

مطالعه تاثیر روش دریافت واکسن زنده بیماری بارس عفونی بر برانگیختگی پاسخ پادتن در جوجه های گوشتی

اوستا صدرزاده^{۱*} رضا غفورزاده^۱ سید مصطفی پیغمبری^۲ سید عباس موسوی^۱

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

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

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

چکیده

بیماری بارس عفونی یکی از مهمترین بیماری های ویروسی ماکیان است. برای پیشگیری از دوشکل ابتلاء قبل وبعد از ۳ هفتهگی به این بیماری، به ترتیب به ایمنی مادری و ایمنی فعال حاصل از واکسیناسیون جوجه ها نیاز است. در گله های گوشتی، واکسیناسیون با واکسن های زنده انجام می شود. علاوه بر نوع واکسن، روش واکسیناسیون هم در برانگیختگی پاسخ پادتن موثر است. در این مطالعه یک واکسن با حدت متوسط بیماری بارس عفونی، به پنج روش تزریق عضلانی، تزریق زیرجلدی، آشامیدنی، قطره چشمی و اسپری، تنها یک نوبت و در ۲۱ روزگی مورد استفاده قرار گرفت. تاثیر روش واکسیناسیون در برانگیختگی پاسخ پادتن با آزمون الایزا با کیت تجاری شرکت IDEXX ارزیابی گردید. همه روش ها در برانگیختگی پاسخ پادتن موفق بودند. بالاترین متوسط عیار پادتن در نوبت آخر عیارسنجی به گروه دریافت کننده واکسن به روش زیرجلدی تعلق داشت. اما این تفاوت در آخرین نوبت عیارسنجی با دیگر گروه های واکسینه معنی دار نبود ($p > 0.05$). این گروه همچنین به بالاترین بیشینه عیار پادتن، بالاترین نسبت وزن بارس فابریوس به وزن بدن و بالاترین میانگین وزن استحصالی دست یافت. گروه های دریافت کننده واکسن به روش تزریقی اعم از زیرجلدی یا عضلانی تنها گروه هایی بودند که توانستند در آخرین نوبت عیارسنجی به مقادیری از عیار پادتن دست یابند که در اصطلاح درمانگاهی، محافظت کننده خوانده می شود. از این مطالعه نتیجه گرفته شد که واکسیناسیون به روش تزریق زیرجلدی می تواند، در دستیابی به متوسط عیار پادتن، سلامت بارس فابریوس و عملکرد جوجه ها متعاقب تنها یک نوبت دریافت واکسن با حدت متوسط، بیش از واکسیناسیون به روش آشامیدنی که متداول ترین روش واکسیناسیون علیه بیماری بارس عفونی است موفق باشد.

واژه های کلیدی: بیماری بارس عفونی، جوجه گوشتی، واکسیناسیون، تزریق زیرجلدی.

جوجه های گوشتی، موارد متعددی از ناتوانی واکسن در برانگیختگی پاسخ پادتن در سطح مزرعه مشاهده می شود. دلایل این شکست را می توان به موارد مختلفی مربوط دانست. نوع واکسن انتخاب شده و روش استفاده از آن، مهمترین این موارد هستند.

در گله های گوشتی بدلیل عدم استفاده از واکسن های کشته بیماری بارس عفونی، تفاوت در نوع واکسن در وهله اول به تفاوت در حدت سوبه بکاررفته در آن مربوط می شود. تاثیر بازدارنده ی پادتن های مادری، ظهور ویروس های با حدت زیاد که سطوح بالاتری از پادتن برای محافظت در برابر آنها ضروری است (در سال 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 می کند، سبب شده که برای تصحیح مواردی از شکست در واکسیناسیون که به نوع واکسن انتخاب شده مربوط می شود، به واکسن های با حدت بیشتر که توانایی افزون تری در برانگیختگی پاسخ پادتن دارند و از سطوح بالاتری از ایمنی مادری عبور می کنند روی آورده شود. اما در برخی موارد، بخصوص در موارد استفاده زود هنگام، نتیجه ی عملکرد این واکسن ها، بدلیل حدت زیاد ممکن است به بروز نقص ایمنی و رخداد بیماری های دیگر، بخصوص کمپلکس های تنفسی بیانجامد. قبلاً نشان داده شده است که سوبه های

