Archive of SID

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۰، دوره ۶۶، شماره ۴، ۳۶۲-۳۵۵

مطالعه تاثیر روش دریافت واکسن زنده بیماری بورس عفونی بر برانگیختگی پاسخ پادتن درجوجه‌های گوشتی

اوستا صدرزاده[1*] رضا غفورزاده[1] سید مصطفی پیغمبری[2] سید عباس موسوی[1]

۱) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار ـ ایران.

۲) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران ـ ایران.

(دریافت مقاله: ۲۵ شهریور ماه ۱۳۸۹ ، پذیرش نهایی: ۲۲ فروردین ماه ۱۳۹۰)

چکیده

بیماری بورس عفونی یکی از مهمترین بیماری‌های ویروسی ماکیان است. برای پیشگیری از دوشکل ابتلاء قبل وبعد از ۳ هفتگی به این بیماری، به ترتیب به ایمنی مادری و ایمنی فعال حاصل از واکسیناسیون جوجه ها نیاز است. درگله‌های گوشتی، واکسیناسیون با واکسن‌های زنده انجام می‌شود. علاوه بر نوع واکسن، روش واکسیناسیون هم در برانگیختگی پاسخ پادتن موثراست. در این مطالعه یک واکسن با حدت متوسط بیماری بورس عفونی، به پنج روش تزریق عضلانی، تزریق زیرجلدی، آشامیدنی، قطره چشمی و اسپری، تنها یک نوبت و در ۲۱ روزگی مورد استفاده قرارگرفت. تاثیر روش واکسیناسیون در برانگیختگی پاسخ پادتن باآزمون الایزا با کیت تجاری شرکت IDEXX ارزیابی گردید. همه روش ها در برانگیختگی پاسخ پادتن موفق بودند. بالاترین متوسط عیار پادتن دردو نوبت آخر عیارسنجی به‌گروه دریافت کننده واکسن به روش زیرجلدی تعلق داشت. اما این تفاوت در آخرین نوبت عیارسنجی با دیگرگروههای واکسینه معنی دارنبود ($p>0/05$). این‌گروه همچنین به بالاترین بیشینه عیار پادتن، بالاترین نسبت وزن بورس فابرسیوس به وزن بدن و بالاترین میانگین وزن استحصالی دست یافت. گروه‌های دریافت کننده واکسن به روش تزریقی اعم از زیرجلدی یا عضلانی تنهاگروه‌هایی بودند که توانستند درآخرین نوبت عیارسنجی به مقادیری از عیار پادتن دست یابند که دراصطلاح درمانگاهی، محافظت کننده خوانده می‌شود. از این مطالعه نتیجه‌گرفته‌شد که واکسیناسیون به روش تزریق زیرجلدی می‌تواند، در دستیابی به متوسط عیار پادتن، سلامت بورس فابریسیوس وعملکرد جوجه ها متعاقب تنها یک نوبت دریافت واکسن با حدت متوسط، بیش از واکسیناسیون به روش اشامیدنی که متداول ترین روش واکسیناسیون علیه بیماری بورس عفونی است موفق باشد.

واژه‌های کلیدی: بیماری بورس عفونی، جوجه گوشتی، واکسیناسیون، تزریق زیرجلدی.

مقدمه

به دلیل نقش تعیین کننده ایمنی هومورال در محافظت از جوجه ها در برابر ویروس بیماری بورس عفونی یا گامبورو، برانگیختگی پاسخ پادتن توسط واکسن با مصونیت در برابر بیماری مرتبط دانسته می‌شود (۷). اگرچه آزمون VN تست طلایی برای تفسیر توان محافظت کنندگی عیار پادتن ضد ویروس بیماری بورس عفونی بحساب می‌آید، اما ویروسی که بعنوان اندیکاتور برای انجام آزمون VN به کارگرفته می‌شود، بدلیل حضور تحت تیپ‌های آنتی‌ژنیک متنوع، می‌تواند تفاوت‌های معنی داری را در نتایج آزمون ایجاد نماید(۱۳). مشاهده تفاوت‌های معنی دار درعیارهای آزمون VN درآزمایشگاه‌های مختلف غیرمعمول نیست (۲۲) درحال حاضر روش الایزا متداول ترین روش سرولوژیک برای ارزیابی پادتن‌های ضد ویروس بیماری بورس عفونی در سطح گله‌های طیوراست(۷). قابلیت الایزا دراندازه گیری پادتن‌های ضد ویروس بیماری بورس عفونی ومقایسه نتایج آن بانتایج آزمون VN توسط محققین متعددی گزارش شده است (۶،۱۹،۲۰،۲۷،۲۸،۲۹). علی رغم تنوع نسبتاً قابل توجه در انواع واکسن‌های زنده مورد استفاده در مصون سازی جوجه‌های گوشتی، موارد متعددی از ناتوانی واکسن در برانگیختگی پاسخ پادتن در سطح مزرعه مشاهده می‌شود. دلایل این شکست را می‌توان به موارد مختلفی مربوط دانست. نوع واکسن انتخاب شده و روش استفاده از آن، مهمترین این موارد هستند.

در گله‌های گوشتی بدلیل عدم استفاده از واکسن‌های کشته بیماری بورس عفونی، تفاوت در نوع واکسن در وهله اول به تفاوت در حدت سویه بکاررفته در آن مربوط می‌شود. تاثیربازدارنده‌ی پادتن‌های مادری، ظهور ویروسهای با حدت زیاد که سطوح بالاتری از پادتن برای محافظت در برابر آنها ضروری است (درسال های اخیر وجود ویروس های فوق حاد در ایران به اثبات رسیده است(۸) و احتمال حضور واریانت ها که مقادیر بیشتر پادتن، ایمنی متقاطع قوی تری با آنها ایجاد می‌کند، سبب شده که برای تصحیح مواردی از شکست در واکسیناسیون که به نوع واکسن انتخاب شده مربوط می‌شود، به واکسن‌های با حدت بیشتر که توانایی افزون تری در برانگیختگی پاسخ پادتن دارند و از سطوح بالاتری از ایمنی مادری عبور می‌کنند روی آورده شود. اما در برخی موارد، بخصوص در موارد استفاده زود هنگام، نتیجه‌ی عملکرد این واکسن ها، بدلیل حدت زیاد ممکن است به بروز نقص ایمنی و رخداد بیماری‌های دیگر، بخصوص کمپلکس های تنفسی بیانجامد. قبلاً نشان داده شده است که سویه های

*) نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۲۳۲-۴۲۵۲۱۲۱، نمابر: ۰۲۳۲-۴۲۵۲۰۲۰ Email: avestasadr@gmail.com

www.SID.ir

Archive of SID

ویروس بکار رفته در واکسن، نقش مهمی در توان آن برای سرکوب ایمنی دارد و سویه‌های با حدت کمتر سرکوب کننده‌ی ایمنی نیستند، در حالی که برخی از سویه‌های حادتر پتانسیل تاثیرات سرکوب کنندگی ایمنی دارند (۱،۳،۹،۲۱).

مجموعه دلایل ذکر شده توجه مجدد به واکسن‌های با حدت کمتر و البته هر عاملی که بتواند بر کارآیی آنها در برانگیختگی پاسخ پادتن بیافزاید را در پی داشته است، چرا که ضرورت و اهمیت دستیابی به عیارهای هر چه بیشتر پادتن، بدلایل گفته شده، هنوز به قوت خود باقی است. یکی از اصلی ترین عوامل موثر بر عملکرد واکسن‌های زنده، در برانگیختگی پاسخ پادتن، روش استفاده از این واکسن هاست. روشهای آشامیدنی، قطره چشمی، اسپری، و تزریق عضلانی یا زیر جلدی متداولترین روشهایی هستند که می توان با استفاده از آنها واکسیناسیون با واکسن‌های زنده را در سطح مزرعه انجام داد. این انتظار وجود دارد که کارآیی روشهای فوق در تاثیر پذیری از ایمنی مادری (۷)، برانگیختگی پاسخ پادتن (میانگین عیار پادتن، پراکندگی از میانگین، کمینه و بیشینه عیار پادتن)، تاثیر بر ساختار و حجم بورس فابریسیوس (بعنوان اصلی ترین کانون لمفاوی مسئول ایمنی هومورال) و عملکرد گله (میانگین وزن استحصالی در پایان دوره) کاملاً یکسان نباشد. روش آشامیدنی معمول ترین روش استفاده از واکسن بیماری بورس عفونی است. اما اصلی ترین مسئله در شکل‌گیری ایمنی فعال در جوجه‌های جوان، که مدت‌هاست نشان داده شده است، تأثیر ممانعت‌کننده پادتن‌های مادری است. این تأثیر، بسته به نوع واکسن دریافت‌شده در مادران (زنده یا غیرفعال شده) می تواند از (۳-۱ هفته) تا (۵-۴ هفته) در جوجه‌های آنها حضور داشته باشد (۴،۱۶). واکسیناسیون در یکروزگی و تزریق واکسن بیماری بورس عفونی به همراه واکسن بیماری مارک مطرح گردیده است (۷،۱۵).

پیشنهاد شده است که تزریق واکسن‌های فاقد حدت بیماری بورس عفونی می تواند در جوجه‌های دارای ایمنی مادری انجام شود. برخی از ویروس‌های واکسن می‌توانند در تیموس، طحال و بورس کلوآکی، مکانی که برای دو هفته باقی می‌مانند، تکثیر شوند (۱۸). در این صورت پس از کاتابولیزه شدن پادتن‌های مادری، پاسخ پادتن اولیه به واکسن آغاز می‌شود. در عین حال نشان داده شده است که اگر چه مرغان بالغ در برابر ورود ویروس از طریق خوراکی مقاوم هستند اما چنانچه ویروس را از طریق تزریق زیر جلدی و یا عضلانی به بدن آنها وارد کنند پادتن تولید می نمایند (۱۲) مجموعهٔ این عوامل ممکن است در بین روش‌های واکسیناسیون با واکسن زنده بیماری بورس عفونی، برای روش تزریق مزیتی پیشنهاد کنند و ارتباط بین روش واکسیناسیون و تأثیر حاصل از آن را مطرح نمایند. بدلیل آن که فهم این ارتباط در مورد بیماری بورس عفونی از اهمیت بسیار برخوردار است در مطالعه حاضر سعی گردید، در قالب یک تحقیق تجربی بدان پرداخته شود.

مواد و روش کار

طرح آزمایش: تعداد ۲۴۵ قطعه جوجه یک روزه از سویه راس ۳۰۸ از گله‌ی مادر ۳۲ هفته مورد استفاده قرار گرفت. این جوجه‌ها که فاقد مایکوپلاسما و سالمونلاهای قابل انتقال از مادر به نتاج بودند، به صورت تصادفی به ۷ گروه ۳۵ قطعه‌ای تقسیم گردیدند. تمام گروه‌ها به جزء گروه ۷، در زیر یک سقف و تحت شرایط یکسان اما در محدوده‌های جداگانه مستقر شدند. گروه ۷ به منظور مصون ماندن از احتمال انتشار ویروس واکسن از گروههای واکسینه شده به آن، در اتاق جداگانه ولی در شرایط پرورش کاملا مشابه با سایر گروهها، تحت عنوان گروه "کنترل بیرون" جای داده شد. در روز اول پرورش از ۲۰ قطعه جوجه به صورت تصادفی خونگیری به عمل آمد و سرم‌ها پس از جداسازی و انتقال به میکروتیوب در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. بدلیل عیار بالای پادتن مادری و تصمیم به واکسیناسیون تک نوبتی پس از استفاده از فرمول دونتر، ۲۱ روزگی برای انجام واکسیناسیون بر ضد بیماری بورس عفونی مناسب تشخیص داده شد. در روزهای ۴۲،۲۷،۲۰ تعداد سه قطعه جوجه از تمامی گروهها توزین و سپس کشتار گردیدند و بعد از آن وزن بورس فابرسیوس با ترازوی با دقت یک هزارم گرم اندازه گیری گردید تا درادامه شاخص نسبت وزن بورس فابرسیوس به وزن بدن محاسبه شود. در روزهای ۴۲، ۳۵، ۲۷، ۲۰ از هر گروه به طور تصادفی ۲۰ قطعه جوجه انتخاب و از آن ها خونگیری به عمل آمد. سرم ها پس از جداسازی و انتقال به میکروتیوب، در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. آزمون الیزا بر روی کلیه نمونه های سرمی با کیت تجاری شرکت IDEXX صورت گرفت. در روز ۲۱، واکسیناسیون علیه بیماری گامبورو با یک واکسن با حدت متوسط درمورد تمامی گروهها به جز گروههای کنترل ۶ و ۷ انجام شد. واکسیناسیون در گروه ۱ به روش تزریق در عضله سینه، در گروه ۲ به روش تزریق زیر جلد گردن، در گروه ۳ به روش آشامیدنی، در گروه ۴ به روش قطره چشمی، و در گروه ۵ به روش اسپری اعمال گردید. از تمامی گروه‌ها به فاصله هر ۵ روز، وزن گیری به عمل آمده و میانگین وزن تعیین گردید.

