تفاعل البوليميراز المتسلسل (Taq Polymerase)
- مواد استخلاص الحمض النووي
- رؤوس ماصات مفلترة وغير مفلترة.
- جهاز تفاعل البوليميراز المتسلسل.
- جهاز قياس تركيز الحمض النووي NanoDrop.
- كحول، قفازات ومواد أخرى.

طرق العمل:

1- جمع العينات: تم انتقاء 100 عينة (طيور مريضة) وأخذ من كل منها عينة من النسيج الكبدي وحفظت في التجميد (-20م) لحين بدء العمل

2-استخلاص الحمض النووي DNA Extraction من عينة الكبد وذلك باستخدام كيت استخلاص خاص Quick-

. DNA Miniprep Kit

3-تفاعل البوليميراز المتسلسل PCR بالاعتماد على أنزيم الـ (Taq DNA Polymerase) وتم تحضير مزيج التفاعل ثم تضخيم الحمض النووي باستخدام جهاز الدور الحراري Thermal cycler. وقد تم تصميم المرئسات المستهدفة للشدة الجينية حسب دراسة أجراها الباحث [Meulemans et al., 2001].

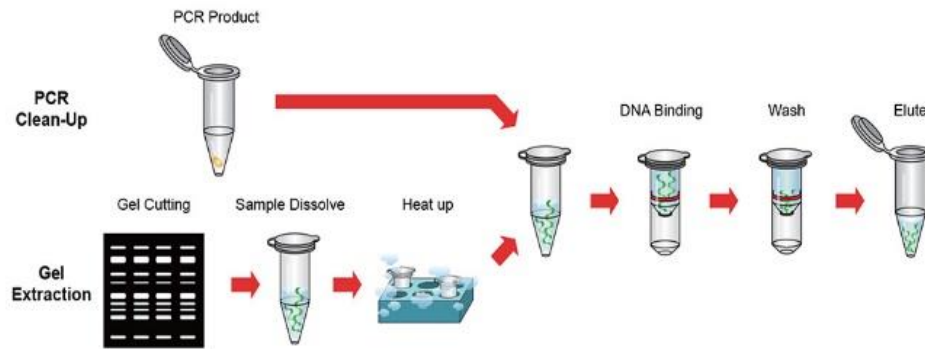
الجدول (1): المرئسات المستخدمة في اختبار الـ PCR

Primers	Sequence (5' to 3')	Position	PCR product (bp)
Hexon A.F	CAARTTCAGRCAGACGGT	144–161	897
Hexon B.R	TAGTGATGMCGSGACATCAT	1041–1021	

4-الكشف عن منتجات التضخيم وذلك باستخدام الرحلان الكهربائي في هلام الأغاروز 2% Gel Electrophoresis

ثم فحص الهلامية باستخدام موثق الهلامية (Gel documenter) وتعرضها للأشعة فوق البنفسجية UV.

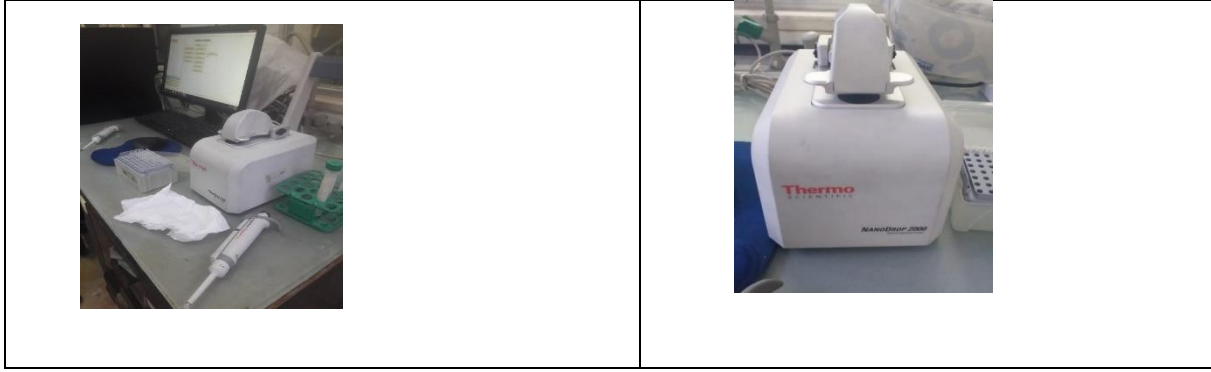
5-تنقية نواتج التضخيم النهائي Purification للمنتجات باستخدام كيت التنقية (PCR Clean-Up) وذلك للحصول على حمض نووي نقي خالي من الشوائب.



