JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره دهم، شماره اول، ۱۳۹۳، پیاپی ۲۸: ۲۶-۱۷

ارزیابی روش‌های مختلف استفاده از واکسن کمپلکس ایمنی علیه بیماری بورس عفونی بر عملکرد آن در جوجه‌های گوشتی

اَوستا صدرزاده[1*]، سید مصطفی پیغمبری[2]، جواد اشرفی هلان[3]

۱ـ استادیار گروه آموزشی علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران

۲ـ استاد گروه آموزشی علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳ـ دانشیار گروه آموزشی پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

تاریخ دریافت: ۸ مرداد ۱۳۹۲ تاریخ پذیرش: ۱۷ مهر ۱۳۹۲

چکیده

روش ترجیحی برای بهره‌مندی از مزایای واکسن‌های کمپلکس ایمنی، تزریق به داخل تخم‌مرغ جنین‌دار است که مستلزم در اختیارداشتن دستگاه‌های بسیار پیشرفته تزریق می‌باشد و امکان استفاده از آنها هنوز بطور گسترده فراهم نیست. در این مطالعه عملکرد یک واکسن کمپلکس ایمنی برای بیماری بورس عفونی بدنبال استفاده به روش تزریق داخل تخم‌مرغی در روز ۱۸ جنینی و تزریق زیرجلدی در روز تفریخ با بررسی چهار شاخص: میانگین وزن پایانی، پاسخ پادتن، نسبت وزن بورس به وزن بدن و نمره جراحات میکروسکوپیک بورس فابریسیوس مقایسه شده است. روش استفاده از واکسن در القاء پاسخ پادتن در نوبت‌های متوالی عیارسنجی الیزا به جز در ۱۸ و ۲۵ روزگی تفاوت آماری معنی‌داری را بین دو گروه موجب نگردید. ویروس واکسن در نمونه‌های ۳۲ روزگی و پس از آن، در گروه‌های واکسینه بدون درنظرگرفتن روش استفاده، در مقایسه با گروه کنترل موجب کاهش معنی‌دار ($P \leq ۰/۰۵$) در نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن شد، اما تفاوت این نسبت بین دو گروه واکسینه در تمامی نوبت‌های نمونه‌گیری معنی‌دار نبود. بررسی آسیب شناسی ریزبینی نمونه‌های فراوری شده بورس فابریسیوس در اکثر نوبت‌های نمونه‌گیری تفاوت معنی‌داری ($P \leq ۰/۰۵$) را در نمره جراحات ریزبینی بین گروه‌های واکسینه با گروه کنترل نشان داد. اما این تفاوت در دو گروه واکسینه، بجز در نمونه‌های ۸ روزگی معنی‌دار نبود ($P > ۰/۰۵$). مقادیر وزن به دست آمده در پایان مطالعه بین دو گروه واکسینه و نیز بین آنها با گروه کنترل تفاوت آماری معنی‌داری نشان داد ($P \leq ۰/۰۵$). از این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت که واکسیناسیون به روش تزریق زیرجلدی در روز تفریخ می‌تواند با حفظ عملکرد واکسن کمپلکس ایمنی، بعنوان جایگزینی برای روش تزریق داخل جنینی آن باشد.

کلمات کلیدی: *واکسن کمپلکس ایمنی، جوجه‌های گوشتی، تزریق زیرجلدی، تزریق داخل جنینی*

* نویسنده مسئول: اَوستا صدرزاده

آدرس: گروه آموزشی علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران. تلفن: ۰۲۳۳۴۵۵۲۱۲۱

پست الکترونیک: avestasadr@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir

مقدمه

بیماری بورس عفونی (IBD) یا بیماری گامبورو یک عفونت ویروسی حاد با واگیری بالا در جوجه‌های جوان است. ویروس عامل این بیماری قادر است در جوجه‌های بسیار جوان با تخریب ساختارهای لمفاوی بورس فابریسیوس (BF) را تخریب نماید و تضعیف پایدار عملکرد ایمنی هومورال را باعث شود (۵، ۷ و ۲۸). این مسئله حساسیت پرنده به دیگر بیماری‌ها را افزایش می‌دهد (۲۲ و ۲۸). در عین حال بیماری بورس عفونی می‌تواند در جوجه‌های حساس پس از سن ۳ هفتگی تا ۳۰٪ تلفات ایجاد نماید (۲۹).

محافظت در برابر این دو شکل بیماری به ترتیب با اتکاء به ایمنی غیرفعال (۴، ۱۹ و ۲۲) و فعال (۲۲) امکان‌پذیر است.

