مقایسه عیار پادتن سرمی ۸ نوع واکسن زنده تجاری برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی

سامان مهدوی[1*]، افشین ذاکری[2]، یوسف مهمان نواز[3]

۱- استادیار گروه میکروبیولوژی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران.
۲- استادیار گروه علوم دامی، واحد تبریز، دانشگاه آزاد اسلامی، تبریز، ایران.
۳- استادیار گروه علوم دامی، واحد مراغه، دانشگاه آزاد اسلامی، مراغه، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: S.mahdavi@iau-maragheh.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۳/۳/۲۷ پذیرش نهایی: ۹۳/۶/۵)

Archive of SID

چکیده

هدف از انجام این تحقیق، مقایسه عیار پادتن سرمی ۸ نوع واکسن زنده تجاری برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی بود. ۳۲۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نر (سویه ۳۰۸ راس) به‌طور تصادفی به ۸ گروه تیمار (هر گروه شامل ۳ تکرار) تقسیم شدند. در روز ۸ دوره پرورشی هر یک از گروه‌ها نوع متفاوتی از واکسن زنده برونشیت عفونی را به‌صورت قطره چشمی دریافت کردند. در روزهای ۲۲ و ۲۹ دوره پرورشی از هر گروه، ۱۲ قطعه جوجه به‌طور تصادفی انتخاب شده و پس از خون‌گیری و جداسازی سرم، جهت تعیین عیار پادتن سرمی، آزمایش الایزا بر روی نمونه‌ها انجام شد. میانگین عیار پادتن سرمی ضد واکسن‌های برونشیت عفونی در بین گروه‌های آزمایشی در روز ۲۲ دوره پرورشی نشان داد که بین گروه دریافت‌کننده واکسن HIPRAVIAR Colon/ H120 و گروه‌های دریافت‌کننده واکسن‌های Nobilis Ma5+ Clone30، H120 و Cevac Vitabron L اختلاف معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵)، ولی در بین سایر گروه‌های آزمایشی از لحاظ عیار آنتی‌بادی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین عیار پادتن سرمی ضد واکسن‌های برونشیت عفونی در بین گروه‌های آزمایشی در روز ۲۹ دوره پرورشی نشان داد که در بین گروه‌های آزمایشی از لحاظ عیار آنتی‌بادی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. مقایسه عیار پادتن سرمی ضد واکسن‌های برونشیت عفونی در گروه‌های آزمایشی بین روزهای ۲۲ و ۲۹ دوره پرورشی نشان داد که در بین گروه‌های دریافت‌کننده واکسن‌های Gallivax IB88، Nobilis Ma5+Clone30 و Cevac Vitabron L اختلاف معنی‌داری وجود دارد (P<۰/۰۵) ولی بین سایر گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد.

کلید واژه‌ها: برونشیت عفونی، واکسن زنده، جوجه گوشتی، پادتن سرمی.

www.SID.ir

مقدمه

بیماری برونشیت عفونی یک بیماری ویروسی واگیردار تنفسی در ماکیان است که به لحاظ ایجاد هزینه‌های مرتبط با دارو درمانی، تلفات و حذف لاشه در کشتارگاه واجد اهمیت است. بیماری‌زایی عامل بیماری عمدتاً مربوط به دستگاه تنفسی، تولید مثلی، روده‌ها و کلیه‌ها می باشد (Gholami Ahangaran, 2013). جوجه‌ها در تمام سنین می‌توانند با این ویروس آلوده شوند و ویروس قادر به تکثیر در بیشتر بافت‌های بدن طیور است. جوجه‌های آلوده، علایم افسردگی، سرفه، ترشحات بینی، افزایش ترشح ادرار و مرگ را دارند (Saif *et al.*, 2003). به‌طور کلی ایمونوگلوبولین G به‌عنوان یک پادتن موثر در خنثی کردن ویروس در گردش خون عمومی می‌باشد (Gholami Ahangaran, 2013). گزارشاتی وجود دارد که بیان می‌کند ایجاد عفونت با ویروس برونشیت عفونی باعث افزایش میزان ایمونوگلوبولین G سرمی می‌شود و این پاسخ برای مدت طولانی پس از عفونت برقرار می‌ماند اما ایمونوگلوبولین A ترشحی در غلظت پایین باقی می‌ماند و این میزان پادتن برای مدت کوتاهی پس از عفونت حضور دارد (Gelb *et al.*,1998). حضور آنتی‌بادی‌های ضدویروس برونشیت عفونی در ایجاد ایمنی و مقاومت علیه ویروس برونشیت عفونی نقش مهمی ایفا می‌کنند (Gholami Ahangaran, 2013). استفاده از واکسن زنده تخفیف حدت یافته برونشیت عفونی بر واکسن کشته شده غیرفعال این ویروس مزیت دارد چون واکسن کشته شده غیرفعال کمتر باعث القاء ایمنی فعال جوجه‌ها با آنتی‌بادی مادری می‌شود (Zakeri and Kashefi, 2011). علی‌رغم حضور مقادیر بیشتر آنتی‌ژن در واکسن‌های غیرفعال برونشیت عفونی نسبت به واکسن‌های زنده، ایمن‌سازی کمتری در جوجه‌ها ایجاد می‌کنند. از طرف دیگر استفاده از واکسن غیرفعال برونشیت عفونی محافظت کم و یا فقدان ایمنی را در برابر کاهش تولید تخم مرغ ایجاد می‌کند (Ignjatovic and Galli, 1994). تحریک اینترفرون‌ها توسط ویروس برونشیت عفونی، بستگی به سویه ویروس دارد، ولی تاکنون نقش اینترفرون در مقاومت پرندگان در برابر ویروس برونشیت عفونی مشخص نشده است (Calnek *et al.*,1997).