واکسن‌های مورد استفاده در طول دوره آزمایش: در این مطالعه واکسن H120 برای ایمن سازی جوجه ها در برابر برونشیت عفونی در تمامی گروهها در روز اول پرورش اسپری گردید.

واکسن Clone 30: این واکسن برای ایمن سازی جوجه ها در برابر بیماری نیوکاسل در تمامی گروه ها در روزهای ۱۵ و ۷ پرورش به روش قطره چشمی استفاده گردید.

واکسن Gumbo-L: این واکسن، واکسنی است با حدت متوسط که برای مطالعه تاثیر روش واکسیناسیون بر ضد بیماری بورس عفونی، بر تولید پادتن های محافظت کننده، در تمامی گروه‌ها به استثنای گروه‌های کنترل داخل و خارج در ۲۱ روزگی و به روش های مختلف گفته شده، مورد استفاده قرار گرفت.

www.SID.ir

Archive of SID

خوراک مورد استفاده: برای تمامی گروه‌ها از روز ۱-۸ از پیشدان سوپر و از روز ۲۲-۸ از پیشدان و از روز ۲۲-۳۳ از میان دان و از ۳۳ روزگی تا پایان دوره یعنی ۴۲ روزگی از پس دان یک کارخانه تهیه خوراک طیور و مطابق توصیه آن استفاده شد. سعی گردید تمامی ارکان پرورش مانند روشنایی، دما، تهویه، سطح دانخوری و آبخوری و غیره مطابق توصیه دفترچه راهنمای راس ۳۰۸ بوده و برای تمامی گروه‌ها یکسان باشد.

نتایج

یک نوبت واکسیناسیون علیه بیماری بورس عفونی به تمامی روش ها توانست به ظهور پادتن‌های اختصاصی در سرم جوجه‌ها بیانجامد. بالاترین متوسط عیار پادتن ضد ویروس بیماری بورس عفونی، در ۳۵ و ۴۲ روزگی به گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی تعلق داشت، این تفاوت در ۳۵ روزگی با تمامی گروه‌ها و در ۴۲ روزگی تنها با گروه‌های کنترل معنی دار بود ($p>0/05$). در ۴۲ روزگی در بین گروه‌های واکسینه بیشترین تفاوت درمتوسط عیار پادتن، بین گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی با گروه دریافت کننده واکسن به روش آشامیدنی مشاهده شد. (جدول ۱) درگروه‌های واکسینه کمترین درصد پراکندگی ازمیانگین عیار، در ۴۲ روزگی به گروه دریافت کننده واکسن به روش آشامیدنی تعلق داشت. (جدول ۲) در گروه‌های واکسینه بالاترین بیشینه عیار پادتن، در آخرین نوبت عیارسنجی به گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی وکمترین آن به گروه دریافت کننده واکسن به روش قطره چشمی مربوط بود. (جدول ۳) در این روز بالاترین کمینه عیار پادتن به گروه دریافت کننده واکسن به روش آشامیدنی وکمترین آن به گروه دریافت کننده واکسن به روش اسپری تعلق داشت. (جدول ۴) بالاترین بیشینه گروه عیار نیز در این روز به گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی تعلق داشت (جدول ۵). درکسب بالاترین کمینه گروه عیارپادتن در ۴۲ روزگی گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی با گروه‌های ۳ و ۴ مشابه بود. (جدول ۶) بالاترین نسبت وزن بورس به وزن بدن در آخرین روز مطالعه، درگروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی مشاهده شد و حدود سه برابر بیش از این نسبت درگروه دریافت کننده واکسن به روش آشامیدنی بود. (جدول ۷) نسبت وزن بورس به وزن بدن در ۴۲ روزگی (آخرین روز مطالعه) برای گروه دریافت‌کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی با گروه کنترل بیرون، که کاملاً از تأثیرات واکسن محفوظ مانده بود برابری نشان داد. بالاترین میانگین وزن جوجه ها در آخرین نوبت توزین به گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی تعلق داشت ($p>0/05$)(جدول ۸).

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد که همه روش‌های واکسیناسیون در برانگیختگی پاسخ پادتن اختصاصی IBD که با آزمون الایزا سنجیده شد، موفق بودند. بین میانگین عیار پادتن همه گروه‌های واکسینه با گروه کنترل خارج در آخرین نوبت عیار سنجی تفاوت معنی دار وجود داشت. میانگین عیار گروه کنترل خارج در محدوده منفی و عیار تمامی گروههای واکسینه در محدوده مثبت قرار داشت. این یافته که بطور معمول در سطح مزارع مشاهده می‌شود مطابقت ندارد. دلیل اصلی که ما برای این تفاوت پیشنهاد می‌کنیم، اختلاف در سن واکسیناسیون در این مطالعه (۲۱ روزگی) با سن معمول واکسیناسیون در سطح مزارع است که معمولاً زودتر و در حضور ایمنی مادری صورت می‌گیرد. مانند خیلی از بیماریهای دیگر، در بیماری گامبورو نیز پادتن‌های مادری قادر هستند در تحریک پاسخ ایمنی فعال توسط واکسن‌ها مداخله کنند (۷،۱۰). بدین ترتیب به نظر می‌رسد چنانچه شرایط امنیت زیستی یک مزرعه اجازه تاخیر در اولین نوبت واکسیناسیون تا حذف کامل تاثیرات بازدارندگی پادتن‌های مادری را بدهند، واکسیناسیون با یک واکسن با حدت متوسط، به تمامی روش ها می‌تواند موجب تحریک پاسخ پادتن و ظهور ایمنی فعال گردد.

