JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره نهم، شماره اول، ۱۳۹۲، پیاپی ۲۶: ۴۹-۴۱

سنجش ایمونوگلوبولین A در مخاطات دستگاه تنفس به‌دنبال تجویز واکسن برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی

مجید غلامی آهنگران[1*]

۱- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳ آذر ۱۳۹۱ تاریخ پذیرش: ١٤ اردیبهشت ۱۳۹۲

چکیده

رابطهٔ ایمنی مخاطی با مقاومت علیه ویروس برونشیت بخوبی شناخته شده است. بنابراین به منظور ارزیابی و مقایسه پاسخ ایمنی مخاطی علیه ویروس برونشیت عفونی، ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه به ۵ گروه تقسیم شدند و طبق راهبردهای مختلف علیه ویروس برونشیت عفونی واکسینه شدند. جوجه‌ها در گروه‌های مختلف در سنین یک روزگی و ۸ روزگی، ۱ و ۸ روزگی و نیز ۱، ۸ و ۱۸ روزگی در طول دوره پرورش با واکسن زنده برونشیت عفونی واکسینه شدند. ۱۰ روز پس از اتمام هر برنامه واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی و در سن ۲۸ روزگی کشتار شدند و نمونه‌های نای و بینی از بدن جدا گردید و مخاط نای و بینی شستشو داده شد. سپس میزان ایمونوگلوبولین A اختصاصی علیه ویروس برونشیت عفونی در مخاطات تنفسی با روش الیزا و با آنتی گلوبولین بزی ضد IgA ماکیان کونژگه شده با هورس رادیش پراکسیداز سنجش شد. نتایج نشان داد پاسخ ایمنی مخاطی بدنبال دریافت اولین و دومین واکسن تفاوت معنی‌داری ندارد حال آنکه پاسخ ایمنی مخاطی پس از دریافت سومین واکسن بطور معنی‌دار بالاتر از پاسخ ایمنی اولیه و ثانویه است که انتظار می‌رود مقاومت بهتری را درمقابل ویروس بیماریزای برونشیت عفونی حاصل کند.

کلمات کلیدی: *ایمنی مخاطی، برونشیت عفونی، جوجه گوشتی.*

* *نویسنده مسئول: مجید غلامی آهنگران*

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران. تلفن: ۰۳۸۱۳۳۶۱۰۶۰

پست الکترونیک: Gholami@iaushk.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بیماری برونشیت عفونی یک بیماری ویروسی واگیردار تنفسی در ماکیان است که به لحاظ ایجاد هزینه‌های مرتبط با دارودرمانی، تلفات و حذف لاشه در کشتارگاه واجد اهمیت است. بیماریزایی عامل بیماری عمدتاً مربوط به دستگاه تنفسی، تولید مثلی و کلیه‌ها می‌باشد (۱). بررسی‌ها نشان داده است حضور ایمونوگلوبولین A (IgA) در سطح مخاطات با مقاومت علیه ویروس برونشیت بخوبی ارتباط دارد و رابطه مستقیم و معنی داری بین عیار ایمونوگلوبولین A موضعی و مقاومت علیه عفونت با ویروس برونشیت عفونی وجود دارد (۵). به‌طورکلی ایمونوگلوبولین G (IgG) به‌عنوان یک پادتن موثر در خنثی کردن ویروس در گردش خون عمومی و ایمونوگلوبولین A به‌عنوان یک پادتن موثر در دستگاه تنفس مطرح است که نقش ایمونوگلوبولین A در حفاظت نای، به‌عنوان اولین خط دفاعی در مقابل ویروس برونشیت عفونی از اهمیت بیشتری برخوردار است (۶). علاوه بر آن ساخت موضعی ایمونوگلوبولین A اختصاصی و انتقال ایمونوگلوبولین G از سرم به مایع اشک با مقاومت علیه ویروس برونشیت عفونی در ارتباط می‌باشد (۲۱). بنابراین حضور آنتی بادی‌های ضد ویروس برونشیت عفونی در دستگاه تنفس فوقانی در ایجاد ایمنی و مقاومت علیه ویروس برونشیت عفونی نقش مهمی ایفا می‌کنند (۲۰). لذا در صورتی که با اجرای یک برنامه مناسب واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی بتوان پاسخ ایمنی مخاطی را تحریک نمود می‌توان در افزایش سطح مقاومت پرنده علیه برونشیت عفونی گام برداشت. در همین راستا در مطالعه اخیر برای اولین بار با استفاده از تکنیک الایزا به ارزیابی میزان ایمونوگلوبولین A در سطوح مخاطی دستگاه تنفسی بدنبال چند برنامه واکسیناسیون پرداخته شد تا ضمن ارائه یک روش جدید برای پایش وضعیت ایمنی مخاطی در جوجه‌های گوشتی بهترین برنامه واکسیناسیون از لحاظ تحریک ایمنی مخاطی ارائه گردد.