الشكل (2): مخطط مبسط لخطوات تنقية نواتج التضخيم النهائية Purification

6-قياس تركيز الحمض النووي في الناتج النهائي لتفاعل البوليميراز المتسلسل باستخدام جهاز NanoDrop 2000

وذلك للحصول على التسلسل الجيني الدقيق لكل عذلة.



الشكل(3): جهاز قياس تركيز الحمض النووي NanoDrop.

7- السلسلة الجينية للحمض النووي الفيروسي DNA Sequencing، تم مراسلة شركة Macrogen لإجراء التفاعل في مخبرها الكائن في كوريا الجنوبية للحصول على التسلسل النكليوتيدي لكل عينة ومعرفة التسلسل النكليوتيدي للشدة الجينية المستهدفة.

8- مقارنة التسلسلات الجينية المحلية مع التسلسلات الجينية العالمية المنشورة من خلال البنك الجيني GenBank وذلك لمعرفة النمط المصلي الذي تنتمي إليه وتصنيف كل منها ضمن مجموعة الفيروسات الغدية الطيرية FAdVs التي يتوافق معها التسلسل الجيني المدروس.

9- إنشاء شجرة النشوء والتطور Phylogenetic tree باستخدام البرنامج MEGA X Version 10.1.8 وبناء عليها حددنا العزلات العالمية الأقرب جينياً إلى عزلاتنا المحلية.

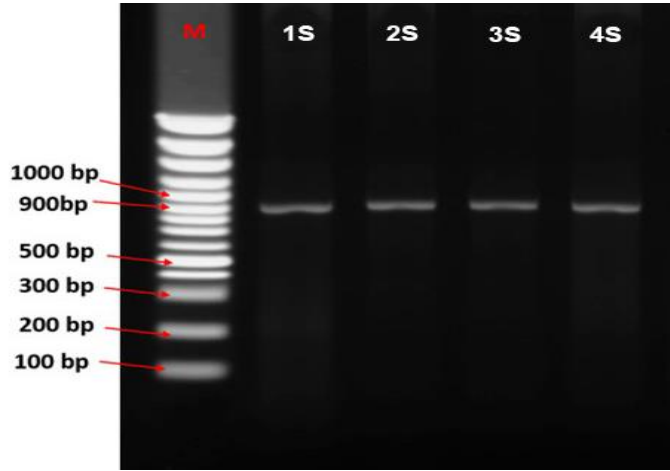
رابعاً: النتائج والمناقشة Results and discussion

تم الحصول على 11 ناتج للحمض النووي للفيروسات الغدية الطيرية بعد إخضاعها لتفاعل تسلسل البوليميراز حسب الجدول التالي:

الجدول رقم (2): العينات الخاضعة لاختبار تفاعل البوليميراز المتسلسل ونتائجه

نتيجة الـPCR	الخاضعة للـPCR	رمز العينة
(+)	1	1
(+)	2	2
(+)	2	3
(+)	1	5
(+)	1	7
(+)	1	10
(+)	1	14
(+)	2	16
)+(2	17
)+(2	19
(+)	2	26
11	15	

وبالكشف عن منتجات التضخيم هذه تبين وصول شدف الحمض النووي إلى مسافة قريبة جدا من 900bp وذلك بتحليل نتائج التضخيم للحمض النووي بالرحلان الكهربائي في هلام الأغاروز.