مقدمه

به دلیل نقش تعیین کننده ایمنی هومورال در محافظت از جوجه ها در برابر ویروس بیماری بارس عفونی یا گامبورو، برانگیختگی پاسخ پادتن توسط واکسن با مصونیت در برابر بیماری مرتبط دانسته می شود (۷). اگرچه آزمون VN تست طلایی برای تفسیر توان محافظت کنندگی عیار پادتن ضد ویروس بیماری بارس عفونی بحساب می آید، اما ویروسی که بعنوان اندیکاتور برای انجام آزمون VN به کار گرفته می شود، بدلیل حضور تحت تیپ های آنتی ژنیک متنوع، می تواند تفاوت های معنی داری را در نتایج آزمون ایجاد نماید (۱۳). مشاهده تفاوت های معنی دار در عیارهای آزمون VN در آزمایشگاه های مختلف غیر معمول نیست (۲۲) در حال حاضر روش الایزا متداول ترین روش سرولوژیک برای ارزیابی پادتن های ضد ویروس بیماری بارس عفونی در سطح گله های طیور است (۷). قابلیت الایزا در اندازه گیری پادتن های ضد ویروس بیماری بارس عفونی و مقایسه نتایج آن با نتایج آزمون VN توسط محققین متعددی گزارش شده است (۶، ۱۹، ۲۰، ۲۷، ۲۸، ۲۹). علی رغم تنوع نسبتاً قابل توجه در انواع واکسن های زنده مورد استفاده در مصون سازی



مواد و روش کار

طرح آزمایش: تعداد ۲۴۵ قطعه جوجه یک روزه از سویه راس ۳۰۸ از گله‌ی مادر ۳۲ هفته‌مورد استفاده قرار گرفت. این جوجه‌ها که فاقد مایکو پلاسما 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 کاملاً 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 میکرو تیوب در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. بدلیل عیار بالای پادتن مادری و تصمیم به واکسیناسیون تک نوبتی پس از استفاده از فرمول دو نتر، ۲۱ روزگی برای انجام واکسیناسیون بر ضد بیماری بورس عفونی مناسب تشخیص داده شد. در روزهای ۲۰، ۲۷، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ 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 اندازه‌گیری گردید تا در ادامه شاخص نسبت وزن بورس فابرسیوس به وزن بدن محاسبه شود. در روزهای ۴۲، ۴۹، ۲۷، ۲۰ از هر گروه به طور تصادفی ۲۰ قطعه جوجه انتخاب و از آن‌ها خونگیری به عمل آمد. سرم‌ها پس از جداسازی و انتقال به میکرو تیوب، در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. آزمون الیزاب روی کلیه نمونه‌های سرمی با کیت تجاری شرکت IDEXX صورت گرفت. در روز ۲۱، واکسیناسیون علیه بیماری گامبور با یک واکسن با حدت متوسط در مورد 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 آشمیدنی، در گروه ۴ به روش قطره چشمی، و در گروه ۵ به روش اسپری اعمال گردید. از تمامی گروه‌ها به فاصله هر ۵ روز، وزن‌گیری به عمل آمده و میانگین وزن تعیین گردید.

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

واکسن Clone 30: این واکسن برای ایمن سازی جوجه‌ها در برابر بیماری نیوکاسل در تمامی گروه‌ها 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 پادتن‌های محافظت کننده، در تمامی گروه‌ها به استثنای گروه‌های کنترل داخل و خارج در ۲۱ روزگی و به روش‌های مختلف گفته شده، مورد استفاده قرار گرفت.

