DOI: 10.22092/vj.2017.114448.1328
شماره ۱۱۸ بهار ۱۳۹۷
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

بررسی کارآیی واکسن زنده تخفیف حدت یافته برونشیت عفونی سویه 793/B08IR ساخت موسسه رازی

• **بهمن خالصی (نویسنده مسئول)**
استادیار بخش تحقیق و تولید واکسن های ویروسی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **شهین مسعودی**
دانشیار بخش تحقیق و تولید واکسن های ویروسی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **محمد مجید ابراهیمی**
استادیار بخش تحقیق و تولید واکسن های ویروسی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **لیلا پیشرفت ثابت**
استادیار بخش تحقیق و تولید واکسن های ویروسی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت:۱۰-۰۴-۱۳۹۶ تاریخ پذیرش: ۱۶-۰۵-۱۳۹۶
Email: b.khalesi@rvsri.ac.ir

چکیده

از واکسن‌هایی که در حال حاضر برای کنترل بیماری برونشیت عفونی طیور مورد استفاده قرار می‌گیرد، واکسن حاوی سویه 793/B می‌باشد. بدنبال اثبات حضور ویروس 793/B در اکثر مرغداری‌های کشور واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته برونشیت عفونی سویه 793/B081R، در موسسه رازی تولید شد. هدف از انجام این پروژه ارزیابی کارآیی واکسن 793/B081R بر اساس پروتکل OIE با استفاده از ارزیابی فعالیت مژک‌های نای (Ciliary activity) پرندگان مایه‌کوبی شده بعد از چالش با ویروس حاد بود. نتایج بررسی حرکت مژک‌های نای پس از چالش با ویروس حاد در گروه‌های رازی، وارداتی و شاهد بترتیب ۱/۵، ۱/۷ و ۴ بود. طبق استاندارد امتیاز کمتر یا مساوی ۲ نشان‌دهنده مصونیت پرنده مایه‌کوبی شده در مقابل ویروس حاد می‌باشد و امتیاز بیشتر از ۲ نشان‌دهنده عدم مقاومت پرنده مایه‌کوبی شده است. نتایج بدست‌آمده موید این نکته بود که واکسن رازی در مقایسه با واکسن وارداتی از کارآیی بالایی برخوردار است و ۱۰۰ درصد پرندگان مایه‌کوبی شده در مقابل ویروس حاد مقاومت نمودند درحالی‌که تمامی پرندگان گروه شاهد توقف کامل مژک‌های نای را بدون هیچ‌گونه مقاومت در برابر ویروس حاد نشان دادند. همچنین آزمایشات سرولوژی (ELISA) و نوترالیزاسیون سرم SN (Serume Neutralization) افزایش قابل توجه تیتر سرمی در مقایسه با گروه شاهد نشان دادند.

کلمات کلیدی: واکسن، برونشیت عفونی طیور، سروتیپ، Cilliostasis، 793/B

Veterinary Researches & Biological Products No 118 pp: 40-47

Efficacy evaluation of Razi Infectious Bronchitis Live Attenuated Vaccine 793/B08IR Strain

By: Khalesi, B., (Corresponding Author) Assistant Professor, Department of Research and Production of Poultry Viral Vaccine, Razi Vaccine and Serum Research institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Masoudi, S., Associate Professor,Department of Research and Production of Poultry Viral Vaccine, Razi Vaccine and Serum Research institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Ebrahimi, M.M., Assistant Professor, Department of Research and Production of Poultry Viral Vaccine, Razi Vaccine and Serum Research institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. and Pishraft Sabet, L., Assistant Professor, Department of Research and Production of Poultry Viral Vaccine, Razi Vaccine and Serum Research institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Email: b.khalesi@rvsri.ac.ir

Received: 2017-07-01 **Accepted: 2017-08-07**

Vaccines that are currently used to control infectious bronchitis are vaccines containing 793/B strain. Following the evidence of 793/B viral infection in most of the country's poultry farms, a live vaccine for virulent infectious bronchitis strain 793/B08IR was developed at the Razi Institute. The purpose of this project was to evaluate the efficacy of vaccine 793/B08IR based on the OIE protocol by assessing the activity of ciliary activity of IBV vaccinated birds after the challenge of acute viruses. The results of the study of trachea after the challenge of acute virus in the Razi, imported and control groups were 1.5, 1.7 and 4, respectively. According to the standard, a score of less than or equal to 2 indicates the immunity of the bird vaccinated against the acute virus, and a score of more than 2 indicates the lack of resistance of the bird. The results indicated that Razi vaccine was highly effective compared to the imported vaccine, and 100% of the birds vaccinated against the acute virus resisted, while all the birds in the control group stopped full trachea without any resistance acute virus showed. Serological tests (ELISA) and serum neutralization (SN) also showed a significant increase in serum titer compared to the control group.