در مطالعه حاضر در بیشتر گروهها (به جز گروه‌های ۳،۵) سیر نزولی عیار پادتن مادری تا اواخر هفته چهارم ادامه یافت و تنها پس از آن بود که روند صعودی عیارها و ظهور ایمنی فعال مشاهده گردید. در گروه‌های ۳ و ۵ نیز افزایش عیار مشاهده شده در ۲۷ روزگی نسبت به ۲۰ روزگی قابل توجه نبود و نتوانست مقادیر عیارها را به محدوده مثبت وارد کند. این یافته از چند جهت حائز اهمیت است. اولاً ممکن است زمان ۱۰-۷ روزه‌ای که بطور معمول برای ارزیابی عملکرد واکسن و ظهور عیارهای حاصل از آن کافی دانسته می‌شود، صحیح نباشد. تاخیر در ظهور پاسخ پادتن که در مطالعه حاضر مشاهده گردید با نتایج منتشر شده از مطالعه Kelemen و همکاران در سال ۲۰۰۰ و Sadrzadeh و همکاران در سال ۲۰۰۵ حتی در مورد تزریق واکسن در یک روزگی (واکسن IBDV-IC) مطابقت دارد. ثانیاً در مطالعه حاضر نشان داده شد که مصرف واکسن بر خلاف آنچه بعضاً ممکن است تصور شود، تاثیری بر سرعت افول پادتن‌های مادری ندارد این یافته با مشاهدات Knoblich و همکاران در سال ۲۰۰۰ در مورد واکسیناسیون در یک روزگی مطابقت داشت.

چنانچه محدوده‌ی عیار محافظت کننده‌ی پادتن که با آزمون الایزا (کیت آیدکس) سنجیده می‌شود و به طور متداول ۲۵۰۰ تعیین می‌گردد، مورد پذیرش قرار گیرد، مطالعه حاضر نشان داد که تنها روش تزریق واکسن (اعم از عضلانی یا زیر جلدی) برای یک نوبت واکسیناسیون با واکسن دارای حدت متوسط، قادر است در ۴۲ روزگی به این سطح عیار دست یابد. اگر چه در این روز میانگین عیار پادتن در بین گروههای واکسینه، تفاوت آماری معنی داری نشان نداد ($p>0/05$) اما میانگین عیار پادتن در گروه دریافت کننده واکسن بروش تزریق زیر جلد گردن (روش غیر متداول) تقریباً دو برابر بیش از میانگین عیار پادتن در گروه دریافت کننده واکسن به روش آشامیدنی (متداولترین روش) بود. در عین حال بالاترین بیشینه عیار (حدود ۲/۵ برابر روش آشامیدنی) و بالاترین کمینه

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱ـ متوسط عیار پادتن با آزمون الایزا در سیستم IDEXX در ۷ گروه تحت آزمایش. گروه ۱: تزریق واکسن در عضله سینه، گروه ۲: تزریق واکسن در زیر جلد گردن، گروه ۳: آشامیدنی، گروه ۴: قطره چشمی، ۵: اسپری، گروه ۶: کنترل داخل، گروه ۷: کنترل خارج. حروف لاتین کوچک غیرمشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت آماری معنی داری می باشد.

گروه	(روز) سن				
	۱	۲۰	۲۷	۳۵	۴۲
۱	۷۹۵۲^{a}	۷۸^{a}	۵۶^{a}	۱۴۳^{a}	۳۰۰۴^{a}
۲	۷۹۵۲^{a}	۷۸^{a}	۷۰^{a}	۱۳۴^{b}	۳۰۷۰^{a}
۳	۷۹۵۲^{a}	۷۸^{a}	۳۳۵^{a}	۹۲۹^{a}	۱۷۸۱^{ab}
۴	۷۹۵۲^{a}	۷۸^{a}	۳۰^{b}	۶۸۱^{a}	۲۰۷۹^{ab}
۵	۷۹۵۲^{a}	۷۸^{a}	۱۶۸^{a}	۲۴۱^{a}	۲۰۹۲^{ab}
۶	۷۹۵۲^{a}	۷۸^{a}	۴۳^{b}	۲۳۳^{a}	۱۳۰۳^{b}
۷	۷۹۵۲^{a}	۷۸^{a}	۴۳^{b}	۷۲^{a}	۲۹۵^{c}

جدول ۳ ـ بیشینه عیار پادتن ضد IBD با آزمون الایزا در سیستم IDEXX در ۷ گروه تحت آزمایش. گروه ۱: تزریق واکسن در عضله سینه، گروه ۲ تزریق واکسن در زیر جلد گردن، گروه ۳: آشامیدنی، گروه ۴ : قطره چشمی، ۵: اسپری، گروه ۶: کنترل داخل، گروه ۷: کنترل خارج.