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 حادث‌تر پتانسیل تاثیرات سرکوب کننده‌ی ایمنی دارند (۱، ۳، ۹، ۲۱).

مجموعه دلایل ذکر شده توجه مجدد به واکسن‌های با حدت کمتر و البته هر عاملی که بتواند بر کارایی آنها در برانگیختگی پاسخ پادتن بیافزاید را در پی داشته است، چرا که ضرورت و اهمیت دستیابی به عیارهای هر چه بیشتر پادتن، بدلیل گفته شده، هنوز به قوت خود باقی است. یکی از اصلی‌ترین عوامل موثر بر عملکرد واکسن‌های زنده، در برانگیختگی پاسخ پادتن، روش استفاده از این واکسن هاست. روش‌های آشمیدنی، قطره چشمی، اسپری، و تزریق عضلانی یا زیر جلدی متداولترین روش‌هایی هستند که می‌توان با استفاده از آنها واکسیناسیون با واکسن‌های زنده را در سطح مزرعه انجام داد. این انتظار وجود دارد که کارایی 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 فابرسیوس (بعنوان اصلی‌ترین کانون لمفاوی مسئول ایمنی هومورال) و عملکرد گله (میانگین وزن استحصالی در پایان دوره) کاملاً یکسان نباشد. روش آشمیدنی معمولترین روش استفاده از واکسن بیماری بورس عفونی است. اما اصلی‌ترین مسئله در شکل‌گیری ایمنی فعال در جوجه‌های جوان، که مدت هاست نشان داده شده است، تاثیر ممانعت‌کننده پادتن‌های مادری است. این تأثیر، بسته به نوع واکسن دریافت شده در مادران (زنده یا غیرفعال شده) می‌تواند از (۳-۱ هفته) تا (۵-۴ هفته) در جوجه‌های آنها حضور داشته باشد (۱۶، ۴). 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 می‌تواند 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 می‌نمایند (۱۲) مجموعه 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.



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 با آنچه که به‌طور 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 گامبور 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 روش‌ها 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 به‌طور 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 محافظت‌کننده‌ی پادتن که با آزمون الیزا (کی‌ت آیدکس) سنجیده می‌شود و به‌طور متداول ۲۵۰۰ تعیین می‌گردد، مورد پذیرش قرار گیرد، مطالعه حاضر نشان داد که تنها روش تزریق واکسن (اعم از عضلانی یا زیرجلدی) 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 معنی‌داری نشان نداد ($p > 0.05$) اما میانگین عیار پادتن در گروه دریافت‌کننده واکسن بر روش تزریق زیرجلد گردن (روش غیر متداول) تقریباً دو برابر بیش از میانگین عیار پادتن در گروه دریافت‌کننده واکسن به روش آشامیدنی (متداولترین روش) بود. در عین حال بالاترین بیشینه عیار (حدود ۲/۵ برابر روش آشامیدنی) و بالاترین کمینه

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 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 روش‌های، 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 روش‌ها 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 دریافت‌کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی تعلق داشت، این تفاوت در ۳۵ روزگی با تمامی گروه‌ها و در ۴۲ روزگی تنها با گروه‌های کنترل معنی‌دار بود ($p > 0.05$). در ۴۲ روزگی در بین گروه‌های واکسینه بیشترین تفاوت در متوسط عیار پادتن، بین گروه دریافت‌کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی با گروه دریافت‌کننده واکسن به روش آشامیدنی مشاهده شد. (جدول ۱) در گروه‌های واکسینه کمترین درصد پراکندگی از میانگین عیار، در ۴۲ روزگی به گروه دریافت‌کننده واکسن به روش آشامیدنی تعلق داشت. (جدول ۲) در گروه‌های واکسینه بالاترین بیشینه عیار پادتن، در آخرین نوبت عیار سنجی به گروه دریافت‌کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی و کمترین آن به گروه دریافت‌کننده واکسن به روش قطره چشمی مربوط بود. (جدول ۳) در این روز بالاترین کمینه عیار پادتن به گروه دریافت‌کننده واکسن به روش آشامیدنی و کمترین آن به گروه دریافت‌کننده واکسن به روش اسپری تعلق داشت. (جدول ۴) بالاترین بیشینه گروه عیار نیز در این روز به گروه دریافت‌کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی تعلق داشت (جدول ۵). در کسب بالاترین کمینه گروه عیار پادتن در ۴۲ روزگی گروه دریافت‌کننده 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، در گروه دریافت‌کننده واکسن به روش تزریق زیرجلدی مشاهده شد و حدود سه برابر بیش از این نسبت در گروه دریافت‌کننده 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 جوجه‌ها در آخرین نوبت توزین به گروه دریافت‌کننده 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 الیزا سنجیده شد،