امروزه نقش محافظت‌کنندگی ایمنی غیرفعال به سه دلیل شناخته شده از اهمیت فوق العاده ای که قبلاً برای آن تصور می‌شد به عملکردی نسبی و در محدوده‌ای مشخص تنزل یافته است: الف- ظهور ویروس‌های فوق حاد که از سد پادتن‌های مادری حتی در سطوح بالا عبور می‌کنند (۲۲، ۲۹ و ۳۰). در سال‌های اخیر وجود این ویروس‌ها در ایران به اثبات رسیده است (۹). ب- ناتوانی پادتن‌های مادری کسب شده از واکسن‌های استاندارد در ممانعت از ابتلاء به سویه‌های واریانت که وجود آنها در برخی کشورها تأیید شده است (۱۱، ۱۴ و ۲۲).

و در نهایت ج- ضرورت دخالت ایمنی وابسته به سلول برای شکل‌گیری بالاترین سطوح محافظت در برابر ویروس بیماری بورس عفونی (۲۰ و ۲۵). بعلاوه همانند بسیاری از بیماری‌ها، ایمنی غیرفعال کسب شده در برابر IBD می‌تواند در تحریک پاسخ ایمنی فعال مداخله کند (۱۱ و ۲۹).

ماهیت ویروس بیماری بورس عفونی از حیث مقاومت به عوامل فیزیکی و شیمیایی و واگیری بالا حتی در شرایط بهداشتی مطلوب، نیاز به واکسیناسیون را ایجاب می‌نماید (۱۲). همه موارد گفته شده ضرورت القاء ایمنی فعال را در زمانی هر چه زودتر و به مقداری هرچه بیشتر مطرح نموده است. توان ایمنی‌زایی واکسن‌های زنده IBD به حدت آنها بستگی دارد (۶، ۱۷ و ۲۹).

اما استفاده زودهنگام از واکسن‌های کمتر تخفیف حدت یافته، خود می‌تواند در جوجه‌هایی که دارای مقادیر کمتری پادتن مادری هستند، برای BF آسیب‌رسان باشد (۱۷). قبلاً نشان داده شده است که سویه‌های ویروس به‌کار رفته در واکسن، نقش مهمی در توان آن برای سرکوب ایمنی دارد و سویه‌های با حدت کم‌تر سرکوب‌کننده‌ی ایمنی نیستند، در حالی که برخی سویه‌های حادتر، در صورت استفاده‌ی زودهنگام، پتانسیل تأثیرات سرکوب‌کنندگی ایمنی دارند(۳، ۱۰ و ۲۱). از این رو ایمن‌سازی موفق جوجه‌ها نیازمند واکسن‌هایی است که دارای سویه‌های با حدتی بیش از متوسط بوده که در عین عدم آسیب‌رسانی به BF جوجه‌های بسیار جوان، در برابر پادتن‌های مادری نیز مقاومت نمایند و هم‌چنین از توان برانگیختی پاسخ ایمنی قوی‌تری نیز برخوردار باشند. واکسن‌های کمپلکس ایمنی بیماری گامبورو بدلیل سویه ویروس به‌کار رفته در آن‌ها و هم‌چنین دارا بودن سرم هیپرایمیون اختصاصی هموگ دارای چنین خصوصیاتی هستند (۸، ۱۶ و ۱۷). روش ترجیحی برای دستیابی به اهداف مورد انتظار برای این واکسن‌ها، تزریق به داخل تخم‌مرغ جنین‌دار در روز ۱۸ جنینی (In ovo vaccination) است. این تزریق می‌بایست توسط دستگاه‌های بسیار پیشرفته و بطور کاملاً اتوماتیک در

Archive of SID

www.SID.ir

کارخانه جوجه‌کشی انجام شود. در حال حاضر استفاده گسترده از این روش برای تمامی مراکزجوجه کشی امکان‌پذیر نمی‌باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه ۳۷۵ قطعه جوجه گوشتی یک روزه از سویه راس ۳۰۸ از گله مادر باسن ۳۰ هفته (واجد سطوح بالای پادتن مادری) تهیه گردید. جوجه‌ها به سه گروه ۱۲۵ قطعه‌ای تقسیم و در اتاق‌های جداگانه نگهداری شدند. به گروه ۱ یک واکسن کمپلکس ایمنی در روز ۱۸ جنینی به روش تزریق داخل تخم مرغی و به گروه ۲ همان واکسن در یک روزگی به روش تزریق زیر جلدی در ناحیه پشت گردن تجویزشد. گروه ۳ که به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شد واکسن IBD دریافت نکرد.