گروه	(روز) سن				
	۱	۲۰	۲۷	۳۵	۴۲
۱	۱۱۲۰۴	۴۶۶	۱۵۸	۱۱۰۴	۵۵۸۲
۲	۱۱۲۰۴	۴۶۶	۹۷۸	۵۰۰۷	۸۶۹۹
۳	۱۱۲۰۴	۴۶۶	۳۱۹۸	۳۳۱۴	۳۸۹۴
۴	۱۱۲۰۴	۴۶۶	۱۰۹	۲۳۸۸	۴۵۱۱
۵	۱۱۲۰۴	۴۶۶	۴۰۵	۱۸۴۰	۴۱۷۷
۶	۱۱۲۰۴	۴۶۶	۱۱۴	۲۲۵۶	۲۰۶۷
۷	۱۱۲۰۴	۴۶۶	۱۲۴	۲۷۵	۱۲۵۳

عیار (حدود ۱/۵ برابر روش آشامیدنی) به گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیر جلد گردن تعلق داشت. پراکندگی عیارها از میانگین برای تمامی گروه‌های واکسینه، در محدوده‌ی قابل قبول برای یک نوبت واکسیناسیون قرار داشت. برای ارزیابی عملکرد یک نوبت واکسیناسیون علیه بیماری گامبورو، مثبت شدن تمامی نمونه‌های آزمایش شده دارای ارزشی بیش از درصد پراکندگی است (۵). بدین ترتیب از آنجا که در گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیر جلدی، کمینه‌ی عیار بدست آمده در آخرین نوبت نمونه‌گیری، ۵۷۶ (در محدوده‌ی مثبت) بود، بیشتر بودن درصد پراکندگی عیارها در این گروه را نسبت به گروه‌های دیگر، نمی‌بایست بعنوان نقطه ضعفی برای آن تلقی نمود.

تفاوت شاخص نسبت وزن بورس به وزن بدن، بین گروه‌های واکسینه با گروه کنترل خارج، به نفع این گروه، (بخصوص در سنجش انجام شده در یک هفته پس از واکسیناسیون) آشکار کننده این واقعیت بود که

جدول ۲ ـ درصد پراکندگی عیارپادتن با آزمون الایزادرسیستم IDEXX در ۷ گروه تحت مطالعه. گروه ۱: تزریق واکسن در عضله سینه، گروه ۲: تزریق واکسن در زیر جلد گردن، گروه ۳: آشامیدنی، گروه ۴: قطره چشمی، ۵: اسپری، گروه ۶: کنترل داخل، گروه ۷: کنترل خارج.

گروه	سن روز				
	۱	۲۰	۲۷	۳۵	۴۲
۱	۱۷/۷	۱۷۷/۶	۷۵/۵	۱۸۱/۵	۵۷/۵
۲	۱۷/۷	۱۷۷/۶	۳۰۳/۹	۱۱۲/۷	۶۶/۴
۳	۱۷/۷	۱۷۷/۶	۲۲۱/۷	۸۸/۴	۵۳/۶
۴	۱۷/۷	۱۷۷/۶	۱۰۷/۴	۹۹/۸	۴۳
۵	۱۷/۷	۱۷۷/۶	۴۲/۲	۱۷۶/۹	۴۷/۳
۶	۱۷/۷	۱۷۷/۶	۶۷	۲۸۹/۷	۳۴
۷	۱۷/۷	۱۷۷/۶	۷۰	۹۹/۴	۱۱۰/۵

جدول ۴ ـ کمینه عیار پادتن ضد IBD با آزمون الایزا در سیستم IDEXX در 7 گروه تحت آزمایش. گروه ۱: تزریق واکسن در عضله سینه، گروه ۲ : تزریق واکسن در زیر جلد گردن، گروه ۳: آشامیدنی، گروه ۴: قطره چشمی، ۵: اسپری، گروه ۶: کنترل داخل، گروه ۷: کنترل خارج.

گروه	(روز) سن				
	۱	۲۰	۲۷	۳۵	۴۲
۱	۴۹۴۶	۱	۶	۱	۲۸۸
۲	۴۹۴۶	۱	۱	۴۶	۵۷۶
۳	۴۹۴۶	۱	۱	۹۵	۴۲۷
۴	۴۹۴۶	۱	۱	۱۷	۷۰۰
۵	۴۹۴۶	۱	۳۹	۱	۱۴۰
۶	۱	۵	۱	۴۹۴۶	۳۵۳
۷	۴۹۴۶	۱	۶	۱۲	۱

واکسن‌های گامبورو، حتی انواع برخوردار از حدت متوسط، قادر هستند در واکسیناسیون در سن ۲۱ روزگی نیز بر وزن بورس تاثیر منفی بگذارند. Amerو همکاران در سال ۲۰۰۷ تأثیر منفی واکسن‌های زنده‌ی بیماری بورس عفونی را بر نسبت وزن بورس فابرسیوس به وزن بدن نشان دادند. Rautenshlein و همکاران در سال ۲۰۰۵ وجود جراحات آسیب شناسی در بورس را بدنبال مصرف واکسن با حدت متوسط (با حدتی مشابه با واکسن به کاررفته در مطالعه‌ی ما) گزارش کردند. مطالعات Haddadو همکاران در سال ۱۹۹۷ Jeuerissen و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Avakianو همکاران در سال ۲۰۰۱ از نتیجه مشابه واکسیناسیون با واکسن کمپلکس ایمنی چه بطریق تزریق داخل جنینی و چه بطریق تزریق زیر جلدی در یکروزگی حکایت می‌کند . شروع تکثیر سریع و شدید ویروس با حدت بعلاوه متوسط (Intermediat plus) موجود در واکسن، متعاقب افول پادتن‌های مادری در مطالعه Avakianو همکاران در سال ۲۰۰۱ مشاهده شده است.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۵ـ بیشینه گروه عیار پادتن ضد IBD با آزمون الایزا در سیستم IDEXXدر ۷ گروه تحت آزمایش. گروه ۱: تزریق واکسن در عضله سینه، گروه ۲: تزریق واکسن در زیر جلد گردن، گروه ۳: آشامیدنی، گروه ۴: قطره چشمی، ۵: اسپری، گروه ۶: کنترل داخل، گروه ۷: کنترل خارج.

گروه	(روز) سن				
	۱	۲۰	۲۷	۳۵	۴۲
۱	۹	۱	۰	۲	۶
۲	۹	۱	۱	۶	۸
۳	۹	۱	۴	۴	۴
۴	۹	۱	۰	۳	۵
۵	۹	۱	۱	۲	۵
۶	۹	۱	۱	۳	۳
۷	۹	۱	۰	۰	۲

جدول ۷ـ متوسط نسبت وزن بورس به وزن بدن در نمونه‌های هر یک از ۷ گروه آزمایش. گروه ۱: تزریق واکسن در عضله سینه، گروه ۲: تزریق واکسن در زیر جلد گردن، گروه ۳: آشامیدنی، گروه ۴: قطره چشمی، ۵: اسپری، گروه ۶: کنترل داخل، گروه ۷: کنترل خارج.