Keywords: Vaccine, Infectious bronchitis, 793/B Serotype, Cilliostasis

مقدمه

بیماری برونشیت عفونی بیماری ویروسی حاد و بسیار مسری ماکیان است که در گله‌های گوشتی و تخمگذار دیده می‌شود. این بیماری سبب تلفات و زیان‌های اقتصادی بالا به علت عوارض تنفسی و تلفات سنگین، وزن‌گیری پائین و کاهش بازده غذایی و کاهش تولید تخم‌مرغ و کیفیت آن و نارسایی کلیوی در سویه‌های نفروپاتوژنیک می‌گردد. انتقال سریع این بیماری و وقوع چندگانه سروتیپ‌های ویروس حالت بسیار پیچیده‌ایی را ایجاد نموده است (۶). مایه‌کوبی و رعایت دقیق اصول ایمنی زیستی مهم‌ترین راه کنترل بیماری برونشیت عفونی محسوب می‌شود.

سروتیپ ماساچوست، سروتیپ اصلی ویروس است که که دارای انتشار جهانی است و در اکثر مرغداری‌ها وجود دارد. واکسیناسیون با سروتیپ ماساچوست برای پیشگیری از بیماری برونشیت عفونی متداول است. علی رغم واکسیناسیون گسترده در ایران و سایر کشورها علیه برونشیت عفونی بدلیل آنکه مصونیت متقاطع بین سروتیپ‌های مختلف ویروس ضعیف بوده و یا وجود ندارد بیماری در گله‌های طیور مشاهده می‌شود. از مهم‌ترین آن‌ها سروتیپ 793/B است. این سروتیپ اولین بار در سال ۱۹۹۱ در بریتانیا شناسائی شد (۱۷) و سپس به سایر کشورهای اروپائی انتشار یافت (۷).

در ایران حضور سروتیپ 793/B ویروس توسط ممیز و همکاران، صیفی‌آباد شاپوری و همکاران در سال ۲۰۰۲ تائید شد (۲۲ و ۲۶). تحقیقات بیشتر، سروتیپ‌های ماساچوست و 793/B را به عنوان سروتیپ‌های شایع برونشیت عفونی در کشور معرفی نمودند (۱۹و ۲۲).

از واکسن‌های برونشیت عفونی که در حال حاضر برای کنترل بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرند، واکسن‌های حاوی سروتیپ 793/B می‌باشد. با توجه به نیاز کشور، واکسن برونشیت عفونی سروتیپ 793/B سویه 793/B08IR در موسسه رازی توسط مسعودی و همکاران ساخته شد. یکی از آزمایش‌هایی که جهت ارزیابی اثربخشی یک واکسن طبق استاندارد (OIE) باید انجام شود آزمایش کارایی (Efficacy) است. در این آزمایش میزان مصونیت پرندگان مایه‌کوبی شده در برابر ویروس حاد با دو روش مورد ارزیابی قرار می‌گیردیا پس از چالش از نای پرندگان نمونه سواب گرفته می‌شود یا مقاطعی از نای پس از چالش زیر میکروسکوپ مشاهده شده و با توجه به فعالیت مژکهای نای امتیازبندی می‌شوند. در این تحقیق از روش دوم برای ارزیابی کارایی واکسن استفاده شده است (۳ و ۱۰ و ۲۴).