کلیه شرایط نگه‌داری و پرورش برای تمامی گروه‌ها یکسان و مطابق دفترچه راهنمای پرورش راس ۳۰۸ برقرار گردید. همچنین برای تمامی گروه‌ها تا پایان مطالعه از جیره یکسانی استفاده شد. در سنین ۱و ۴و ۱۲و ۱۸و ۲۵و ۳۲و ۴۲ روزگی ۲۰ پرنده از هر گروه توزین و برای تعیین عیار پادتن IBD خون‌گیری شدند. سرم‌ها جداسازی، سانتریفوژ و در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگه‌داری گردیدند. همچنین در سنین ذکرشده، سه پرنده از هرگروه توزین و به روش جابه جایی مهره‌های گردن کشته و مورد کالبدگشایی قرار گرفتند. BF هر پرنده به دقت برداشت شد و با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم توزین و در وزن بدن ثبت گردید. سپس نمونه‌های BF مراحل مختلف ثبوت و فراوری تا تهیه لام رنگ‌آمیزی شده را طی نموده و مورد ارزیابی آسیب شناسی قرار گرفتند.

واکسن‌های مورد استفاده

یک واکسن کمپلکس ایمنی برای بیماری بورس عفونی واکسن‌های Lasota و Hitchner B برای ایمن‌سازی گروه‌های تحت مطالعه در برابر بیماری نیوکاسل در تمامی گروه‌ها به ترتیب در ۷ و ۱۷ روزگی به روش قطره چشمی استفاده شدند.

در تحقیق حاضر جهت آزمایش الیزا از کیت KPL (Synbiothic, France) استفاده شد و مراحل متوالی آزمایش مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام پذیرفت. نتایج توسط دستگاه ریدر قرائت و پس از محاسبات نرم‌افزاری در قالب عیارهای پادتن مورد ارزیابی قرار گرفت.

توزین BF پس از برداشت کامل آن برای هر پرنده جداگانه و با استفاده از ترازوی ریزسنج (Sartorious) با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم انجام شد. نتایج جهت تعیین نسبت وزن BF به وزن بدن (Weight/Body Weight Bursal Ratio) برای هر پرنده (وزن BF تقسیم بر وزن پرنده زنده × ۱۰۰۰) ثبت شد.

همچنین جهت بررسی آسیب‌شناسی، تغییرات بافتی قابل مشاهده با چشم به ویژه در BF، طحال و تیموس در هر نوبت نمونه‌گیری برای هر گروه ثبت گردید. در مطالعه ریزبینی ضایعات بافتی و شدت تغییرات ایجاد شده در BF روی لام های رنگ‌آمیزی شده به روش H&E بر اساس مطالعات مشابه درجه بندی شد.

تجزیه و تحلیل آماری گروه‌ها با توجه به شاخص‌های در نظر گرفته شده، با استفاده از روش آماری One-way ANOVA و آزمون Tukey در نرم‌افزار SPSS انجام گردید.

نتایج

تفاوت در روش استفاده از واکسن کمپلکس ایمنی در این مطالعه توانست تفاوت معنی‌داری در متوسط

Archive of SID

www.SID.ir

وزن به دست آمده در سنین ۳۲ و ۴۲ روزگی بین دو گروه واکسینه ایجاد نماید.

کاهش عیار پادتن مادری در گروه کنترل بدون فراز و نشیب با یک روند قابل قبول از یک روزگی تا انتها که به صفر رسید، ادامه یافت .اگر چه این روند برای گروه‌های واکسینه از چنان نظمی برخوردار نبود و تفاوت‌های معنی‌داری نیز در روزهای ۱۲، ۱۸ و ۲۵ بین دو گروه نشان داد، اما در نهایت این تفاوت از بین رفت. نتایج حاصله در جداول ۱ تا ۴ مشاهده می گردد.

روش تجویز واکسن درمتوسط نسبت وزن BF به وزن بدن ومتوسط نمره جراحات آسیب شناسی در هیچ‌یک از نوبت‌های نمونه‌گیری، تفاوت معنی داری ایجاد نکرد.