با توجه به اینکه در صورت عدم ایمن‌سازی مناسب گله‌های طیور، این بیماری می‌تواند تا ۳۰٪ مرگ و میر ایجاد کند، لزوم ایمن‌سازی مناسب و تقویت عیار پادتنی حاصله با استفاده از واکسن‌های موجود در کشور بسیار حائز اهمیت می‌باشد (Johnson *et al.*, 2003). برنامه‌های واکسیناسیونی که در یک گله پیاده می‌گردد به تشخیص دامپزشک و با توجه به فاکتورهای متعددی از جمله سویه ویروس شایع در منطقه، تاریخچه گله، نحوه مدیریت و عوامل متعددی تعیین می‌شود. علاوه بر موارد ذکر شده تفاوت بین واکسن‌های ارائه شده در بازار به‌ویژه از نظر میزان عیار پادتنی که ایجاد می‌کنند در ارائه برنامه واکسیناسیون بسیار حائز اهمیت می‌باشد. با توجه به تعدد انواع واکسن‌های برونشیت موجود در کشور و سردرگمی که در بین مصرف‌کنندگان ایجاد می‌شود، از این‌رو هدف از انجام این تحقیق ارائه یکسری نتایج کاربردی برای تسهیل کار دامپزشکان در ارائه برنامه‌های واکسیناسیون علیه بیماری برونشیت می‌باشد که در این مطالعه اقدام به مقایسه عیار پادتنی سرم انواع واکسن‌های زنده برونشیت موجود در کشور

Archive of SID
www.SID.ir

می‌گردد (Hay green *et al.*, 2005). با اجرای یک برنامه مناسب واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی می‌توان پاسخ ایمنی مخاطی را تحریک کرد و باعث افزایش سطح مقاومت پرنده علیه برونشیت عفونی شد. هدف از انجام این تحقیق، مقایسه عیار پادتن سرمی ۸ نوع واکسن زنده تجاری برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی بود.

مواد و روش‌ها

تعداد ۳۲۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه نر سویه ۳۰۸ راس، در ۸ گروه تیمار به‌طور تصادفی تقسیم شدند. جوجه‌های متعلق به هر گروه در ۳ تکرار پن‌بندی شدند. تمام پرندگان در طول دوره پرورش در شرایط یکسان محیطی، تغذیه‌ای و مدیریتی نگه‌داری شده و آب و دان را به شکل دسترسی آزاد دریافت کردند.

در روز ۸ دوره پرورشی هر یک از گروه‌ها نوع متفاوتی از واکسن برونشیت عفونی را به‌صورت قطره چشمی دریافت کردند که در جدول ۱ نشان داده شده است. به منظور اندازه‌گیری عیار پادتنی حاصل از واکسیناسیون در سرم، در روزهای ۲۲ و ۲۹ دوره پرورشی از هر گروه ۱۲ قطعه جوجه به‌طور تصادفی انتخاب گردیده و خون‌گیری از ورید بالی انجام شد. نمونه‌ها بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شده و پس از جداسازی سرم، مورد آزمایش الایزا با کیت شرکت BioChek در طول موج ٤٠٥ نانومتر قرار گرفته و نتایج حاصله با نرم‌افزار SAS (9.1.3, 2004) مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