مواد و روش کار

تعداد ۴۵۰ قطعه جوجه گوشتی یک‌روزه نژاد راس به ۵ گروه شامل ۴ گروه تیمار و یک گروه شاهد به طور تصادفی تقسیم شدند. جوجه‌های متعلق به هر گروه در ۳ تکرار پن بندی شدند و در پن‌های مجزا با ابعاد ۱×۳ متر بر روی بستر نگه‌داری شدند. تعداد جوجه موجود در هر گروه با توجه به تعدد نمونه گیری در طول دوره پرورش تقسیم بندی شدند بطوری که به ازای هر مرحله نمونه گیری از هر تکرار ۱۵ قطعه و جمعاً ۴۵ قطعه از هر گروه نمونه گیری شد. تمام پرندگان در طول دوره پرورش در شرایط یکسان مدیریتی نگه‌داری شده و آب و دان را به شکل آزاد (*Ad libitum*) دریافت نمودند. به منظور امکان سنجی و مقایسه پاسخ ایمنی مخاطی (سنجش ایمونوگلوبولین A در سطوح مخاطی دستگاه تنفسی) علیه ویروس برونشیت عفونی، گروه‌های مختلف طبق راهبردهای ذیل واکسن برونشیت عفونی را دریافت نمودند.

گروه یک: در یک روزگی واکسن برونشیت عفونی را به‌صورت اسپری دریافت نمود و سنجش ایمونوگلوبولین A مخاطی در ۱۰ روز پس از واکسیناسیون (سن ۱۱ روزگی) و ۲۸ روزگی انجام شد.

گروه دو: در ۸ روزگی واکسن برونشیت عفونی را به‌صورت آشامیدنی دریافت نمود و سنجش ایمونوگلوبولین A مخاطی در ۱۰ روز پس از واکسیناسیون (سن ۱۸ روزگی) و ۲۸ روزگی انجام شد.

گروه سوم: در یک روزگی واکسن برونشیت عفونی را به‌صورت اسپری، و در ۸ روزگی واکسن

Archive of SID

www.SID.ir

برونشیت عفونی را به‌صورت آشامیدنی دریافت نمود و سنجش ایمونوگلوبولین A مخاطی در ۱۰ روز پس از پایان برنامه واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی (سن ۱۸ روزگی) و ۲۸ روزگی انجام شد.

گروه چهارم: در یک روزگی واکسن برونشیت عفونی را به‌صورت اسپری، و در ۸ و ۱۸ روزگی واکسن برونشیت عفونی را به‌صورت آشامیدنی دریافت نمود و سنجش ایمونوگلوبولین A مخاطی در سن ۲۸ روزگی انجام شد.

گروه پنجم: به عنوان شاهد، از واکسن برونشیت عفونی در طول دوره پرورش استفاده نکردند و سنجش IgA در سن ۱۱، ۱۸ و ۲۸ روزگی انجام شد و پس از سنجش عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی با گروه متناظر دریافت کننده واکسن برونشیت عفونی مقایسه شد.

تعداد جوجه‌ها در هر گروه بصورت ۴۵ قطعه (۳ تکرار ۱۵ قطعه ای) برای هر مرحله نمونه گیری در نظر گرفته شد به طوری که جمعیت گروه ۱، ۲ و ۳ با دو مرحله نمونه گیری ۹۰ قطعه (هر کدام)، گروه ۴ با یک مرحله نمونه گیری ۴۵ قطعه و گروه ۵ با سه مرحله نمونه گیری ۱۳۵ قطعه در نظر گرفته شد.