الشكل رقم (4) الرحلان الكهربائي في هلام الأغاروز لنتائج تفاعل الـ PCR

ظهرت الأحجام الجزيئية لشدف (Fragments) الحمض النووي للعينات الإحدى عشر في مسافة قريبة من 897 زوج أساس (Base Pairs) مما دل على وجود الحمض النووي للفيروسات الغذائية الطيرية في 11 عينة أي نسبة 73%، بينما كانت 4 عينات سلبية.

تبين باختبار تركيز الحمض النووي للعزلات الـ 11 باستخدام جهاز NanoDrop2000 أن 7 عينات منها كانت نقاوتها و تركيز الحمض النووي فيها مناسبين للكشف عن تسلسلها الجيني حيث كانت تراكيز الـ DNA فيها تتراوح بين 31 و 100 .ng/ul

خلصت نتائج السلسلة الجينية Genetic sequencing لنواتج تضخيم الأحماض النووية إلى أن العزلات السبعة انتمت إلى المجموعة المصلية E (هذه المجموعة تضم حسب التصنيف الأنماط المصلية التالية: 6 و 7 و 8a و 8b) وبالتحديد النمط المصلي 8b.

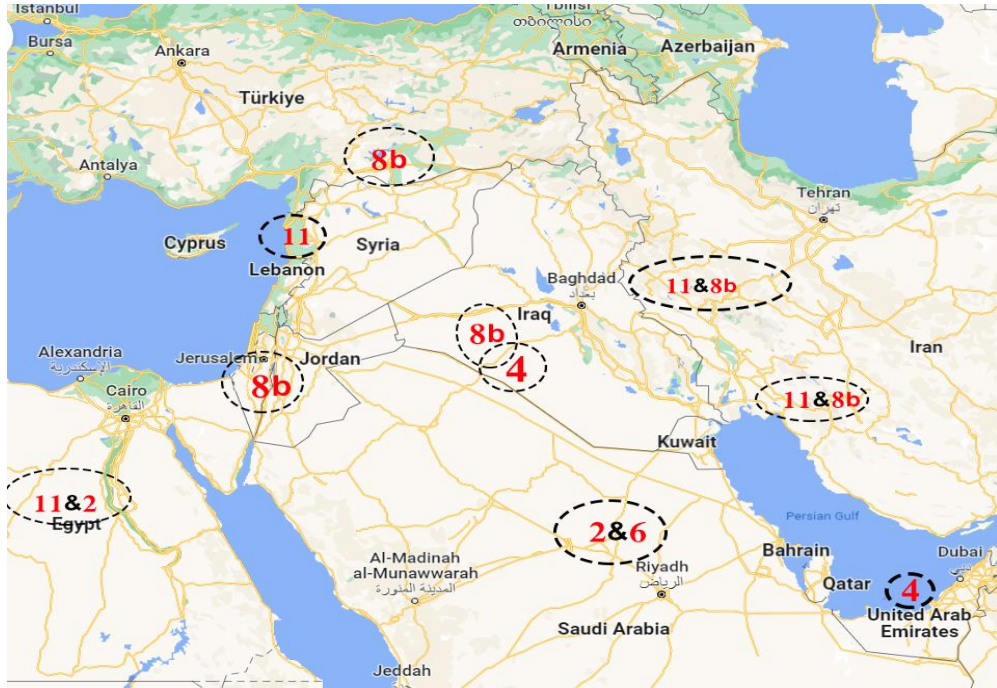
أكدت بعض الدراسات في الدول المجاورة خلال السنوات الأخيرة على انتشار الفيروسات الغذائية الطيرية في قطعان دجاج اللحم وبعد الكشف عن الأنماط المصلية تبين انتشار النمط المصلي 8b في كل من فلسطين [Thabet A. M et al., 2023]

وتركيا [Cizmecigil et al., 2020] والعراق [Abdulla A et al., 2023] وإيران [Arazi S. et al., 2020].