جدول ۱- مشخصات واکسن‌های برونشیت مورد استفاده در گروه‌های مختلف آزمایشی

واکسن‌های مورد آزمایش (نام تجاری)	کد	شرکت سازنده	نام سویه
Gallivax IB88	۱	مریال فرانسه	793/B
Nobilis 4/91	۲	اینتروت هلند	793/B
Nobilis Ma5+Clone30	۳	اینتروت هلند	Ma5
Bronhikal SPF	٤	وترینا کرواسی	H120
H120	٥	مؤسسه رازی ایران	H120
Cevac Vitabron L	٦	سوا مجارستان	H120
Bioral H120	۷	مریال فرانسه	H120
HIPRAVIAR Colon/ H120	۸	هیپرا اسپانیا	H120

یافته‌ها

میانگین عیار پادتن سرمی ضد واکسن‌های برونشیت در بین گروه‌های آزمایشی در روز ۲۲ دوره پرورشی نشان داد که بین گروه ۸ و گروه‌های آزمایشی ۳، ٥ و ٦ از لحاظ عیار آنتی‌بادی اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<۰/۰٥$)، ولی در بین سایر گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. میانگین عیار پادتن سرمی ضد واکسن‌های برونشیت در بین گروه‌های آزمایشی در روز ۲۹ دوره پرورشی نشان داد که در بین

Archive of SID
www.SID.ir

گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (جدول ۲).

جدول ۲- میانگین عیار پادتن سرمی ضد واکسن‌های برونشیت در گروه‌های مختلف آزمایشی در روز ۲۲ و ۲۹ دوره پرورشی

گروه	میانگین عیار آنتی‌بادی در روز ۲۲ پرورش	میانگین عیار آنتی‌بادی در روز ۲۹ پرورش
۱	۱۹۵۰/۹^{ab}	۲۵۵۳/۵۷
۲	۱۹۰۸/۳^{ab}	۲۵٦۸/۵۷
۳	۱۵۵۸/۵^{b}	۱۹۱٦/٤۳
٤	۱۸۳۱/٦^{ab}	۲۰۷۳/۳۷
۵	۱۵۱۷/۱^{b}	۱۸٤۸/۵۷
٦	۱۵۱۸/۳^{b}	۲۳٦۷/۲۵
۷	۱۷۱۸/۵^{ab}	۱۸۳۰/۳۷
۸	۲۲۲۵^{a}	۲۵۱۵/۳۷
SEM	۱۷۵/۹۷	۲۷٦/۷۳
p-value	۰/۰٤۹	۰/۲۰۱

a و b: حروف غیر مشابه، تفاوت آماری معنی‌داری را در سطح احتمال ۰/۰۵ نشان می‌دهد.

مقایسه عیار پادتن سرمی ضد واکسن‌های برونشیت درگروه‌های مختلف آزمایشی بین روزهای ۲۲ و ۲۹ دوره پرورشی نشان داد که در بین گروه‌های آزمایشی ۱، ۳ و ٦ اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($p<$۰/۰۵) ولی بین سایر گروه‌های آزمایشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۳- مقایسه عیار پادتن سرمی ضد واکسن های برونشیت درگروه‌های مختلف آزمایشی بین روزهای ۲۲ و ۲۹ دوره پرورشی.

روزهای پرورشی	گروه۱	گروه۲	گروه۳	گروه۴	گروه۵	گروه۶	گروه۷	گروه۸
۲۲	۱۹۵۰/۹ ^{b}	۱۹۰۸/۲۵	۱۵۵۸/٤٦^{b}	۱۸۳۱/٦۱	۱۵۱۷/۱	۱۵۱۸/۲۵^{b}	۱۷۱۸/۵	۲۲۲۵
۲۹	۲۵۵۳/٦^{a}	۲۵٦۸/۵۷	۱۹۱٦/٤۳ ^{a}	۲۰۷۳/۳۷	۱۸٤۸/۵۷	۲۳٦۷/۲۵ ^{a}	۱۸۳۰/۳۷	۲۵۱۵/۳۷
SEM	۱٦۳/۲۹۱	٤۱۳/۱۷	۹۰/٦۷	۲۳۷/۳۲	۱٤۷/٤۹	۱٦۵/٤۱	۲٤۰/۵۲	۲۳٦/۵۷
p-value	۰/۰۳۸۷	۰/۲۲	۰/۰۳۱	۰/٤۳۲	۰/۰۹۷	۰/۰۰٤۵	۰/۷۲۳	۰/۳۵٤۳

a و b: حروف غیر مشابه، تفاوت آماری معنی‌داری را در سطح احتمال ۰/۰۵ نشان می‌دهد.