در این بررسی از واکسن برونشیت عفونی سویهٔ H120 مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی استفاده شد. این واکسن حاوی ویروس تخفیف حدت یافتهٔ برونشیت سویه H120 سروتیپ ماساچوست می‌باشد که در تخم مرغ عاری از عوامل بیماریزا کشت داده شده است و در خلاء به‌صورت لیوفیلیزه در آمده است. هر دوز از این واکسن پس از حل شدن در حلال دارای عیاری معادل $10^{3/5}$ تا 10^{4} EID_{50} می‌باشد.

جوجه‌های موجود در هر گروه در ۱۰ روز پس از اتمام برنامه واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی و نیز در در سن ۲۸ روزگی با جابجایی مهره گردن آسان کشی (Euthanize) شدند و بلافاصله نمونه‌های نای و بینی از بدن جدا گردید و مخاط بینی با یک میلی لیتر محلول سالین بافر فسفاته (PBS) (pH=7.4) حاوی ۰/۱ درصد آلبومین سرم گاوی (BSA) (۱۸ و ۱۷، ۹) سه مرتبه (۹) شستشو داده شد. علاوه بر حضور بافتهای لنفاوی مربوط به بینی، به‌دلیل حضور مجرای بینی-اشکی که ایمونوگلوبولین A را از غده هاردرین به حفره بینی منتقل می‌کند (۱)، حفره بینی به عنوان محل مناسب برای بررسی میزان ایمونوگلوبولین A اختصاصی انتخاب شد.

بلافاصله پس از استحصال مایع حاصل از شستشو، که حدود ۰/۹-۰/۸ میلی لیتر می‌باشد، نمونه‌ها سانتریفوژ گردید و محلول رویی آن اخذ شد (۱۸ و ۱۷، ۱۶، ۹). سپس برای سنجش میزان ایمونوگلوبولین Aاختصاصی علیه ویروس برونشیت عفونی درمخاطات بینی، نمونه‌های تهیه شده با روش الیزا (Synbiotic co.) تست شدند (۱۶ و ۹). با توجه به عدم وجود کیت‌های تجاری سنجش ایمونوگلوبولین A از کیت‌های معمول سنجش ایمونوگلوبولین G استفاده شد و آنتی گلوبولین آن با آنتی گلوبولین بزی ضد ایمونوگلوبولین A ماکیان کونژگه شده با هورس رادیش پراکسیداز جایگزین شد (Goat anti-Chicken IgA Conjugated with HRP). آنتی گلوبولین ذکر شده به صورت جداگانه از Bethyl Laboratories (Cat No. A30-103P) تهیه شد.

برای محاسبهٔ عیار ایمونوگلوبولین A اختصاصی برونشیت عفونی در مایع استحصالی شستشوی مخاطات بینی، طبق روش ژلب و همکاران در سال ۱۹۹۸ (۱۴) و تامپسون و همکاران در سال ۱۹۹۷ (۱۵) عمل شد. برای این منظور میانگین تراکم نوری (Optical Density) کنترل منفی محاسبه شد و ۳ برابر انحراف از معیار به آن

Archive of SID

www.SID.ir

اضافه شد. سپس برای محاسبه عیار هر نمونه، از کنترل منفی و آستانه کنترل منفی-مثبت (Positive–Negative Threshold) استفاده شد (۱۵ و ۱۴). در این بررسی بر اساس کنترل منفی و آستانه کنترل منفی-مثبت و با استفاده از برنامه نرم افزاری KPL عیار ایمونوگلوبولین A در هر نمونه محاسبه شد و بر اساس لگاریتم ۲ بیان شد.

برای مقایسه میانگین میزان ایمنوگلوبولین A در گروه‌های مختلف از برنامه نرم افزاری Sigma State 2.0 و روش واریانس یک‌طرفه داده‌ها (One way ANOVA) استفاده شد و در صورت وجود اختلاف میانگین، با آزمون توکی (Tukey) میزان اختلاف مشخص شد. سطح معنی‌دار، کمتر از ۰/۰۵ درنظر گرفته شد.