جدول ۱- متوسط وزن جوجه‌ها (گرم)

	سن (روز)							
گروه	۱	۴	۸	۱۲	۱۸	۲۵	۳۲	۴۲
۱	۳۹^{a}	۷۲^{a}	۱۴۷^{a}	۲۲۷^{a}	۴۴۵^{a}	۷۹۵^{ab}	۱۳۱۵^{b}	۱۸۹۹^{ac}
۲	۳۷^{a}	۷۰^{a}	۱۴۷^{a}	۲۴۳^{a}	۴۵۹^{a}	۷۲۷^{a}	۱۱۲۴^{a}	۱۶۵۹^{b}
۳	۳۷^{a}	۷۰^{a}	۱۴۵^{a}	۲۲۸^{a}	۴۴۲^{a}	۸۳۹^{b}	۱۳۱۴^{b}	۲۰۶۶^{a}

گروه ۱ : واکسن کمپلکس ایمنی در روز ۱۸ جنینی به شیوه *In ovo* .گروه ۲ : واکسن کمپلکس ایمنی در یک روزگی ازراه زیرجلدی. گروه ۳ : گروه کنترل. حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

جدول ۲- متوسط عیار پادتن با آزمون الیزا

	سن (روز)							
گروه	۱	۴	۸	۱۲	۱۸	۲۵	۳۲	۴۲
۱	۲۳۱۲۴^{a}	۹۶۵۹^{a}	۱۷۱۷۷^{a}	۱۰۰۱۱^{a}	۳۶۱۴^{a}	۳۳۰۴^{b}	۶۸۰۳^{a}	۱۲۱۰۴^{a}
۲	۲۳۲۶۴^{a}	۹۷۷۹^{a}	۱۶۳۰۲^{ab}	۹۵۹۲^{a}	۶۹۲۳^{b}	۱۷۵۱^{a}	۷۰۷۰^{a}	۱۲۷۰۷^{a}
۳	۲۳۲۶۴^{a}	۱۵۰۲۶^{b}	۱۲۸۹۶^{a}	۱۲۰۸۱^{b}	۷۶۰۲^{c}	۳۳۶۲^{b}	۲۸۱^{b}	۰^{b}

گروه ۱: واکسن کمپلکس ایمنی در روز ۱۸ جنینی به شیوه *In ovo* .گروه ۲: واکسن- کمپلکس ایمنی در یک‌روزگی از راه زیرجلدی، گروه ۳: گروه کنترل. حروف لاتین کوچک غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

جدول ۳- متوسط نسبت وزن بورس به وزن بدن

	سن (روز)						
گروه	۴	۸	۱۲	۱۸	۲۵	۳۲	۴۲
۱	۱/۹۱۲^{a}	۱/۷۲۰^{a}	۱/۷۶۸^{a}	۲/۲۷۱^{a}	۱/۹۰۷^{a}	۰/۹۲۳^{a}	۰/۵۳۷^{a}
۲	۱/۸۵۹^{a}	۱/۵۵۱^{a}	۲/۰۲۸^{a}	۲/۰۹۰^{a}	۲/۲۲۲^{b}	۰/۹۲۳^{a}	۰/۶۰۵^{a}
۳	۱/۷۱۵^{a}	۱/۵۵۷^{a}	۱/۷۹۷^{a}	۲/۳۶۹^{a}	۲/۱۰۴^{a}	۲/۰۷۴^{b}	۲/۲۵۸^{b}

گروه ۱: واکسن کمپلکس ایمنی در روز ۱۸ جنینی به شیوه *In ovo*، گروه ۲: واکسن کمپلکس ایمنی در یک روزگی از راه زیرجلدی، گروه ۳: گروه کنترل. حروف لاتین کوچک غیرمشابه درهر ستون نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۴- متوسط نمره جراحات میکروسکوپیک بورس فابریسیوس

	سن (روز)						
گروه	۴	۸	۱۲	۱۸	۲۵	۳۲	۴۲
۱	۱/۶۷^{a}	۱/۶۷^{a}	۰/۶۷^{ab}	۲^{a}	۱/۳۳^{a}	۳/۶۷^{a}	۳^{b}
۲	۱/۳۳^{a}	۰/۶۷^{a}	۱^{b}	۱/۳۳^{a}	۱/۳۳^{a}	۳/۳۳^{a}	۳^{b}
۳	۰/۶۷^{a}	۱/۶۷^{a}	۰/۳۳^{a}	۱^{a}	۱/۳۳^{a}	۱^{b}	۱/۳۳^{a}

گروه ۱: واکسن کمپلکس ایمنی در روز ۱۸ جنینی به شیوه *In ovo*، گروه ۲: واکسن کمپلکس ایمنی در یک روزگی از راه زیرجلدی، گروه ۳: گروه کنترل. حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت آماری معنی‌دار است ($P<۰/۰۵$).