جدول ۲- درصد پراکندگی عبار پادتن با آزمون الیزا در سیستم 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- کمینه عبار پادتن ضد IBD با آزمون الیزا 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	سن (روز)				
	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	۴۹۴۶	۵	۱	۴۹۴۶	۳۵۳
۷	۴۹۴۶	۱	۶	۱۲	۱

واکسن های گامبورو، حتی انواع برخوردار از حدت متوسط، قادر هستند در واکسیناسیون در سن ۲۱ روزگی نیز بوزن بورس تاثیر منفی بگذارند. Amer و همکاران در سال ۲۰۰۷ تأثیر منفی واکسن های زنده ی 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 مطالعه ی ما) گزارش کردند. مطالعات Haddad و همکاران در سال ۱۹۹۷ و Jeuerissen و همکاران در سال ۱۹۹۸ و Avakian و 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 می کند. شروع تکثیر سریع و شدید ویروس با حدت بعلاوه متوسط (Intermediat plus) موجود در واکسن، متعاقب افول پادتن های مادری در مطالعه Avakian و همکاران در سال ۲۰۰۱ مشاهده شده است.

جدول ۱- متوسط عبار پادتن با آزمون الیزا 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 غیر مشابه در هر ستون نشان دهنده تفاوت آماری معنی داری می باشد.

گروه	سن (روز)				
	۱	۲۰	۲۷	۳۵	۴۲
۱	۷۹۵۳ ^a	۷۸ ^a	۵۶ ^a	۱۴۳ ^a	۳۰۰۴ ^a
۲	۷۹۵۳ ^a	۷۸ ^a	۷۰ ^a	۱۳۴ ^b	۳۰۷۰ ^a
۳	۷۹۵۳ ^a	۷۸ ^a	۳۳۵ ^a	۹۲۹ ^a	۱۷۸۱ ^{ab}
۴	۷۹۵۳ ^a	۷۸ ^a	۳۰ ^b	۶۸۱ ^a	۲۰۷۹ ^{ab}
۵	۷۹۵۳ ^a	۷۸ ^a	۱۶۸ ^a	۲۴۱ ^a	۲۰۹۲ ^{ab}
۶	۷۹۵۳ ^a	۷۸ ^a	۴۳ ^b	۲۳۳ ^a	۱۳۰۳ ^b
۷	۷۹۵۳ ^a	۷۸ ^a	۴۳ ^b	۷۳ ^a	۲۹۵ ^c

جدول ۳- بیشینه عبار پادتن ضد IBD با آزمون الیزا 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	سن (روز)				
	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

عبار (حدود ۱/۵ برابر روش آشامیدنی) به گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریق زیر جلد گردن تعلق داشت. پراکندگی عبارها از میانگین برای تمامی گروه های واکسینه، در محدوده ی قابل قبول برای یک نوبت واکسیناسیون قرار داشت. برای ارزیابی عملکرد یک نوبت واکسیناسیون علیه بیماری گامبورو، مثبت شدن تمامی نمونه های 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، کمینه ی عبار بدست آمده در آخرین نوبت نمونه گیری، ۵۷۶ (در محدوده ی مثبت) بود، بیشتر بودن درصد پراکندگی عبارها در این گروه را نسبت به گروه های دیگر، نمی بایست بعنوان نقطه ضعفی برای آن تلقی نمود.