نتایج

عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی در تمام گروه‌های دریافت کننده واکسن برونشیت عفونی به طور معنی دار بیشتر از گروه کنترل می‌باشد (P<۰/۰۵). در بین گروه‌های دریافت کننده واکسن برونشیت عفونی، بیشترین عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی در جوجه‌های دریافت کننده واکسن در در سه نوبت ۱ و۸ و ۱۸ روزگی حاصل شد که این اختلاف از لحاظ آماری با سایر گروه‌های دریافت کننده واکسن برونشیت عفونی معنی دار می‌باشد (P<۰/۰۵) .

مقایسه عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی در ۱۰ روز پس از واکسیناسیون و در سن ۲۸ روزگی در گروه‌های مختلف نشان می‌دهد از لحاظ کمی گروه دریافت کننده واکسن در دو نوبت، عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی بیشتری را نسبت به گروه‌های دریافت کننده واکسن در یک نوبت بدست آورده اند اما میانگین عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی در جوجه‌های دریافت کننده واکسن در یک نوبت (یک و یا ۸ روزگی) و نیز گروه‌های دریافت کننده واکسن برونشیت عفونی در دو نوبت (۱ و ۸ روزگی) هیچ اختلاف آماری مشاهده نشده است. همچنین اختلاف معنی داری بین گروه‌های دریافت کننده واکسن برونشیت عفونی در یک نوبت (یک روزگی یا ۸ روزگی) وجود ندارد (P>۰/۰۵). به‌عبارتی مقایسه عیار جوجه‌های دریافت کننده یک نوبت واکسن برونشیت عفونی در ۱۰ روز پس از واکسیناسیون و در سن ۲۸ روزگی نشان می‌دهد اختلاف معنی داری بین دریافت واکسن برونشیت عفونی در سن یک روزگی به روش اسپری و ۸ روزگی به روش آشامیدنی وجود ندارد (P>۰/۰۵). (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- میانگین عیار ایمونوگلوبولین A در مایع استحصالی از شستشوی مخاط بینی (براساس لگاریتم ۲) در گروه‌های مختلف دریافت کننده واکسن برونشیت عفونی در ۱۰ روز پس از واکسیناسیون.

سن واکسیناسیون	یک روزگی	۸ روزگی	یک و ۸ روزگی	یک و ۸ و ۱۸ روزگی
سن نمونه گیری (۱۰ روز پس از اجرای برنامه واکسیناسیون)	۱۱ روزگی	۱۸ روزگی	۱۸ روزگی	۲۸ روزگی
عیار ایمونوگلوبولین A گروه دریافت کننده واکسن	۲/۸۰±۱/۲۲[b]	۳/۴۰±۰/۹۶[b]	۴/۰۰±۱/۲۴[b]	۵/۸۰±۱/۵۴[c]
عیار ایمونوگلوبولین A گروه شاهد (بدون دریافت واکسن)	۰/۶۵±۰/۳۰[a]	۰/۵۰±۰/۲۲[a]	۰/۵۵±۰/۲۷[a]	۰/۴۲±۰/۱۱[a]

حروف نامشابه در هر ردیف و ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین دو گروه می‌باشد.

داده‌ها به صورت میانگین ±انحراف از میانگین گزارش شده است.

Archive of SID

www.SID.ir

جدول شماره ۲- میانگین عیار ایمونوگلوبولین A در مایع استحصالی از شستشوی مخاط بینی (براساس لگاریتم ۲) در گروه‌های مختلف درسن ۲۸ روزگی.

سن واکسیناسیون	یک روزگی	۸ روزگی	یک و ۸ روزگی	یک و ۸ و ۱۸ روزگی	کنترل منفی (بدون دریافت واکسن)
سنجش ایمونوگلوبولین A در سن ۲۸ روزگی	۲/۱۰±۱/۱۹[b]	۲/۸۰±۱/۸۱[b]	۳/۶۰±۱/۲۶[b]	۵/۸۰±۱/۵۴[c]	۰/۴۲±۰/۱۱[a]

حروف نامشابه در هر ردیف نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در بین دو گروه می‌باشد.