أما في لبنان فقد عزل النمط المصلي 11 (D) [Shaib et al., 2017]، وفي مصر عزل النمط المصلي 2 (D)

[El-Tholoth et al., 2019] ، وفي السعودية النمطين 2 (D) و 6 (E) [Mohamed et al., 2018]

وفي العراق [Abdulla A et al., 2023] والامارات العربية (أبو ظبي) [Ishag H.Z.A et al.,2022] عزل النمط المصلي 4 (C). وفي الصورة التالية توضيح للأنماط المصلية التي تم عزلها في البلدان المجاورة لسورية:



الشكل رقم(5): الأنماط المصلية التي تم عزلها وتنميتها في البلدان المجاورة لسورية

كان مصدر العينات السبعة والتي انتمت إلى النمط 8b من مزارع تربية دجاج اللحم في كل من طرطوس وريف حمص. بمقارنة التسلسلات الجينية للعزلات السبعة فيما بينها تبين أن هناك نسبة تشابه كبيرة بتسلسل النكليوتيدات والتي تراوحت بين 96% و 100% وذلك في ست عزلات والتي كان مصدرها منطقتي مرميتا وصافيتا. أما العزلة الوحيدة التي أعطت أخفض نسب تشابه مع العزلات البقية (91.2 – 93.3 %) فكان مصدرها من منطقة مرقية التابعة لمحافظة طرطوس. الجدول رقم(3): مقارنة العزلات المحلية فيما بينها لكشف نسب التشابه في مختلف المناطق.

رمز العزلة	FAdV(1)	FAdV)3()5(FAdV)7(FAdV)14(FAdV)16(FAdV)26(FAdV
FAdV(1)		96	98	98	91.2	98	98
)3(FAdV	96		98	98	92	98	98
)5(FAdV	98	98		99.8	93.1	99.8	99.7
)7(FAdV	98	98	99.8		93.2	100	100
)14(FAdV	91.2	92	93.1	93.2		93.3	93
)16(FAdV	98	98	99.8	100	93.3		100
)26(FAdV	98	98	99.7	100	93	100	

*تمثل الأرقام في الجدول النسب المئوية للتشابه الجيني (تشابه التسلسل النكليوتيدي) بين العزلات المحلية بمقارنتها فيما بينها وذلك باستخدام برنامج *Mega X* الخاص بالدراسة الجينية.

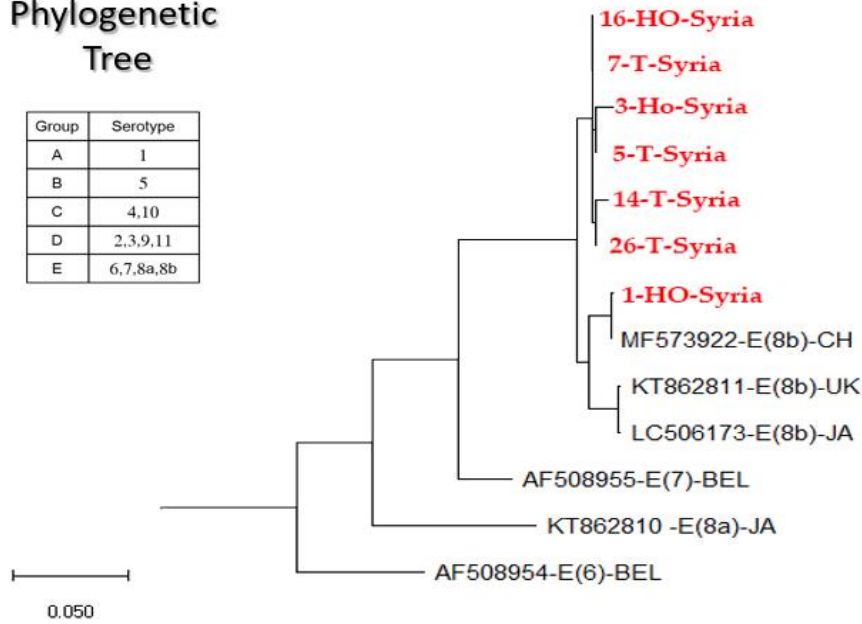
إن سبب اختلاف نسبة تشابه العينة رقم 14 عن بقية العينات غير معروف تماماً إلا أنه يمكننا وضع بعض الدلالات لمناقشتها، حيث بعد الرجوع إلى العينة النسيجية العائدة للعينة 14 تبين أنها الوحيدة من بين العينات السبعة التي تميزت بنسيج كبدي ذي لون باهت جداً وقوام هش قابل للتفتت بسهولة بينما كانت باقي العينات ذات كبد متضخم ومحتقن مع وجود نقاط نزفية على المحفظة ولم يكن قوامها متفتت. وقد يكون اختلاف العينة رقم 14 عن غيرها يدل على تبدل جيني حصل في الفيروس أدى إلى تغيرات في إمرضيتها (حسب ما وجدنا من اختلاف الأعراض على الكبد العائد للعينة رقم 14 والمختلفة عن بقية العينات) أو في خصائص الاستجابة المناعية للطائر تجاهها وتلك الحالة تحتاج لدراسة جينية معمقة أكثر (أي سلسلة كاملة للجينوم) لبيان حجم الاختلاف أو التبدل والطفرات الحاصلة، وما نجم عنه من تغير في الخواص الإراضية والمستضدية وهنا تظهر أهمية دراسة الحالة المناعية لتطوير الداخلة في الدراسة.