شیرزاد و همکاران در سال ۱۳۹۲ در مطالعهای تجربی بر روی ۵۰۰ قطعه جوجه ۱۸۰ روزه از نژاد Cobb در شش گروه کارایی دو واکسن تجاری (H120 , 4/91) را مقایسه نمودند. آنها پس از چالش پرندگان مایه‌کوبی شده میزان مصونیت را با آزمایش بررسی فعالیت مژک‌های نای ارزیابی کردند) ۲۷). گیرلیگز و همکاران در ۲۰۱۱ جهت ارزیابی کارایی واکسن برونشیت عفونی سویه Q (L1148) از آزمایش روش فعالیت مژک‌های نای (Ciliary activity) جهت بررسی درصد مصونیت پرندگان مایه‌کوبی شده استفاده نمودند (۱۴).

همچنین بی ضرری و کارایی واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته برونشیت عفونی طیور سویه شبهه Q (YN) با بهره‌گیری از چالش با استفاده از سویه‌های هومولوگ و هترولوگ ویروس ایمنی پرندگان را با ارزیابی فعالیت مژک‌های نای (Ciliary activity) توسط زاهو و همکارانش در سال ۲۰۱۵ صورت پذیرفت. نتایج مطالعات محققین مذکور نشان داد که واکسن مذکور قابلیت استفاده در مزارع طیور چین را دارد (۳۴).

هدف از این تحقیق ارزیابی مصونیت پرندگان مایه‌کوبی شده با واکسن برونشیت عفونی طیور سویه 793/B08IR ساخت موسسه رازی در برابر ویروس حاد همولوگ (IR/773/2001) با بهره‌گیری از ارزیابی توقف حرکت مژک‌های نای (Cilliostasis) می‌باشد.

مواد و روش‌ها

واکسن

واکسن زنده برونشیت عفونی طیور 793/B08IR تولید و ساخت موسسه رازی و همچنین یک واکسن وارداتی مورد استفاده قرار گرفتند. هر دو واکسن مذکور حاوی سروتیپ 793 /B (4/91) کشت داده شده در تخم‌مرغ SPF جنین‌دار و با عیار حداقل EID50 $10^{3-3/5}$ به ازای هر دز بودند.

جوجه‌های SPF

تعداد ۴۵ قطعه جوجه SPF انتخاب شدند. جوجه‌ها به سه گروه ۱۵ قطعه‌ای شامل دو گروه تیمار (گروه یک و دو) و یک گروه شاهد (گروه سه) تقسیم شده و هر گروه در محل جداگانه‌ای نگهداری شد. شرایط نگهداری جوجه‌ها در طی دوره آزمایش شامل دریافت آب و غذای مناسب و کافی کاملا رعایت شد.

واکسیناسیون جوجه‌ها

جوجه‌های گروه یک و دو در سن ۲۱ روزگی بترتیب با واکسن برونشیت عفونی طیور موسسه رازی سویه 793/B08IR و واکسن وارداتی مشابه از طریق قطره چشمی مایه‌کوبی شدند. گروه شاهد هیچ واکسنی دریافت نکرد.

چالش پرندگان تحت آزمایش

۱۰ قطعه از پرندگان هر گروه سه هفته بعد از مایه‌کوبی از طریق قطره چشمی با EID50 $10^{3-3/5}$ ویروس حاد 793/B (اهدایی دکتر رضا ممیز) صورت پذیرفت.

ارزیابی فعالیت مژک‌های نای (Ciliary activity)

مشاهده حلقه‌های نای پرندگان پنج روز بعد از چالش برای کنترل حرکت مژک‌های نای در هر سه گروه صورت پذیرفت. تمامی جوجه‌های SPF تحت آزمایش پنج روز پس از چالش با در نظر گرفتن ضوابط اخلاقی و طبق روش استاندارد معدوم شدند و نای آنها با دقت فراوان جدا و برای بررسی حرکت مژک‌های نای مانند آنچه قبلا گزارش شده است مورد آزمایش قرار گرفتند (۳ و ۱۰). مختصرا از هر جوجه ده حلقه نای (سه حلقه از بالا، چهار حلقه از وسط و سه حلقه از انتهای هر نای جدا شده) و به صورت مجزا در داخل لوله‌های آزمایش حاوی بافر فسفات سالین (PBS) قرار داده شدند و حرکت مژک‌های آنها در زیر میکروسکوپ مورد مطالعه قرار گرفت.