تفاوت شاخص نسبت وزن بورس به وزن بدن، بین گروه های 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 ۶- کمینه گروه 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	سن (روز)				
	۴۲	۳۵	۲۷	۲۰	۱
۱	۰	۰	۰	۰	۵
۲	۱	۰	۰	۰	۵
۳	۱	۰	۰	۰	۵
۴	۱	۰	۰	۰	۵
۵	۰	۰	۰	۰	۵
۶	۰	۰	۰	۰	۵
۷	۰	۰	۰	۰	۵

جدول ۸- 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، گروه ۴: قطره چشمی، ۵: اسپری، گروه ۶: کنترل داخل، گروه ۷: کنترل خارج.

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

تشکیل ضایعات در بورس و وارد شدن خسارت به آن را می‌توان یکی از مراحل شکل‌گیری ایمنی در برابر ویروس حاد بیماری گامبور دانست. صحت این مسئله زمانی بیشتر ارزش دارد که خسارت وارده موقتی بوده و سرعت 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 دریافت‌کننده واکسن به روش تزریق زیر جلدی بیش از بقیه‌ی گروه‌ها بود، به گونه‌ای که افزایش تا ۴ برابر، نسبت به دو هفته قبل نشان داد. این امر را می‌توان 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. Rautenschlein و همکاران در سال ۲۰۰۵ بهبود سریع‌تر بورس از

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

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

چنین اتفاقی را می‌توان در مورد هر واکسن زنده بیماری گامبور و هنگامی که تاثیر خنثی‌کنندگی 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 اندازه‌گیری 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 یافته‌ها نشان دهنده این واقعیت است که



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 می شود 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 maternally driven 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., Luticken. D. (1981). The Results of field trials with an inactivated Gumboro vaccine. Dev. Biol. Stand. 51: 211-219.
5. Biochek Manual (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

جراحات ناشی از واکسن را بدنبال مصرف واکسن حاوی سویه با حدت متوسط (مشابه با مطالعه ما) در جوجه های 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 عملکردضعیف تر سلول های T در این جوجه ها مربوط دانستند. در جوجه هایی که پس از تفریخ واکسینه می شوند جمعیت بیشتری از سلول های (CD8+ CD4+, T) 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 مرتبه ی بعدی قرار داشت. در عین حال کمترین میزان ترمیم و باز آراییی 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 گامبورواست، 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 جوجه های گوشتی را، مهمترین شاخص نشان دهنده ی عملکرد آنها دانست. مطالعه ی ما، برتری واکسیناسیون بروش تزریق زیر جلدی را، در دستیابی به این شاخص نشان داد. بالاترین میانگین وزن در ۵ و ۶ هفته ی (دو نوبت آخر توزین) در بین تمامی گروه ها، به گروه دریافت کننده واکسن به روش تزریقی زیر جلدی تعلق داشت.

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

آنچه که به عنوان نتیجه گیری نهائی می توان ذکر نمود این است که در مطالعه ی حاضر واکسیناسیون به روش تزریق زیر جلدی، تنها یک نوبت و در زمانی که میانگین عیار پادتن مادری در جوجه های گوشتی به محدوده ی 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



- 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., Whitfill, 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. Marquardt, W., Johnson, R. B., Odenwald, W. F., Schlotthober, B. A. (1980) An indirect enzyme-linked immunosorbent assay (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: Immunosuppressive 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., Marquardt, 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.



Avian Dis. 30:139-148.

28. Solano, W., Giamborne, J. J., Panagala, V. S. (1985) Comparison of a kinetic-based enzyme-linked immunosorbent assay (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.



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

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

²Department 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