وبعد مقارنة التسلسل الجيني لعزلتنا السبعة المحلية 8b مع التسلسل الجيني للعزلات العالمية المنشورة في البنك الجيني العالمي GenBank تبين أن أقربها للعزلات السورية هي العزلة الصينية MF573922 والبريطانية KT862811 واليابانية LC506173 وقد قاربت نسبة تطابق تسلسل النكليوتيدات فيما بينها إلى 99 % .

وفيما يلي مخطط شجرة القرابة (شجرة النشوء والتطور Phylogenetic tree) باستخدام البرنامج MEGA X Version 10.1.8 (Molecular evolutionary Genetic Analysis) حيث تم تسمية العزلات المحلية حسب المنطقة المعزولة منها فالرمز HO يقابل منطقة حمص والرمز T يقابل منطقة طرطوس .

Phylogenetic Tree

Group	Serotype
A	1
B	5
C	4,10
D	2,3,9,11
E	6,7,8a,8b



الشكل رقم(6): شجرة التطور والنشوء باستخدام برنامج MEGA X والتي توضح العزلات العالمية الأقرب للعزلات المحلية.

خامساً: الاستنتاجات Conclusions

1- تبين من خلال التمييز المصلي للعزلات في هذه الدراسة انتماءها إلى المجموعة E وإلى النمط المصلي 8b تحديداً.

2- تراوحت نسب التشابه بين العزلات المحلية- بمقارنتها فيما بينها -من حيث التسلسل الجيني بين 96 و100% عدا عزلة واحدة كانت مختلفة بصورة واضحة عن باقي العزلات مما يشير إلى أهمية إجراء دراسة موسعة وتحديد الاختلافات في الفيروسات المنتشرة في سورية وانعكاسها على الامراضية ورد الفعل المناعي تجاهها.

3- قاربت نسب تطابق التسلسلات الجينية بين عزلاتنا المحلية وبعض العزلات العالمية 99%.

4- إن تشابه العزلات السورية بتسلسلها الجيني مع العزلات المنمطة في البلدان المجاورة كان كبيراً حيث وصلت نسب التشابه إلى 100% ويفيد ذلك في إمكانية الاعتماد على اللقاحات المستخدمة في تلك البلدان لحماية القطعان في سورية إلى حين إنتاج اللقاح المحلي ذاتي المنشأ.