آزمایش‌های سرولوژی

سه هفته پس از مایه‌کوبی و قبل از چالش، پنج قطعه از پرندگان هر گروه به مکان جداگانه‌ای منتقل و در۲۱، ۳۱ و ۴۲ روز بعد از مایه‌کوبی خون‌گیری شده و سرم نمونه‌های خون جدا شده برای انجام آزمایش‌های سرمی SN و ELISA آماده‌سازی شدند. آزمایش خنثی سازی سرم SN (Neutralisation Serum) با روش آلفا ; Dawson & Gough (۱۲) انجام شد. جهت آزمایش ELISA روی سرم‌های خون جوجه‌ها از کیت کمپانی Biocheck هلند طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد.

ارزیابی آماری

آنالیز آماری کلیه داده‌ها در نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۳، به روش T-Test انجام شد.

نتایج

آزمایش توقف حرکت مژک‌های نای (Cilliostasis)

فعالیت مژک‌های نای بر اساس فارماکوپه اروپا امتیازبندی شد. در هر پرنده زمانی که فعالیت مژک‌های نای ۱۰۰ درصد باشد امتیاز صفر، به فعالیت ۹۹ درصد - ۷۵ درصد < امتیاز یک، فعالیت ۷۴ درصد - ۵۰ درصد < امتیاز دو، به فعالیت ۴۹ درصد - ۲۵ درصد < امتیاز سه و در صورت مشاهده فعالیت ۲۴ درصد - ۰ درصد امتیاز چهار در نظر گرفته می‌شود که نشان‌دهنده عدم مصونیت می‌باشد (۳، ۸ و ۱۰).

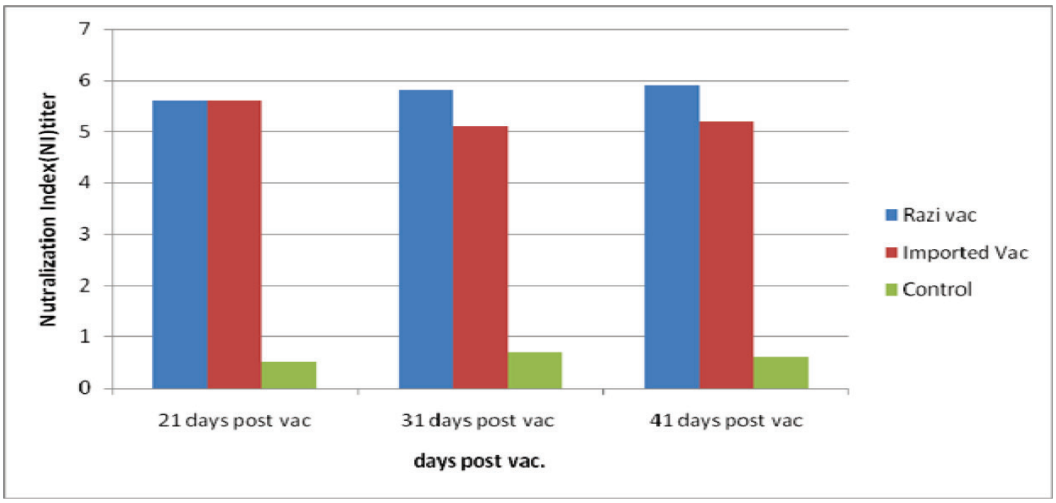
امتیاز فعالیت مژک‌های نای (Ciliary activity) در سه گروه تحت آزمایش (گروه‌های یک و دو که بترتیب با واکسن‌های رازی و وارداتی مشابه مایه‌کوبی شدند) و گروه شاهد در جدول یک آورده شده است. گروه شاهد ۱۰۰ درصد توقف حرکت مژک‌های نای (Cilliostisis) را نشان داد و امتیاز ۴ به این گروه تعلق می‌گیرد، درصورتی‌که در جوجه‌های مایه‌کوبی شده با واکسن رازی و وارداتی امتیاز فعالیت مژک‌های نای بترتیب برابر ۱/۵ و ۱/۷ بود. ضمنا، در گروه شاهد علائم بسیار خفیف تنفسی مانند ریزش ترشحات از بینی و اشک مشاهده شد (جدول ۱).