گروه	(روز) سن		
	۲۰	۲۷	۴۲
۱	۳/۱	۰/۸	۱/۹
۲	۳/۱	۰/۷	۲/۹
۳	۳/۱	۰/۷	۱
۴	۳/۱	۰/۶	۱
۵	۳/۱	۰/۶	۲/۶
۶	۳/۱	۱/۱	۱/۵
۷	۳/۱	۱/۱	۲/۹

چنین اتفاقی را می توان در مورد هر واکسن زنده بیماری گامبورو هنگامی که تاثیر خنثی کنندگی پادتن‌های مادری حذف شده باشد (مشابه مطالعه‌ی ما) احتمالاً با شدت‌های متفاوت انتظار داشت. آنها بدنبال کاهش پادتن‌های مادری از ۲۱ روزگی کاهش نسبت وزن بورس به وزن بدن را در گروه واکسینه شده با واکسن کمپلکس ایمنی در دوران جنینی مشاهده نمودند که با ضایعات شدید بورس و آتروفی آن در ۳۸ روزگی ادامه یافت. در مطالعه‌ی ایشان محافظت در برابر ویروس خیلی حاد چالش، پیش از آنکه پادتن‌های القاء شده توسط واکسن قابل اندازه گیری باشد، مشاهده شد. آنها آلوده شدن سلول‌های لمفوئیدی بورس توسط ویروس واکسن و رقابت آن با ویروس حاد را دلیل احتمالی این مقاومت دانستند.

مشابه این نتایج در جوجه‌های گوشتی که ضایعات ناشی از واکسن مانع از گسترش ضایعات توسط ویروس چالش شده، مشاهده گردیده است. (۲۴) مجموعه این یافته ها نشان دهنده این واقعیت است که

جدول ۶ـ کمینه گروه عیار پادتن ضد IBD با آزمون الایزا در سیستم IDEXXدر ۷ گروه تحت آزمایش. گروه ۱: تزریق واکسن در عضله سینه، گروه ۲: تزریق واکسن در زیر جلد گردن، گروه ۳: آشامیدنی، گروه ۴: قطره چشمی، ۵: اسپری، گروه ۶: کنترل داخل، گروه ۷: کنترل خارج.

گروه	(روز) سن				
	۱	۲۰	۲۷	۳۵	۴۲
۱	۵	۰	۰	۰	۰
۲	۵	۰	۰	۰	۱
۳	۵	۰	۰	۰	۱
۴	۵	۰	۰	۰	۱
۵	۵	۰	۰	۰	۰
۶	۵	۰	۰	۰	۰
۷	۵	۰	۰	۰	۰

جدول ۸ـ میانگین وزن جوجه‌های گروه‌های مختلف در روزهای متفاوت. گروه ۱:تزریق واکسن در عضله سینه، گروه ۲:تزریق واکسن در زیر جلد گردن، گروه ۳:آشامیدنی، گروه۴:قطره چشمی، ۵:اسپری، گروه ۶:کنترل داخل، گروه ۷:کنترل خارج.

سن	گروه						
	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷
۱	۳۸	۴۰	۳۸	۴۰	۴۰	-	-
۵	۱۰۲/۴	۱۰۸	۹۷	۹۵	۱۰۳	-	-
۱۰	۸/۲۴۸	۲۶۹	۲۶۰	۲۷۱	۲۵۹	-	-
۱۵	۳۹۳	۳۹۳	۳۷۰	۳۹۶	۳۶۵	-	-
۲۰	۸۸۸/۸	۸۹۶/۲	۸۹۷	۸۸۲	۸۸۳	۸۶۴	۸۷۳
۲۵	۱۰۰۴	۱۰۲۹	۱۱۰۳	۱۰۴۷	۱۱۲۲	۱۰۶۲	۱۰۴۷
۳۰	۱۲۹۵	۱۴۴۱	۱۴۷۶	۱۵۳۱	۱۴۴۳	۱۴۶۷	۱۴۶۴
۳۵	۱۹۱۸	۲۱۰۹	۲۰۹۷	۲۰۳۱	۱۹۵۸	۲۰۹۶	۲۱۰۰
۴۰	۲۳۲۲	۲۶۵۷	۲۴۵۲	۲۶۴۵	۲۴۷۷/۵	۲۶۳۰	۲۶۳۷

تشکیل ضایعات در بورس و وارد شدن خسارت به آن را می توان یکی از مراحل شکل گیری ایمنی در برابر ویروس حاد بیماری گامبورو دانست. صحت این مسئله زمانی بیشتر ارزش دارد که خسارت وارده موقتی بوده و بسرعت با بازآرایی ساختارهای لمفوئیدی بورس و ترمیم آن ادامه یابد. در مطالعه‌ی ما، شاخص نسبت وزن بورس به وزن بدن در آخرین روز مطالعه (۲ هفته پس از نقصان آن و ۳ هفته پس از واکسیناسیون) در تمامی گروه‌ها افزایش نشان داد. این افزایش برای گروه دریافت کننده‌ی واکسن به روش تزریق زیر جلدی بیش از بقیه‌ی گروهها بود، به گونه ای که افزایشی تا ۴ برابر، نسبت به دو هفته قبل نشان داد. این امر را می توان حاکی از ترمیم سریع بورس در همه گروههای واکسینه و بویژه در گروه مزبور دانست و البته برای واکسیناسیون به روش تزریق زیر جلدی، از این منظر نیز مزیت قائل شد. Rautenschleinو همکاران در سال ۲۰۰۵ بهبود سریعتر بورس از