بحث

تفاوت مشاهده شده در میانگین وزن گروه‌های واکسینه با مشاهدات Palya و همکاران (۲۰۰۱) و صدرزاده و همکاران (۲۰۰۵) مطابقت نداشت. در مطالعه Palya و همکاران متوسط وزن گروه دریافت کننده واکسن کمپلکس ایمنی به روش *In ovo* بیش از دیگر گروه‌ها بود.در مطالعه ایشان گروه‌ها با ویروس حاّد بیماری بورس عفونی چالش داده شدند و نتایج ارایه شده مربوط به یک هفته پس از چالش است. البته در مطالعه حاضر جوجه‌ها چالش داده نشدند. درمطالعه صدرزاده و همکاران گروه دریافت کننده واکسن کمپلکس ایمنی به روش زیرجلدی نسبت به گروه دریافت کننده همان واکسن به روش *In ovo* ازمیانگین وزن بیشتری در ۴۷ روزگی برخوردار بود. اگرچه این تفاوت معنی دار نبود.در مطالعات ایشان هر دو روش واکسیناسیون در هچری انجام گرفت و در مطالعه حاضر واکسیناسیون به روش *In ovo* در هچری و تزریق واکسن به شیوه SC پس از انتقال از هچری و در محل آزمایش اجراء گردید .تفاوت وزن گروه‌های واکسینه با گروه شاهد را احتمالا می‌توان به استرس ناشی از تزریق واکسن مربوط دانست. از آنجا که این تفاوت درگروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیر جلدی بیشتر بود ممکن است بتوان استرس بیشتر ناشی از تزریق دستی را عامل آن بشمارآورد و از این نظر برای واکسیناسیون با ابزار اتوماتیک مزیت قائل شد. ازآنجا که چنین یافته ای غیرمعمول بوده و موردانتظارنیست، ما بیش از این دلیلی برای آن نمی‌شناسیم.

روند کاهش عیار پادتن مادری در هر سه گروه تا ۲۵ روزگی کم و بیش مشابهت داشت. در این روز به تدریج گروه‌های مختلف به محدوده عیار حساسیت نزدیک گردیدند. این مشاهده با آنچه به طور معمول از حضور پادتن‌های مادری در ۳ تا ۴ هفته ابتدای عمر جوجه‌ها انتظار می‌رود مطابقت داشت (۲۹). کاهش عیار پادتن‌های مادری برای گروه کنترل پس از ۲۵ روزگی نیز ادامه یافت تا در نوبت بعدی نمونه‌گیری با ورود به محدوده عیارهای حساسیت در انتها به صفر رسید. روند کاهش عیار پادتن مادری در گروه‌های واکسینه اگر چه تا ۸ روزگی فراز و نشیبی غیرقابل توجیه نشان داد، اما از آن پس تا ۲۵ روزگی پیوسته مسیر رو به کاهش را طی نمود. در نمونه‌های ۱۸ و ۲۵ روزگی تفاوت عیار پادتن گروه‌های واکسینه به ترتیب به نفع گروه ۲ در ۱۸ و گروه ۱ در ۲۵ روزگی معنی‌دار بود. اما با شروع پاسخ پادتن فعال و روند رو به افزایش عیارها این تفاوت از بین رفت. سن شروع پاسخ پادتن در گروه‌های واکسینه با سن کاهش نسبت وزن BF به وزن بدن و افزایش نمره جراحات میکروسکوپیک در

Archive of SID

www.SID.ir

BF مطابقت داشت و این گروه‌ها از این نظر با یکدیگر تفاوتی نداشتند. بدین ترتیب مطالعه ما تاثیر پادتن‌های مادری در به تعویق انداختن فعالیت ویروس واکسن و تاثیر آن بر BF و پاسخ پادتن به آن را تا اوایل هفته چهارم نشان داد که با مشاهدات Kelemen و همکاران (۲۰۰۰) مطابقت داشت. این نتایج همچنین گویای این مطلب است که ویروس واکسن علی‌رغم حضور مقادیر بسیار زیاد پادتن‌های مادری که برای واکسن‌های زنده معمولی IBD خنثی کننده هستند، به دنبال استفاده از هر یک از دو روش واکسیناسیون توانسته است مقاومت کرده و با افول این پادتن‌ها فعالیت خود را آغاز نماید. واکسن‌های کمپلکس ایمنی برخلاف واکسن‌های زنده معمول تحت تاثیر پادتن‌های مادری قرار نمی‌گیرند (۶ و ۱۶).