سرولوژی

شاخص نوترالیزاسیون در گروه‌های مایه‌کوبی شده در روزهای ۲۱، ۳۱ و ۴۱ بعد از مایه‌کوبی با واکسن رازی (گروه یک) ۵/۶ ، ۵/۸، ۵/۹،

واکسن وارداتی (گروه دو) ۵/۶، ۵/۰، ۵/۲ و گروه شاهد ۰/۵، ۰/۶، ۰/۶ بود (جدول ۲ و نمودار ۱).

میانگین عیار آنتی‌بادی ELISA در گروه‌های مایه‌کوبی شده در روزهای ۲۱ ، ۳۱ و ۴۱ بعد از مایه‌کوبی با واکسن رازی (گروه یک) ۲۲۳۲، ۲۷۱۴ و ۱۱۱۳، واکسن وارداتی (گروه دو) ۱۸۵۶، ۱۴۰۹، ۱۰۷۵ و گروه شاهد ۲۶۸، ۵۰۴، ۵۰۴ بود (جدول ۳، نمودار ۲). اختلاف معنی‌داری ($p < ۰/۰۵$) بین دو گروه یک و دو با شاهد وجود دارد (جدول شماره ۳ و نمودار شماره ۲)٪



نمودار ۱- مقایسه شاخص سرم در گروه‌های مورد آزمایش مایه‌کوبی شده با واکسن رازی و واکسن وارداتی در مقایسه با گروه شاهد

جدول ۱- نتایج ارزیابی فعالیت مژک‌های نای

گروه	Score
و اکسن رازی (گروه یک)	Score: ۱/۵
واکسن وارداتی (گروه دو)	Score: ۱/۷
گروه شاهد	Score: ۴

جدول شماره ۲ - مقایسه اندیس خنثی‌سازی سرم در گروه‌های مورد آزمایش مایه‌کوبی شده با واکسن رازی و واکسن وارداتی در مقایسه با گروه کنترل

واکسن	۲۱* روز	۳۱ روز	۴۱ روز
رازی	۵/۶	۵/۸	۵/۹
وارداتی	۵/۶	۵/۰	۵/۲
شاهد	۰/۵	۰/۶	۰/۶

*** روز بعد از مایه‌کوبی**

بحث

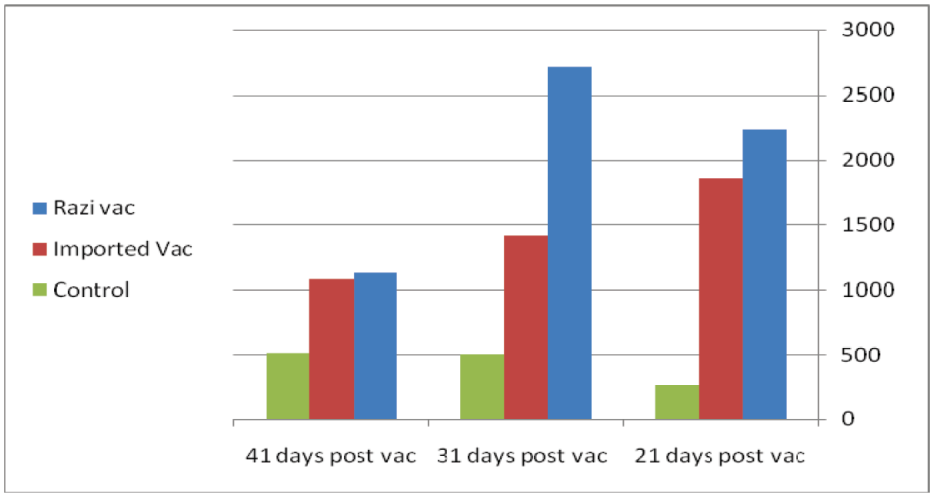
بیماری برونشیت عفونی یک بیماری ویروسی حاد و بسیار مسری ماکیان است که دارای انتشار جهانی است و در کشور ما نیز به دلیل ابتلای جوجه‌های جوان و گله‌های بالغ تخم‌گذار و مادر به شکل‌های تنفسی، تولیدمثلی و یا ایجاد ضایعات کلیوی از اهمیت اقتصادی بسیار زیادی برخوردار می‌باشد.