بحث و نتیجه‌گیری

به‌طور طبیعی حضور ایمونوگلوبولین G(Y)، ۳۰-۲۰ روز پس از عفونت با ویروس برونشیت عفونی در سرم پرندگان قابل شناسایی است (Cavanagh, 2003). در مورد برونشیت عفونی، برای چندین روز ایمنی غیرفعال دوام دارد و می‌تواند با واکسیناسیون زود هنگام

Archive of SID

www.SID.ir

جوجه‌ها تداخل نماید (Hay green *et al.*, 2005). در جریان عفونت طبیعی با ویروس برونشیت عفونی در پرندگان، پاسخ‌های ایمنی به تعادل می‌رسد ولی بعد از واکسیناسیون، عواملی مثل سویه واکسن، سن پرنده، بیان MHC I و MHCII و نسبت CD4 به CD8، ممکن است پاسخ‌های ایمنی متغیر باشد و فشار انتخابی بیشتری بر ویروس وارد شود (Zinkernagel, 2003). حضور آنتی‌بادی‌ها یا واکنش اختصاصی سلول‌های Tc به آنتی‌ژن، بستگی به کیفیت بورس فابرسیوس طیور و تیموس تا زمان بلوغ جنسی پرنده دارد (Van Ginkel *et al.*, 2008). پاسخ‌های ایمنی سلولی به ویروس برونشیت عفونی شامل فعالیت سیتوتوکسیک لمفوسیت، واکنش ازدیاد حساسیت تاخیری، فعالیت سلول‌های کشنده طبیعی و تجمع لنفوسیت‌های T در بافت‌های تنفسی و کلیه جوجه‌های آلوده به ویروس برونشیت عفونی است (Calnek *et al.*, 1997). واکنش پاسخ موضعی ایمنی سلولی در عفونت اولیه باعث تسریع پاکسازی ویروسی می‌شود ولی در برخورد دوم بدن با ویروس برونشیت عفونی به‌دلیل خنثی شدن سریع عامل بیماری‌زا توسط IgY، واکنش مذکور اهمیت کمتری پیدا می‌کند (Guo *et al.*, 2008).

اگرچه پادتن سرمی نقش مهمی در غلبه بر عفونت با ویروس برونشیت عفونی برعهده دارد اما رابطه‌ای مستقیم بین عیار پادتن سرمی و حفاظت در مقابل ویروس وجود ندارد به‌طوری که، در مواردی جوجه‌هایی که عیار بسیار پایین پادتن سرمی داشتند در مقابل ویروس بیماری‌زا از خود مقاومت نشان داده‌اند (Gillete, 1980). مقایسه عیارهای ایمنوگلوبولین A موضعی پس از گذشت ۱۰ روز در گروه‌های دریافت کننده یک نوبت واکسن برونشیت عفونی (به روش اسپری یا آشامیدنی) حاکی از نزول تدریجی عیار ایمونوگلوبولین A است (Gholami Ahangaran, 2013; Gillete, 1980). زمان‌بندی واکسیناسیون مناسب، دزهای مورد استفاده و راه تجویز واکسن مهمترین عوامل کنترل بیماری است (Zakeri and Kashefi, 2011). موفقیت در واکسیناسیون بستگی به فاکتورهای متعددی از قبیل واکسن، کیفیت ایمونولوژیکی ویروس مورد استفاده در تولید واکسن، ویژگی‌های ویروس واکسن، ثبات آنتی‌ژنی و میزان ویروس بکار رفته در واکسن دارد (Marius *et al.*, 1983). مطالعات تکمیلی مبتنی بر ایجاد ایمنی توسط واکسن‌های مختلف زنده برونشیت انجام شده تا نشان دهند که اختلاف معنی‌داری بین واکسن‌های برونشیت عفونی سویه H120 تولید شده توسط شرکت‌های مختلف وجود دارد (Mondal and Naqi, 2001). در مطالعه‌ای نشان داده شده است که واکسن‌های برونشیت مختلف با سویه‌ای یکسان می‌توانند سطوح مختلف آنتی‌بادی را در پرندگان ایجاد کنند و این تفاوت‌ها را می‌توان به میزان ذرات موجود در واکسن، کیفیت تولید و خالص‌سازی واکسن مرتبط دانست (Gelb *et al.*, 1998). در این تحقیق استفاده از واکسن برونشیت H120 موسسه رازی، تفاوت معنی‌داری در عیار پادتن سرمی ضد برونشیت ایجاد نکرد که با نتایج غلامی آهنگران (۱۳۹۲) مطابقت دارد (Gholami Ahangaran, 2013). در این مطالعه عیار پادتن سرمی ضد برونشیت عفونی در روز ۲۲ دوره پرورشی در گروه ۸ نسبت به گروه های ۳، ۵ و ٦ افزایش معنی‌داری را نشان داد ولی در روز ۲۹ دوره پرورشی هیچ یک از واکسن‌های مورد