www.SID.ir

Archive of SID

جراحات ناشی از واکسن را بدنبال مصرف واکسن حاوی سویه با حدت متوسط (مشابه با مطالعه ما) در جوجه‌های SPF به روش داخل جنینی، نسبت به مصرف همین واکسن در ۱۴ روزگی مشاهده نمودند. آنها بهبود سریع تر بورس در گروه واکسینه شده در دوران جنینی را به عملکرد ضعیف تر سلول های T در این جوجه ها مربوط دانستند. در جوجه هایی که پس از تفریخ واکسینه می‌شوند جمعیت بیشتری از سلول های (+CD8) T (+CD4) در بورس وجود دارد. جمعیت سلول های T داخل بورس ممکن است با ترمیم فولیکولهای تخلیه شده بورس مداخله کنند (۲۳). در مطالعه ما روش تزریق زیر جلدی کمترین مداخله را در سرعت ترمیم بورس نشان داد و واکسیناسیون به روش اسپری، از این نظر، در مرتبه‌ی بعدی قرار داشت. در عین حال کمترین میزان ترمیم و باز آرایی حجم بورس (اگر نسبت وزن بورس به وزن بدن را شاخصی برای ترمیم بدانیم) در گروه دریافت کننده واکسن به روش آشامیدنی، که معمول ترین روش دریافت واکسن بیماری گامبورو است، تعلق داشت. این میزان حدود یک سوم نسبت وزن بورس به وزن بدن در گروه دریافت کننده واکسن بروش تزریق زیر جلدی بود.

شاید بتوان میانگین وزن استحصالی در انتهای یک دوره پرورش جوجه‌های گوشتی را، مهمترین شاخص نشان دهنده‌ی عملکرد آنها دانست. مطالعه‌ی ما، برتری واکسیناسیون بروش تزریق زیر جلدی را، در دستیابی به این شاخص نشان داد. بالاترین میانگین وزن در ۵ و ۶ هفتگی (دو نوبت آخر توزین) در بین تمامی گروه‌ها، به گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریقی زیر جلدی تعلق داشت.

پیش بینی دو گروه کنترل داخل و خارج در مطالعه‌ی حاضر، نشان دهنده انتشار ویروس موجود در یک واکسن با حدت متوسط، از گروه‌های دریافت کننده آن به گروه کنترل داخل بود. در حالی که میانگین عیار پادتن در گروه کنترل خارج در هیچ یک از نوبت‌های عیار سنجی، وارد محدوده‌ی مثبت نشد، در گروه کنترل داخل، بدون دریافت واکسن، میانگین عیارها همزمان با گروههای واکسینه رو به افزایش نهاد و در آخرین نوبت عیار سنجی با سه گروه واکسینه، فاقد تفاوت معنی دار بود. تنها گروه‌هایی که با گروه کنترل داخل در این نوبت تفاوت معنی دار نشان دادند گروههای دریافت کننده‌ی واکسن به روش تزریق (عضلانی -زیر جلدی) بودند. میانگین عیار پادتن در گروه کنترل خارج در آخرین نوبت عیار سنجی هم به محدوده‌ی مثبت وارد نشد و تفاوت آن با تمامی گروه‌های واکسینه معنی دار بود.

آنچه که به عنوان نتیجه گیری نهائی می توان ذکر نمود این است که در مطالعه‌ی حاضر واکسیناسیون به روش تزریق زیر جلدی، تنها یک نوبت و در زمانی که میانگین عیار پادتن مادری در جوجه‌های گوشتی به محدوده‌ی منفی وارد شد توانست بیش از سایر روش های آزمایش شده در برانگیختگی پاسخ پادتن، مقادیر کمینه و بیشینه عیار، نسبت وزن بورس به وزن بدن، میانگین وزن استحصالی در پایان مطالعه موفقیت کسب کند. تنها روش هایی که در این مطالعه توانستند با تنها یک نوبت واکسیناسیون به میزان میانگین عیاری که در اصطلاح درمانگاهی محافظت کننده خوانده می‌شود دست یابند روش های تزریقی (اعم از عضلانی یا زیر جلدی) بودند.

References

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. Vet. Med. J. 5th Scientific Conference. p. 23-33.
2. Avakian, A. P., Whitfill, C. E., Haddad, E. E., Chettl, N. J. (2001) The characteristic of IBDV-ICX vaccines and their application in broilers with maternal immunity. 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.
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 Vet. J. 23(4).
4. Baxendale,w., Lutticken. D.(1981). The Results of field trials with an inactivated Gumboro vaccine. Dev. Biol. Stand. 51: 211-219.
5. Biochek Mannual (2010) Interpretation and application of Biochek results. Reeuwijk, The Netherland.
6. Briggs, D. J., Whitfill, C. E., Skeeles, J. K., Stray, J. D., Reed, K. D. (1986) Application of the positive/ negative ratio method of analysis to quantitate antibody responses to infectious bursal disease virus using a commercially available ELISA. Avian Dis. 30:216-218.
7. Eterradossi, N., Saif, Y. M. (2008) Infectious bursal disease. In: Diseases of Poultry. (12th ed.). Saif, Y. M. (ed.) Iowa State University Press, Ames, USA. p. 185-209.
8. Ghaniei, A., Peighambari, S.M., Razmyar, J. (2011) Identification of very virulent infectious bursal diseases

www.SID.ir

viruses by RT-PCR of VP1 gene and speculation about the possible presence of reassortant viruses. J.Vet. Res. 66: 153-159.