متوسط نسبت وزن BF به وزن بدن بین سه گروه تحت مطالعه تا ۳۲ روزگی تفاوت آماری معنی‌داری نشان نداد. از آنجا که شروع روند رو به کاهش این شاخص را قاعدتاً می‌بایست نتیجه فعالیت ویروس واکسن و تخریب ساختارهای لمفاوی BF توسط آن دانست، لذا می‌توان چنین نتیجه گرفت که تا سن ۲۵ روزگی که عیار پادتن همه گروه‌ها کم و بیش در محدوده محافظت قرار داشت، از شروع فعالیت ویروس واکسن ممانعت گردیده است. اما پس از آن با ورود عیار پادتن‌های مادری به محدوده حساسیت (نمونه ۳۲ روزگی گروه کنترل مؤید آن است) ویروس واکسن توانسته است فعالیت خود را آغاز نماید. این مسئله از یک‌سو منجر به شروع پاسخ پادتن فعال و در نتیجه افزایش عیار پادتن در نوبت بعدی عیارسنجی در گروه‌های واکسینه گردیده است و از سوی دیگر با تخریب ساختارهای لمفاوی BF کاهش شاخص نسبت وزن BF به وزن بدن را در گروه‌های واکسینه در پی داشته است. فاصله ۷ روز بین دو نوبت نمونه‌گیری (۲۵ تا ۳۲ روزگی) برای بروز این دو خصوصیت کفایت می‌نماید. در مطالعه Avakian و همکاران (۲۰۰۱)، مشابه نتایج ما، عدم تفاوت در این شاخص بین گروه‌های واکسینه و کنترل در جوجه‌های گوشتی دارای پادتن مادری تا ۲۱ روزگی حفظ شده است.

دراین مطالعه بین دو گروه دریافت کننده واکسن به دو روش مختلف در تمامی نوبت‌های نمونه‌گیری هیچ تفاوت معنی‌داری از نظرجراحات آسیب شناسی مشاهده نشد. حتی این شاخص در گروه کنترل نیز تا ۲۵ روزگی به جز در ۱۲ روزگی با گروه‌های واکسینه مشابهت نشان داد. در نمونه‌های ۳۲ روزگی، گروه‌های واکسینه، نسبت به ۲۵ روزگی افزایش قابل توجهی نزدیک به سه برابر در این شاخص نشان دادند در حالی‌که در گروه کنترل این شاخص با کاهش همراه بود. این مسئله گویای شروع فعالیت ویروس واکسن و تخریب ناشی از آن است. چنین تأثیری قبلاً از واکسن‌های زنده مختلف IBD در جوجه‌های گوشتی معمولی و جوجه‌های عاری از جرم خاص توسط Muskett و همکاران (۱۹۷۹)، Giambrone و همکاران (۱۹۸۶)، Mazariegos و همکاران (۱۹۹۰)، Kelemen و همکاران (۲۰۰۰) گزارش شده است. رخداد تخریب ناشی از عملکرد ویروس واکسن در BF با توانایی ایمنی‌زایی آن علیه IBD ارتباط دارد. تاثیر مخرب ویروس واکسن کمپلکس ایمنی بر BF کمتر از واکسن‌های معمولی فاقد پادتن بوده و ضایعات ایجاد شده، به خصوص در جوجه‌های گوشتی دارای پادتن مادری بسیار سریعتر ترمیم گردیده و از پایداری کمتری برخوردار است (۱۲). در مطالعه حاضر روند کاهش نمره جراحات BF ۱۰ روز پس از افزایش آن آغاز گردید که معرف بازآرایی ساختارهای لمفاوی

Archive of SID

www.SID.ir

BF است. نتیجه مطالعه Ivan و همکاران (۲۰۰۱) نیز نشان داد که تخلیه BF از لمفوسیت‌های B که متعاقب واکسیناسیون *In ovo* نوعی واکسن کمپلکس ایمنی ایجاد شده بود پس از ۷ روز جبران شد. مطالعه Kim و همکاران (۱۹۹۹) نیز نشان داد که سرعت ترمیم بورس به حدت سویه واکسن به کار رفته بستگی داردو تولید پادتن ضدویروس بیماری نیوکاسل پس از ترمیم بورس آغاز شده است.

صدرزاده و همکاران (۲۰۰۷) نیز نشان دادند که استفاده از واکسن کمپلکس ایمنی بر ضد IBD مشابه واکسن مطالعه حاضر، فاقد اثرات سرکوب‌کنندگی فعالیت ایمنی متعاقب چالش با ویروس حاد بیماری نیوکاسل است.

از بررسی شاخص‌های چهارگانه مطالعه شده در تحقیق حاضر چنین نتیجه گرفته می‌شود که روش تزریق زیرجلدی واکسن کمپلکس ایمنی نتایجی مشابه با استفاده از آن به روش *In ovo* در بر دارد.