با توجه به تنوع سروتیپ‌های ویروس برونشیت عفونی و عدم وجود مصونیت متقاطع بین آن‌ها استفاده از واکسن‌هایی حاوی سویه‌های موجود در فیلد در کنترل و پیشگیری از بیماری حائز اهمیت می‌باشد. در ایران وجود ویروس برونشیت عفونی(سروتیپ ماساچوست) برای اولین بار با آزمایش‌های سرولوژی توسط آقاخان و همکاران به اثبات رسید (۱). تحقیقات در سال‌های ۲۰۰۱ و ۲۰۰۲ توسط ممیز و همکاران، وصفی مرندی و همکاران، صیفی‌آباد شاهپوری و همکاران وجود واریانت‌های 793 /B (4/91) را مشخص کرده است (۲۲و ۲۶ و ۳۲).

ممیز و همکاران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند که برخی از سویه‌های ویروس برونشیت موجود در ایران با آنتی‌سرم اختصاصی سروتیپ ماساچوست خنثی نمی‌شوند که بیانگر حضور سروتیپ‌های دیگر در کشور می‌باشد. در بررسی انجام شده توسط وصفی مرندی و همکاران در جریان واگیری کمپلکس تنفسی طیور سال ۱۳۷۸ و انجام آزمایش خنثی‌سازی SN با استفاده، از آنتی‌سرم اختصاصی سویه 793/B حضور این سویه در مرغداری‌های ایران به اثبات رسید (۲۲).

شوشتری و همکاران در سال ۲۰۰۸ میزان شیوع برونشیت عفونی طیور را در کمپلکس تنفسی ماکیان را در استان‌های تهران، قزوین، آذربایجان، مرکزی، خراسان، اصفهان، فارس، کرمانشاه، لرستان ،خوزستان، همدان و سمنان بررسی نمودند. از ۱۰۸ نمونه مثبت برونشیت عفونی ۵۲/۷۲ درصد آلوده به سروتیپ 793/B، ۱۶/۶ درصد آلوده به سروتیپ ماساچوست و ۳۰/۵ درصد پرندگان هم زمان آلوده به هر دو سروتیپ 793/B و ماساچوست بوده‌اند (۲۸).

نمودار ۲ - میانگین عیار آنتی بادی ELISA در گروه‌های مورد آزمایش مایه کوبی شده با واکسن رازی و وارداتی در مقایسه با گروه شاهد.



جدول ۳- مقایسه عیار آنتی بادی ELISA سرم در گروه‌های مورد آزمایش مایه‌کوبی شده با واکسن رازی و واکسن وارداتی در مقایسه با گروه کنترل.

واکسن	۲۱* روز	۳۱ روز	۴۱ روز
رازی	۲۲۳۲	۲۷۱۴	۱۱۳۱
وارداتی	۱۸۵۶	۱۴۰۹	۱۰۷۵
شاهد	۲۶۸	۵۰۴	۵۰۴

* روز بعد از مایه‌کوبی

از زمان اثبات حضور واریانت 793/B ویروس برونشیت عفونی در ایران تا کنون تحقیقات گسترده‌ای در مورد اپیدمیولوژی این ویروس در کشور انجام شده است که نشان‌دهنده شیوع بالای این ویروس در مقایسه با سروتیپ ماساچوست است (۲ و ۱۵ و ۱۹ و ۲۲ و ۲۶ و ۳۲).

بطور کلی در گردش بودن سروتیپ 793/B این گمان را تقویت می‌کند که این سروتیپ می‌تواند مسئول اصلی بروز بیماری برونشیت عفونی در گله‌های واکسینه شده و توجیه‌کننده شکست در واکسیانسیون علیه این بیماری باشد. بنابراین واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته برونشیت عفونی سویه 793/B08IR در موسسه رازی ساخته شد.

کوک (Cook) و همکارانش در سال‌های ۱۹۹۹ و ۲۰۰۱ با بهره‌گیری از ارزیابی فعالیت مژک‌های نای نشان دادند میزان مقاومت پرندگان مایه‌کوبی شده با تجویز دزهای مختلف واکسن برونشیت را معین نمودند (۸ و ۹).