Archive of SID
www.SID.ir

آزمایش افزایش معنی‌داری را در مقایسه با هم نشان ندادند. از طرف دیگر در روز ۲۹ دوره پرورشی، در گروه های ۱، ۳ و٦ افزایش عیار پادتن سرمی را به‌طور معنی‌داری نسبت به روز ۲۲ دوره پرورشی نشان دادند که نشان‌دهنده تداوم افزایش عیار پادتن سرمی نسبت به سایر واکسن‌های مورد آزمایش بود. با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که جهت تداوم افزایش عیار پادتن سرمی ضد ویروس برونشیت عفونی به خصوص در طیور تخم‌گذار که طول دوره پرورشی طولانی‌تری نسبت به طیور گوشتی دارند، استفاده از واکسن‌های Gallivax IB88، Nobilis Ma5+Clone30 و Cevac Vitabron L توصیه می‌شود.

منابع

- غلامی آهنگران، م. (۱۳۹۲). سنجش ایمونوگلوبولین A در مخاطات دستگاه تنفس به دنبال تجویز واکسن برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی. نشریه میکروبیولوژی دامپزشکی، دوره ۹، شماره ۱، صفحات: ٤٩-٤١.
- Calnek, B.W., John Barnes, H., Beard, C.W., Mc Dougald, L.R. and Saif, Y.M. (1997). Diseases of Poultry. Iowa, USA: Iowa State University Press, pp: 519.
- Cavanagh, D. (2003). Severe acute respiratory syndrome vaccine development: Experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. Avian Pathology, 32(6): 567-582.
- Gelb, J., Nix, W.A. and Gellman, S.D. (1998). Infectious bronchitis virus antibodies in tears and their relationship to immunity. Avian Diseases, 42: 364-374.
- Gillete, K.G. (1980). Local antibody response in avian infectious bronchitis: virus-neutralizing antibody in tracheobronchial secretions. Avian Diseases, 25: 431-443.
- Guo, X., Rosa, A.J.M., Chen, D.G. and Wang X. (2008). Molecular mechanisms of primary and secondary mucosal immunity using avian infectious bronchitis virus as a model system. Veterinary Immunology and Immunopathology, 121: 332-343.
- Hay green, L., Davison, F. and Kaiser, P. (2005). DNA vaccines for poultry: the jump from theory to practice. Expert Review of Vaccines, 4(1): 51-62.
- Ignjatovic, J. and Galli, L. (1994). The S1 glycoprotein but not the N or M proteins of avian infectious bronchitis virus induces protection in vaccinated chickens. Archives of Virology, 138: 117-134.
- Johnson, M.A., Pooley, C., Ignjatovic, J. and Tyack, S.G. (2003). A recombinant fowl adenovirus expressing the S1 gene of infectious bronchitis virus protects against challenge with infectious bronchitis. Vaccine, 22: 2730-2736.
- Marius, V., Gillet, J.P., Hospitalier, R.L., Guittet, M. and Bennejean, G. (1983). Vaccination against Infectious Bronchitis in young chicken. Comparative Immunology Microbiology Infectious Diseases, 6(2): 115-134.
- Mondal, S.P. and Naqi, S.A. (2001). Maternal antibody to infectious bronchitis virus: It's role in protection against infection and development of active immunity to vaccine. Veterinary Immunology and Immunopathology, 79(1-2): 31-40.
- Saif, Y.M., Barnes, H.J., Glisson, J.R., Fadly, A.M., Mc Dougald, L.R. and Swayne, D.E. (2003). Diseases of poultry. 11th ed., Iowa, USA: Iowa State University Press, pp: 101-119.
- Statistical Analysis System (2004). SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Van Ginkel, F.W., Van Santen, S.L., Gulley, S.L. and Toro, H. (2008). Infectious bronchitis virus in the chicken harderian gland and lachrimal fluid: viral load, infectivity, immune cell responses, and effects of viral immunodeficiency. Avian Diseases, (52): 608-617.

Archive of SID

www.SID.ir

- Zakeri, A. and Kashefi, P. (2011). A comparative study of immunization of 5 various commercial Infectious Bronchitis live vaccines in broiler chickens. Advances in Environmental Biology, 5(8): 2532-2535.
- Zinkernagel, R.M. (2003). On natural and artificial vaccinations. Annual Review of Immunology, 21: 516-546.

Archive of SID

www.SID.ir