منابع

1. Amer, M.M., El-Bayomi, K.M., Abdel Ghany, W.A., Kotkat, M.A., Abdel Gaied, S. Shakal, M.A. (2007). The efficacy of live infectious bursal disease vaccines in commercial 10 days old chicks. *BS Veterinary Medicine Journal*, 5th Scientific Conference. pp. 23-33.
2. Avakian, A.P., Whitfill, C.E., Haddad, E.E., Chettle, N.J. (2001). The characteristic of IBDV-ICX vaccines and their application in broilers with maternal immunity. *Proceedings of the third meeting of working group 3: vaccination*. Passive protection and vaccination (Current and future possibilities) in the presence of maternaly drived antibody, Pulawy, Poland.
3. Ayyab, R.M., Aslam, A., Khan, S.A., Munir, M.A. (2003). Comparative immunopathological and immunosuppressive effect of three different Gumboro vaccine strains against Newcastle disease vaccination in broilers. *Pakistan Veterinary Journal* **23**: 181-6.
4. Baxendale, W., Lutticen, D. (1981). The results of field trials with and inactivated Gumboro vaccine. *Developments in Biological Standardization* **51**: 211-9.
5. Becht, H. (1980). Infectious bursal disease virus. *Current Topics in Microbiology and Immunology* **90**: 107-21.
6. Comte, S. (2000) *Large scale comparative field study of vaccination against IBD with intermediate plus vaccine in broiler using EIISA data determination technique*. CEVA Animal Health (MOTI) Ltd.
7. Faragher, J.T., Allan, W.H., Wyeth, C.J. (1974). Immunosupressive effect of infectious bursal agent on vaccination against Newcastle disease. *Veterinary Record* **95**: 385-8.
8. Gagic, M.C., Hill, S.T., Sharma, J.M. (1999). *In ovo* vaccination of specific pathogem-free chickens with vaccines containing multiple antigens. *Avian Diseases* **43**: 293-301.
9. Ghaaniei, A., Peighambari, S.M., Razmyar, J. (2011). Identification of very virulent infectious bursal disease viruses by RT-PCR of VPI gene and speculation about the possible presence of reassortant viruses. *Journal of Veterinary Research* **66**: 153-9.
10. Giambrone, J.J., Clay, R.P. (1986). Evaluation of the immunogenicity, stability, pathogenicity, and immunidepressive potential of four commercial live infectious bursal

Archive of SID

www.SID.ir

disease vaccines. *Poultry Science* **65**: 1287-90.

11. Gray, D., Miles, R.D. (2000). *Infectious bursal disease in commercial broilers*. Cooperative Extension Service. University of Florida, USA.

12. Haddad, E.E., Whitfill, C.E., Avakian, A.P., Ricks, C.A., Andrews, P.D., Thoma, J.A., Wakenell, P.S. (1997). Efficacy of a novel IBDV immune complex vaccine in broiler chickens. *Avian Diseases* **41**: 882-9.

13. Hassan, M.K., Saif, Y.M. (1996). Influence of the host system on the pathogenicity, immunogenicity, and antigenicity of infectious bursal disease virus. *Avian Diseases* **40**: 553-61.

14. Ignjatovic, J., Prowse, S. (1997). *IBDV: to determine if current vaccination straegies prevent the emergence of variant IBDV Strains in Australia*. Rural Industries Research and Development Corporation.

15. Ivan, J., Nagy, N., Magyar, A., Kasckovics, I., Meszaros, J. (2001). Functional restoration of the bursa of fabricius following in ovo infectious bursal disease vaccination. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **79**: 235-48.

16. Jeurissen, S.H., Janse, E.M., Lehrbach, P.R., Haddad, E.E., Avakian, A., Whitfill, C.E. (1998). The working mechanism of an immune complex vaccine that protects chicken against infectious bursal disease. *Immunology* **95**: 494-500.

17. Kelemen, M., Forgach, K., Ivan, J., Palya, V., Soveges, T., Thoth, B., Maszaros, J. (2000). Pathological and immunological study of an *In ovo* complex vaccine against infectious bursal disease. *Acta Veterinaria Hungrica* **48**: 443-54.

18. Kim, I.J., Gagic, M., Sharma, J.M. (1999). Recovery of antibody-producing abiligy and lymphocyte repopulation of bursal follicles in chickens exposed to infectious bursal disease virus. *Avian Diseases* **43**: 401-13.

19. Lucio, B., Hitchner, S.B. (1979). Infectious bursal disease emulsified vaccine: effect upon neutralizing antibody levels in the dam and subsequent protection of the progeny. *Avian Diseases* **23**: 466-78.

20. Mast, J., Goddeeris, B.M. (1999). Development of immunocompetence of broiler chicken. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **70**: 245-56.

21. Mazariegos, L.A., Lukert, P.D., Brown, J. (1990). Pathogenicity and immunosuppressive properties of infectious bursal disease "Intermediate" strains. *Avian Diseases* **34**: 203-8.