داده‌ها به صورت میانگین ±انحراف از میانگین گزارش شده است.

بحث

بررسی اخیر نشان می‌دهد بدنبال استفاده از واکسن برونشیت عفونی پاسخ پادتن مخاطی (ایمونوگلوبولین A) درسطح مخاطات دستگاه تنفس تحریک می‌گردد و بهترین عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی در ۱۰ روز بعد از واکسیناسیون و سن ۲۸ روزگی، به دنبال تجویز واکسن زنده برونشیت عفونی در سه نوبت ۱ و ۸ و ۱۸ روزگی حاصل می‌شود و از آنجائی که اختلاف میانگین عیار ایمونوگلوبولین A در گروه دریافت کننده سه نوبت واکسن با سایر گروه‌های دریافت کننده واکسن در یک نوبت یا دو نوبت معنی دار می‌باشد بنابراین ممکن است پاسخ ایمنی ثالثیه مخاطی نسبت به پاسخ اولیه و ثانویه به طور شدیدتری القاء شود.

اگر چه پادتن سرمی نقش مهمی در غلبه بر عفونت با ویروس برونشیت عفونی بر عهده دارد اما رابطه ای مستقیم بین عیار پادتن سرمی و حفاظت در مقابل ویروس وجود ندارد به‌طوری‌که در مواردی جوجه‌هایی که عیار بسیار پایین پادتن سرمی داشتند در مقابل ویروس بیماریزا از خود مقاومت نشان داده اند (۸). از طرفی سیستم ایمنی موضعی دستگاه تنفس به عنوان اولین خط دفاعی در مقابل ویروس برونشیت مطرح می‌باشد (۱۹). بنابراین می‌توان چنین استنباط کرد که مقاومت در مقابل ایجاد عفونت با ویروس برونشیت ممکن است بخاطر وجود ایمنی موضعی در نای (۸) و یا ایمنی با واسطه سلولی (۱۳) باشد. بهرحال گزارشاتی وجود دارد که بیان می‌کند رابطهٔ معنی داری بین عیار ایمونوگلوبولین A موضعی و مقاومت در مقابل عفونت با ویروس برونشیت وجود دارد. بنابراین سنجش ایمونوگلوبولین A موضعی می‌تواند جایگزین مناسبی برای پایش وضعیت گله‌های طیور پس از واکسیناسیون یا عفونت ویروس بجای سنجش ایمونوگلوبولین G سرمی مورد استفاده قرار گیرد (۵).

در رابطه با شناسایی ایمونوگلوبولین A در مخاطات لسیل و مارتین در سال ۱۹۷۳، برای اولین بار به مطالعه ایمونو گلوبولین‌های موجود در محلول شستشوی نای و برونش پرداختند (۴). در این مطالعه ترشحات نای و برونش از یک ستون حاوی آنتی گلوبولین زنجیره سبک عبور داده شدند و با روش ایمونو ادسوربنت مورد بررسی قرار گرفت. با این روش، ۷۵ میلی گرم ایمونوگلوبولین G و ۱۲۰ میلی گرم ایمونوگلوبولین A در هر میلی لیتر از مایع استحصالی شستشوی نای و برونش جدا شد اما IgM جدا سازی نشد (۴). در بررسی حاضر، تمام جوجه‌های متعلق به گروه‌های مختلف دریافت کننده واکسن برونشیت در ۱۰ روز پس از اتمام برنامه واکسیناسیون و نیز در سن ۲۸ روزگی کشتار شدند و از لحاظ میزان ایمونوگلوبولین A مخاطی اختصاصی برونشیت عفونی به روش الیزا مورد بررسی قرار گرفتند. قبلاً گزارش شده است که آنتی بادی‌های خنثی کننده ویروس برونشیت عفونی در ترشحات دستگاه تنفس، ۱۴-۱۰ روز پس از واکسیناسیون جوجه‌ها به شیوه داخل نایی یا داخل چشمی به اوج خواهد رسید و سپس به میزان اندکی