9. Giambrone, J. J., Clay, R. P. (1986) Evaluation of the immuogenicity, stability, pathogenicity, and immunodepressive potential of four commercial live IBD Vaccines. Poult. Sci. 65:1287-1290.
10. Gray, D., Miles, R. D. (2000) IBD in commercial broilers. Cooperative extension service. University of Florida. Florida, USA.
11. Haddad, E. C., Whitifill, A., Avakian, C., Ricks, P., Andrews, J., Thomas, P., Wakenall, F. (1997) Efficacy of a novel infectious bursal disease virus immune-complex vaccine in broiler chickens. Avian Dis. 41:882-889.
12. Hitchner, S.B.(1979).Immunization of adult hens against infections bursal disease Virus. Avian Dis. 20:611-613.
13. Jackwood, D. H., Saif, Y. M. (1987). Antigenic diversity of infectious bursal disease viruses. Avian Dis. 31: 766-770.
14. Jeurissen, S. H., Jane, E. M., Lehrbach, P. R., Haddad, E. E., Avakian, A., Whitfill, E. C. (1998) The working mechanism of an immune-complex vaccine that protects chicken against infectious bursal disease. Immunol. 95:494-500.
15. Knoblich, H. V, Sommer S. E., Jackwood, D. J. (2000) Antibody titers to IBD virus in broiler chicks after vaccination at one day of age with IBD virus and Marek's disease virus. Avian Dis. 44:874-884.
16. 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 Dis. 23:466-478.
17. Lukert, P.D., Mazariegos, L.A. (1985).Virulence and immunosuppressive potential of intermediate Vaccine strains of infections bursal disease Virus [abst]. J. Am. Vet. Med. Assoc. 187:306.
18. Lukert, P.D., Rifuliadi, D. (1982). Replication of virulent and attenuated infectious bursal disease virus in maternally immune day-old chickens. J. Am. Vet. Med. Assoc. 181:284.
19. Mallinson, E. T., Snyder, D. B., Marquardt, W. W., Russek-Cohen, E., Savage, P. K., Allen, D. C., Yancy, F. C. (1985) Presumptive diagnosis of subclinical infection utilizing computer-assisted analysis of sequential enzyme-linked immunosorbent assays against multiple antigens. Poult. Sci. 64:1661-1669.
20. Marquadrt, W., Johnson, R. B., Odenwald, W. F., Schlotthober. B. A. (1980) An indirect enzyme-linked immunosorbent essay (ELISA) for measuring antibodies in chickens infected with infectious bursal disease virus. Avian Dis. 24:375-385.
21. Mazariegos, L. A, Lukert, P. D., Brown, J. (1990) Pathogenicity and immunosuppressive properties of IBD "intermediate" strains. Avian Dis. 34:203-208.
22. Mekkes, D. R., de Wit, J. J. (2002) Report of the second international ring trail for infectious bursal disease virus (IBDV) antibody detection in serum. Annual report and proceedings 2002 of COST action 839: Immunosuppessive viral disease in poultry, 210-226.
23. Muskett, J. C., Hopkins, I. G. (1979) Comparison of two IBD vaccine strains: efficacy and potential hazards in susceptible and maternally immune birds. Vet. Rec. 104:332-334.
24. Rautenschlein, S., Haase, Ch. (2005) Differences in the immunopathogenesis of IBD virus following in ovo and post - hatch vaccination of chickens. Vet. Immunol. Immunopathol. 106:139-150.
25. Rautenschlein, S., Kraemer, C., Montiel, E., Vanmarcke, J., Haase, C. (2007) Bilateral effects of vaccination against infectious bursal disease and Newcastle disease in Specific-Pathogen-Free layers and commercial broiler chickens. Avian Dis. 51: 14-20.
26. Sadrzadeh, A., Peighambari, S.M., Shojadoost, B. (2005). Immunogenicity of an IBD-immune complex vaccine in broiler chickens. Proceeding of world's Poultry congress. Istanbul, Turkey. p. 151.
27. Snyder, D. B.,.Marqudrate, W. W., Malinson, E. T, Russek-Cohen, E., Savage, P. K., Allen, D. C. (1986) Rapid serological profiling by enzyme-linked immunosorbent assay. IV. Association of infectious bursal disease serology with broiler flock performance.

www.SID.ir

Archive of SID

Avian Dis. 30:139-148.

28. Solano, W., Giamborne, J. J., Panagala, V. S. (1985) Comparison of a kinetic-based enzyme-linked immunosorbent essay (KELISA) and virus-neutralization test for infectious bursal disease virus. I. Quantitation of antibody in white leghorn hens. Avian Dis. 29:662-671.
29. Thayer, S. G., Villegas, P., Fletcher, O. J. (1987) Comparison of two commercial enzyme-linked immunosorbent assays and conventional methods for avian serology. Avian Dis.31:120-124.

www.SID.ir

Archive of SID
J. Vet. Res. 66, 4:355-362, 2011

THE IMPACT OF THE ROUTES OF LIVE VACCINE ADMINISTRATION AGAINST INFECTIOUS BURSAL DISEASE ON MOUNTING ANTIBODY RESPONSE IN BROILER CHICKENS

Sadrzadeh, A.[1*], Ghafurzadeh, R.[1], Peighambari, S. M.[2], Musavi, S.A.[1]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University-Garmsar Branch, Garmsar, Iran.*

[2]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.*

(Received 16 September 2011 , Accepted 11 April 2011)

Abstract:

Infectious bursal disease (IBD) is one of the most important viral poultry diseases. To prevent the disease it is required that there be maternal and active immunity prior to and after three weeks of age. Live vaccines are usually used to immunize the broiler flocks. In addition to the type of vaccine, the route of vaccination, also, has effects on mounting an immune response. In this study, we administered a single dose vaccination of an intermediate IBD vaccine strain at 21 days of age via five routes including subcutaneous (SC), intramuscular (IM), drinking water, eye drop, and course spray. The impact of the vaccination route on mounting antibody response was evaluated by a commercial ELISA kit (IDEXX). Antibody response was mounted by all routes. The highest antibody titer in the last two sampling turns belonged to birds in the group vaccinated by the SC route, but this difference was not statistically significant ($p>0.05$) when compared to those of other vaccinated groups. In addition to the highest antibody titer, the highest bursal/body weight ratio and body weight were observed in birds of the SC-vaccinated group. It was found that the groups vaccinated by injection, SC or IM, were the only groups that achieved to a protective level of antibody titer in the last turn of sampling. It was concluded that a single dose injection of an intermediate IBD vaccine, via SC route, is able to induce higher antibody response, and improve bursal health and performance of chickens as compared with those vaccinated via drinking water.

Key words: infectious bursal disease, broiler, vaccination, subcutaneous injection.

***Corresponding author's email: avesta.sadr@gmail.com, Tel: 021-61117032, Fax: 021-66438328**

www.SID.ir