22. Muller, H., Islam, M.D., Raue, R. (2003). Research on infectious bursal disease- the past, the present and the future. *Veterinary Microbiology* **97**: 153-67.

23. Musket, I., Hopkins, G. (1979). Comparison of two infectious bursal disease vaccine strains: efficacy and potential hazard in susceptible and maternally immune birds. *Veterinary Record* **104**: 332-4.

24. Palya, V., Kelemen, M., Toth, B., Forgach, K., Meszaros, J. (2001). Field potency testing of IBD immune complex vaccine of commercial broilers. In: *Proceedings of the third meeting of working group 3*: *vaccination*. Passive protection and vaccination (Current and future possibilities) in the presence of maternaly drived antibody, Pulawy, Poland.

25. Rautenschein, S., Haase, C.H. (2005). Difference in the immunopthogenesis of

Archive of SID

www.SID.ir

infectious bursal disease virus (IBDV) following *in ovo* and post-hatch vaccination of chickens. *Veterinary Immnnology and Immunopathology* **106**: 139-50.

26. Sadrzadeh, A., Peighambari, S.M., Shojadoost, B. (2005). *Immunogenicity of an IBD- immune complex vaccine in broiler chickens*. WVPC org.
27. Sadrzadeh, A., Peighambari, S.M., Shojadoost, B. (2007). Immunosuppressive effects of an infectious bursal disease- immune complex vaccine in broilers. *Indian Veterinary Journal* **84**: 6-9.
28. Saif, Y.M. (1991). Immunosuppression induced by infectious bursal disease vires. *Veterinary Immunology and Immunopathology* **30**: 45-50.
29. Saif, Y.M., Lukert, P.D. (2003). *Infectious Bursal Disease*, In: *Diseases of Poultry*, 11th Edition, Lowa State Press, USA, pp: 161-79.
30. Skeels, J.K., Lukert, P.D., Fletcher, O.J., Leonard, J.D. (1979). Immunization studies with a cell-culture-adapted infectious bursal disease virus. *Avian Disease* **23**: 456-65.
31. Torrecuadrada, J.L.M., Saubi, N., Pages-Mante, A., Caston, J.R., Espuna, E., Casal, J.I. (2003). Structure-dependent efficacy of infectious bursal disease virus recombinant vaccines. *Vaccine* **21**: 3342-50.
32. Vancdenberg, T.P., Gonze, M., Meulemanns, G. (1991). Acute infectious bursal disease in poultry: isolation and charactrisation of a highly virulent strain. *Avian Pathology* **20**: 133-43.

Archive of SID

www.SID.ir

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 10, Issue 1, 2014

The Evaluation of the Efficiency of Different Routes for the Administration of Immune Complex IBD Vaccine in Broilers

Sadrzadeh, A.[1*], Peighambari, S.M.[2], Ashrafi Halan J.[3]

1- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran
2- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
3- Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Veterinary Medicine, Tabriz University, Tabriz, Iran

Received Date: 30 July 2013 *Accepted Date: 1 October 2013*

Abstact: *The preferential method to enjoy the benefits of Immune- complex vaccines is the in-ovo injection which needs very complex and advanced injection machines. These machines are not yet widely available. In this study, the function of an Immune- complex vaccine was compared by using two methods. The fist method was the In-ovo injection in the 18th day of incubation period and the second one was the Sub-cutanous vaccination in the day-old chicks. For this purpose four parameters including mean final weight, antibody response, bursa to body weight ratio and the grade of microscopic injuries within the bursa of fabrisius were measured. The results showed that the method of vaccination in induction of ELISA antibody response in (KPL) except for the 18th and 25th days of age did not cause any significant difference between the two vaccinated groups. In the samples for the vaccinated 32 day old chickens, bursa to body weight ratio was significantly ($p<0.05$) lower than control group, but there was no significant difference between the two vaccinated groups. The histopathological study of the bursa samples indicated a significant difference ($P\leq0/05$) in microscopic injuries grade between the vaccinated groups and the control group, but this difference between the vaccinated groups except for the 8 days old chick's samples did not show any significant difference. The amount of final weight in the end of the study between the two vaccinated groups and also between the vaccinated groups and the control group showed a significant difference ($P\leq0/05$). It can be concluded that the vaccination with the subcutaneous method in day-old chicks using the function of Immune-complex vaccine can be considered as reliable in-ovo method for the administration of immune-complex vaccines.*

Keywords: *Immune-complex vaccine, Broilers, Subcutaneous vaccination, In-ovo vaccination.*

**Corresponding author: Sadrzadeh, A.*
Address: Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran. Tel: 02334552121
Email: avestasadr@yahoo.com

Archive of SID

www.SID.ir