Archive of SID

www.SID.ir

افت می‌کند (۱). لذا بر این اساس زمان نمونه گیری ۱۰ روز پس از انجام آخرین دریافت واکسن انتخاب گردید. مقایسه عیارهای ایمونوگلوبولین A موضعی پس از گذشت ۱۰ روز در گروه‌های دریافت کننده یک نوبت واکسن برونشیت عفونی حاکی از نزول تدریجی عیار ایمونوگلوبولین A است که نتایج بدست آمده همراستا با تحقیق مشابه است (۸).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که حتی به‌دنبال یک مرتبه واکسیناسیون در سن یک روزگی عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی اختصاصی برونشیت عفونی با روش الیزا در سن ۲۸ روزگی قابل تشخیص و تعیین می‌باشد. هولمز و همکاران نیز در سال ۱۹۸۳ نشان دادند، تلقیح داخل بینی ویروس زنده برونشیت عفونی در سن یک‌روزگی باعث تولید پادتن خنثی کننده ویروس به میزان اندکی در ترشحات دستگاه تنفس می‌شود و این پاسخ ممکن است چهار تا پنج هفته دوام داشته باشد (۸).

اگر چه جوجه‌های دریافت کننده واکسن در سن یک‌روزگی به شیوه اسپری و سن ۸ روزگی از طریق آب آشامیدنی در سن ۱۰ روز پس از واکسیناسیون و نیز سن ۲۸ روزگی بطور معنی‌دار عیار بیشتری را نسبت به گروه کنترل ایجاد نمودند اما اختلاف میانگین عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی در این دو گروه معنی‌دار نیست. با توجه به حساسیت جوجه‌های کم سن نسبت به این بیماری و پراکندگی برونشیت عفونی در تمام نقاط ایران (۲) بنظر می‌رسد جهت القای یک پاسخ ایمنی مناسب بهتر است جوجه‌ها اولین واکسن برونشیت عفونی را در سن یک‌روزگی و ترجیحاً به شیوه اسپری دریافت کنند.

در بررسی اخیر، به دنبال تجویز واکسن زنده برونشیت عفونی در هر مرحله نمونه گیری تفاوت معنی‌داری بین عیار ایمونوگلوبولین A جوجه‌های دریافت کننده یک نوبت و دو نوبت واکسن برونشیت عفونی وجود ندارد و پاسخ‌های اولیه و ثانویه ایمنی مخاطی (ایمونوگلوبولین A) درهر مرحله نمونه گیری شامل ۱۰ روز پس از واکسیناسیون یا سن ۲۸ روزگی، اختلاف معنی داری ندارد. به‌نظر می‌رسد پاسخ ایمنی ثانویه تکرار پاسخ اولیه است و پاسخ ثانویه صرفاً از افت میزان ایمونوگلوبولین A اختصاصی در سطح مخاطات تنفسی جلوگیری می‌کند. قبلاً مطالعات بر روی انسان و سایر پستانداران نیز نشان داده است که سیستم ایمنی ترشحی موضعی قادر به القای یک پاسخ پادتن ثانویه نمی‌باشد (۱۲ و ۱۰). گزارشاتی وجود دارد که بیان می‌کند واکسیناسیون مجدد با ویروس زنده نیوکاسل از طریق داخل بینی، داخل نایی یا داخل چشمی ممکن است باعث افزایش اندکی در پادتن‌های ترشحی در نای گردد و پاسخ ثانویه بسیار شبیه پاسخ اولیه واکسیناسیون می‌باشد (۱۱). آیتکن و همکاران در سال ۱۹۷۶ بیان کردند که حتی بدنبال چالش ویروس بیماریزای نیوکاسل در پی واکسیناسیون با ویروس ولوژن نیوکاسل، برخلاف پاسخ عمومی پادتن، پاسخ پادتن ترشحی در سطح مخاطات نای افزایش نمی‌یابد بلکه پاسخ اولیه تکرار می‌شود (۳). علاوه بر موارد ذکر شده، یافته‌های مشابه در مورد پاسخ ایمنی مخاطی علیه ویروس برونشیت نیز وجود دارد. به‌طوریکه ژیلت در سال ۱۹۸۰ مشاهده کرد که تجدید واکسیناسیون با ویروس هومولوگ برونشیت عفونی منجر به القای یک پاسخ ضعیف و شبیه پاسخ اولیه می‌شود (۸). علاوه بر این، ژلب و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند واکسیناسیون جوجه‌های یکروزه با سویه کاناوت برونشیت به شیوه قطره داخل چشمی و به دنبال آن چالش با سویه M41 منجر به القای همان عیار قبلی