سادساً: التوصيات Recommendations

- 1- العمل على دراسة إمراضية الأنماط المعزولة من قطعان دجاج اللحم في سورية.
- 2- ضرورة عزل الفيروس بصورة دورية في جميع مناطق تربية الدواجن والكشف عن الأنماط المصلية فيها.
- 3- ضرورة دراسة الحالة المناعية للطيور والتأكد من عدم إصابتها بالأمراض المثبطة للمناعة كالجربور وفقر الدم المعدي.
- 4- وضع خطة للعمل على إنتاج لقاح ذاتي المنشأ من عزلات محلية تجمع كل الأنماط المصلية المنتشرة في سورية.

سابغاً: المراجع References

- 1- المراجع العربية:
- البراقي، نور وفاضل، محمد(2022): الكشف عن مرض التهاب الكبد ذي المشتملات عند دجاج اللحم في سورية. مجلة جامعة حماة 5: (23): 119-133.
- 2- المراجع الأجنبية:
1. Abdulla A.R, Aida B. Allawe, Reabh N. Algafari. (2023); Assembly of novel Fowl Adenoviruses (FAdVs) Virulence genes in Iraqi infected chickens. Acta Biomed 2023; Vol. 94, N. 2: e2023121.
2. Arazi A. M. Mayahi, F. Talazadeh, Z. Boroomand, and R. A. Jafari. (2020); Molecular identification of aviadenoviruses in broiler chickens suspected to inclusion body hepatitis in Golestan province, Iran. IJVR, 2020, Vol. 21, No. 3, Ser. No. 72, Pages 198-202.
3. Benko M, Harrach B, Russel WC. Family Adenoviridae. In: van Regenmortel MHV et al, editors. (2000); Virus Taxonomy. Classification and nomenclature of viruses. Seventh Report of the International Committee on Taxonomy of Viruses: Academic Press, San Diego;pp. 227–238.
4. Cizmecigil U.Y. Sajid Umar, Aysun Yilmaz, Erhan Bayraktar, Nuri Turan, Besim Tali, Ozge Aydin, Hasan Emre Tali, Mehmetcan Yaramanoglu, Semaha Gul Yilmaz, Ahmet Kolukisa, Jean-Remy Sadeyen, Munir Iqbal, Huseyin Yilmaz.(2020); Characterisation of fowl adenovirus (FAdV-8b) strain concerning the geographic analysis and pathological lesions associated with inclusion body hepatitis in broiler flocks in Turkey. Vet Res 64, 231-237.
5. El-Tholoth M. and Abou El-Azm K.I.(2019); Molecular detection and characterization of fowl adenovirus associated with inclusion body hepatitis from broiler chickens in Egypt. Trop Anim Health Prod 2019, 51, 1065–1071.
6. Fadly, A.M., B.J. Riegele, K. Nazerian, and E.A. Stephens. (1980); Some observations on an adenovirus isolated from specific Pathogen free chickens. Poult Sci. 59:21–7.
7. Ferrando O. S., Dolz R., Calderón C., Valle R., Rivas R., Pérez M., Majó N. (2017); Epidemiological and pathological investigation of fowl aviadenovirus serotypes 8b and 11 isolated from chickens with inclusion body hepatitis in Spain (2011–2013). Avian Pathol, 46, 157–165.
8. Fitzgerlad, S.D. J.R. Glisson, (2013); Adenovirus Infections. Diseases of Poultry. New Jersey: John Wiley & Sons, Ltd. 13th ed.p.289-331.