Archive of SID

ایمونوگلوبولین A موضعی و یا حتی کاهش عیار ایمونوگلوبولین A موضعی می‌گردد اما عیار سرمی در جوجه‌ها افزایش پیدا می‌کند (۷). 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 باقی می‌ماند اما ایمونوگلوبولین A ترشحی در غلظت پائین باقی می‌ماند و این میزان پادتن برای مدت کوتاهی پس از عفونت حضور دارد (۷).

در بررسی اخیر، اظهار نظر در مورد اینکه سه نوبت واکسیناسیون نسبت به دو یا یک نوبت مقاومت بهتری را در مقابل ویروس بیماریزا حاصل می‌کند امکان‌پذیر نیست و آستانه حداقل عیار ایمونوگلوبولین A مخاطی جهت القای یک مقاومت مناسب در مقابل ویروس بیماریزا مشخص نیست. اما آنچه از نتایج این تحقیق حاصل می‌شود این است که بدنبال سه نوبت واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی به‌طور معنی‌دار پاسخ ایمنی مخاطی بالاتری القا می‌گردد که انتظار می‌رود مقاومت بیشتری را درمقابل ویروس بیماریزای برونشیت عفونی حاصل کند.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر عبدالکریم زمانی مقدم (دانشیار بخش بیماری‌های طیور دانشگاه شهرکرد) به دلیل همفکری و سرکار خانم نوشا ضیاء جهرمی به دلیل همکاری در انجام آزمایشات کمال تشکر به عمل می‌آید.

منابع

۱. غلامی آهنگران، م. (۱۳۸۲). بررسی تجربی پاسخ ایمنی مخاطی علیه ویروس برونشیت عفونی در پی تجویز همزمان واکسن زنده نیوکاسل و برونشیت عفونی در جوجه‌های گوشتی. پایان نامه دکترای حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شماره پایان نامه ۵۳.

۲. غلامی آهنگران، م.، چرخکار، س.، شوشتری، ع.، بزرگمهری فرد، م.ح.، عشرت آبادی، ف. (۱۳۸۷). شناسایی مولکولی و تعیین تیپ ویروس برونشیت عفونی در موارد سندرم تنفسی جوجه‌های گوشتی در استان اصفهان. مجله علوم دامپزشکی ایران، سال پنجم، شماره ۳، صفحات ۷۶-۴۶۹.

3. Aitken, I.D., Parry, S.H., Powell, J.R., Survashe, B.V. (1976). Local immunity in Newcastle disease: some recent experiments. *Developments in Biological Standardization* **33:** 302-8.

4. Chahabra, P.C., Goel, M.C. (1980). Normal profile of immunoglobulin in sera and tracheal washing of chickens. *Research in Veterinary Science* **29**: 148-52.

5. Cook, J.K.A., Otsuki, K., Da-silva, N., Elis, M., Huggins, M.B. (1992). The secretory antibody response of inbred lines of chickens to avian infectious bronchitis virus infection. *Avian Pathology* **21**: 681-92.

6. Cunningham, C.H. (1975). Immunity to avian infectious bronchitis. *Developments in Biological Standardization* **28:** 546-562.

7. Gelb, Jr., J., Nix, W.A., Gellman, S.D. (1998). Infectious bronchitis virus antibodies in tears and their relationship to immunity. *Avian Diseases* **42:** 364-74.

8. Gillete, K.G. (1980). Local antibody response in avian infectious bronchitis: virus-neutralizing antibody in tracheobronchial secretions. *Avian Diseases* **25**: 431-43.

9. Hagiwara, Y., Katsuhiro, K., Chen, Z., Matsuo, K., Suzuki, Y., Aizawa, C., Kurata, T., Tamura, S. (1999). Mutants of cholera toxin as an effective and safe adjuvant for nasal influenza vaccine. *Vaccine* **17:** 2918-26.