9. Hess Michael, (2013); *Aviadenovirus Infection, Diseases of poultry* 13th edition Wiley-Blackwell. American Association of Avian Pathology. P.290-300.
10. Ishag H.Z.A, El Tigani-Asil, E.T.A.; Bensalah, O.K.; Khalil, N.A.H.; Khalafalla, A.I.; Al Hammadi, Z.M.A.H.; Shah, A.A.M.; Al Muhairi, S.S.M.(2022): Pathology and Molecular Epidemiology of Fowl Adenovirus Serotype 4 Outbreaks in Broiler Chicken in Abu Dhabi Emirate, UAE. *Vet. Sci.*(9)154.
11. Maartens L.H., Joubert H.W., Aitchison H., Venter E.H. (2014); Inclusion body hepatitis associated with an outbreak of fowl adenovirus type 2 and type 8b in broiler flocks in South Africa. *J S Afr. Vet Assoc.*85, 1–5.
12. Marek A., Günes A., Schulz E., Hess M. (2010); Classification of fowl adenoviruses by use of phylogenetic analysis and high-resolution melting-curve analysis of the hexon L1 gene region. *J Virol Methods* 170, 147–154.
13. McFarland M.D. P.R. Woolcock, and Shivaprasad H.L., (2001). Group I avian adenovirus and avian adeno-associated virus in turkey poults with inclusion body hepatitis. *Avian Pathol.* 30(6):661–6.
14. McFerran JB, Smyth JA. Avian adenoviruses. *Rev.—Off. Int. Epizoot.* (2000); 589–601. pmid:10935281
15. Meulemans, G., et al., Polymerase chain reaction combined with restriction enzyme analysis for detection and differentiation of fowl adenoviruses. *Avian Pathol*, 2001. 30(6): p. 600-655.
16. Mohamed M.H.A., El-Sabagh I.M., Abdelaziz A.M., Al-Ali A.M., Alramadan M., LebDAH M.A., Al-Ankari A.R.S. (2018); Molecular characterization of fowl aviadenoviruses species D and E associated with inclusion body hepatitis in chickens and falcons indicates possible cross-species transmission. *Avian Pathol.*47, 384–390.
17. Niu Y., Sun Q., Zhang G., Sun W., Liu X., Xiao Y., Liu S.(2018); Epidemiological investigation of outbreaks of fowl adenovirus infections in commercial chickens in China. *Transbound Emerg Dis*, 65, 121–126.
18. Saif Y.M, Barnes H.J, Glisson J.R, Fadly A.M, McDougald L.R (2003); *Diseases of poultry*, 11th Ed. Ames: Iowa State Press.; pp. 214–227.
19. Schachner A., Marek A., Grafl B., Hess M. (2016); Detailed molecular analyses of the hexon loop-1 and fibers of fowl aviadenoviruses reveal new insights into the antigenic relationship and confirm that specific genotypes are involved in field outbreaks of inclusion body hepatitis. *Vet Microbiol.* 186, 13–20.
20. Schachner A., Matos M., Grafl B., Hess M. (2018); Fowl adenovirus-induced diseases and strategies for their control - a review on the current global situation. *Avian Pathol.* 47, 111–12.
21. Shaib H., Ramadan N., Mahmoud G., Nassif G., Chedid S. (2017); Outbreak of inclusion body hepatitis-causing adenovirus in Lebanese broiler flocks. *EC Microbiol.*13, 92–101.
22. Steer P.A., O'Rourke D., Ghorashi S.A., Noormohammadi A.H. (2011); Application of high-resolution melting curve analysis for typing of fowl adenoviruses in field cases of inclusion body hepatitis. *Aust Vet J*, 89, 184–192.
23. Swayne D.E. M Boulianne, C.M. Logue, L.R. McDougald, V. Nair & D.L. Suarez (2014); *Aviadenovirus infections, Diseases of poultry* 14th ed. (pp. 328-329).
24. Thabet A.M, Ibrahim M Alzuheir, Adnan F Fayyad, Ahmed M Kheimar, Nasr H Jalboush. (2023); Occurrence and phylogenetic analysis of fowl adenovirus E in broiler flocks from Gaza Strip Palestine. *J.Infect.Dev.Ctries* 17(4):565-570.
25. Toro, H., Gonzalez, C., Cerda, L., Hess, M., Reyes, E. and Geisse, C. (2000). Chicken anemia virus and fowl adenovirus363668es: association to induce the inclusion body hepatitis/hydropericardium syndrome. *Avian diseases.* 51-58