10. Orga, P.L., Karzon, D.T. (1969). Poliovirus antibody response in serum and nasal secretions following intranasal

Archive of SID

www.SID.ir

inoculation with inactivated poliovirus. *Journal of Immunology* **102:** 15-23.
11. Parry, S.H., Aitken, I.D. (1977). Local antibody in the respiratory tract of the chicken. The secretory immune response to Newcastle disease virus and the role of IgA. *Veterinary Microbiology* **2:** 143-65.
12. Porter, P. (1973). Intestinal defense in the young pig-a review of the secretory antibody systems and their possible role in oral immunization. *Veterinary Record* **92:** 658-64.
13. Seo, S.H., Collisson, E.W. (1997). Special cytotoxic T lymphocytes are involved in in ovo clearance of infectious bronchitis virus. *Journal of Virology* **71**: 5173-7.
14. Smith, J.A. (2003). Impact of Newcastle vaccines on IBV control. *Poultry Digest Online* **3**: 1-14.
15. Survashe, B.D., Aitken, I.D., Powell, J.R. (1979). The response of the harderian gland of the fowl to antigen given by ocular route. I.Histological changes. *Avian Pathology* **8**: 77-93.
16. Takada, A., Kida, H. (1996). Protective immune response of chickens against Newcastle disease, induced by the intranasal vaccination with inactivated virus. *Veteinary Microbiology* **50:** 17-25.
17. Tamura, S., Samegai, Y., Kurata, H., Nagamine, T., Aizawa, C., Kurata, T. (1988). Protective against influenza virus infection by vaccine inoculated intranasally with cholera toxin B subunit. *Vaccine* **6:** 409-13.
18. Tamura, S., Samegai, Y., Kurata, H., Kikuta, K., Nagamine, T., Aizawa, C., Kurata, T. (1989). Enhancement of protective antibody response against influenza virus infection by cholera toxin B subunit inoculated intranasally with influenza vaccine. *Vaccine* **7:** 257-62.
19. Thompson, G., Mohammed, H., Buman, B., Naqi, S. (1997). Systemic local antibody response to infectious bronchitis virus in chickens inoculated with infectous bursal disease virus and control chickens. *Avian Diseases* **41:** 519-27.
20. Toro, H., Lavaud, P., Vallejos, P., Ferreira, A. (1993). Transfer of IgG from serum to lachrymal fluid in chickens. *Avian Diseases* **37:** 60-6.
21. Toro, H., Godoy, V., Larenas, J., Reyes, E., Kaleta, E.F. (1996). Avian infectious bronchitis: viral persistence in the Harderian gland and histological changes after eye drop vaccination. *Avian Diseases* **40:** 114-20.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 9, Issue 1, 2013

Assaying Immunoglobulin A in Mucosa of Respiratoy Tract Following Administration of Infectious Bronchitis Vaccine in Broiler Chickens

***Gholami-Ahangaran, M.*[1*]**

1- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

Received Date: 3 December 2013 Accepted Date: 4 May 2013

Abstract

The relation between mucosal immunity and resistance to infectious bronchitis virus (IBV) has been known. Thus, for the evaluation and comparison of mucosal immunity response against IBV, 450 one-day-old broiler chickens were divided and vaccinated against IBV according to different approaches. The chickens in different groups were vaccinated against live IB vaccine in one day old, 8 days old,1 and 8 days old, 1, 8 and 18 days old in growing period. The chickens were slaughtered 10 days after the end of each vaccination program and when they were 28 days old. The nasal and tracheal samples were dissected and washed. Specific IgA against IBV in mucosa of respiratory was assayed using ELISA with goat anti-chicken IgA conjugated with horse radish peroxidase. The results revealed there are no significant differences in mucosal immunity response following the administration of the first and second IBV vaccines. Following the administration of IBV vaccine in the third time, it induces significantly higher mucosal immunity response than expected which can, in turn, induce higher resistance to pathogenic IBV.

***Keywords**: Mucosal Immunity, Infectious Bronchitis, Broiler Chickens.*

**Corresponding author: Gholami-Ahangaran, M.*
Address: Department of Clinical Sciences, Veterinary Medicine Faculty, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran. Tel:03813361060
Email: gholami@iaushk.ac.ir

Archive of SID

www.SID.ir