حسینی و همکاران در سال ۱۳۹۳، ایمنی زایی واکسن زنده برونشیت عفونی BRONIPRA-1 (تولید شرکت هیپرا) را در گله جوجه‌های گوشتی با آزمایش الیزا جهت اندازه‌گیری تیتر برونشیت عفونی و آزمایش HI جهت اندازه‌گیری تیتر نیوکاسل در دو گروه مورد مقایسه و ارزیابی قرار دادند. واکسن برونشیت عفونی سویه H120 ساخت موسسه رازی به عنوان گروه کنترل استفاده شد. مطالعه محققین مورد اشاره نشان داد که کارایی هر دو واکسن از نظر القای پاسخ سرولوژیک و راندمان گله یکسان بود و میانگین تیتر آنتی‌بادی برونشیت عفونی به روش الایزا در دو گروه آزمایش و کنترل اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند (۱۸).

همچنین ولی‌نژاد و همکاران که در سال ۸۰-۱۳۷۹ ارزیابی میدانی واکسن IBV را در گله‌های گوشتی شهرستان مشهد با روش الیزا انجام دادند. آن‌ها نشان دادند که واکسن IBV سویه H120 توانست تیتر آنتی‌بادی مناسبی را در جوجه‌های واکسینه‌شده القاء کنند (۳۱).

سنجش میزان مصونیت پرندگان مایه‌کوبی شده با واکسن برونشیت با استفاده از ارزیابی فعالیت مژک‌های نای پس از چالش با ویروس حاد یک روش استاندارد بوده توسط اکثر محققین مورد استفاده قرار گرفته است (۲۹ و ۳۰ و ۳۴).

در این تحقیق ارزیابی کارآیی واکسن برونشیت عفونی سروتیپ 793/B سویه 793/B08IR موسسه رازی در برابر ویروس حاد با استفاده از ارزیابی فعالیت مژک‌های نای بعد از چالش با ویروس حاد انجام شد. امتیاز توقف حرکت مژک‌های نای نشان‌دهنده مصونیت پرندگان مایه‌کوبی شده با واکسن رازی و واکسن وارداتی مشابه در برابر ویروس حاد در مقایسه با گروه شاهد ($p<۰/۰۵$) می‌باشد. با توجه به توقف حرکت مژک‌های نای (Cilliostasis Score) همه پرندگان مایه‌کوبی شده در دو گروه یک (امتیاز فعالیت مژک‌های نای ۱/۵) و گروه دو (امتیاز فعالیت مژک‌های نای ۱/۷) بر خلاف گروه شاهد (امتیاز فعالیت مژک‌های نای ۴) مصونیت کامل را در برابر ویروس حاد نشان دادند.

ارزیابی آنتی‌بادی سرمی با آزمایش‌های SN و ELISA بیانگر این است که واکسن زنده برونشیت عفونی سروتیپ 793/B رازی از کارایی مناسب در تحریک سیستم ایمنی و تولید آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده ویروس دارد و بین عیار آنتی‌بادی دو گروه اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی‌شود ($p<۰/۰۵$).

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان می‌دهد واکسن برونشیت عفونی سروتیپ 793/B (سویه 793/B08IR) ساخت موسسه رازی توانایی ایجاد مصونیت در پرندگان مایه‌کوبی شده در برابر ویروس حاد و تحریک سطح بالایی از ایمنی و تولید پاسخ آنتی‌بادی‌های خنثی‌کننده ویروس را مشابه با واکسن وارداتی داراست.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی ایران (۹۴۰۰۱-۹۴۵۳-۱۸-۱۸-۱۲) انجام شده است. از مدیریت و همکاران محترم بخش تحقیق و تولید واکسن‌های ویروسی طیور موسسه رازی تشکر و قدردانی می‌نماییم.

منابع مورد استفاده

1- Aghahakn, S. M., Afshar Fereidouni, N.A., Marunesi, C., Khodashenas, M. 1994. Studies on avian viral infection in Iran. *Archives of Razi Institute* 45: 1-10.

2- Akbari Azad, G., Vasfi Marandi, M., Keyvani aminae, H. 2007. Molecular analysis of three iranian isolates belonged to 793/B serotype of infectious bronchitis viruses. *Journal of Veterinary Research* 62,1:69-80.

3- Cavanagh, D., Ellis, M. M., Cook, J. K. A. 1997. Relationship between variation in the S1 spike protein of infectious bronchitis virus and the extent of cross-protection In vivo. *Avian pathology* 26: 63-74.

4- Cavanagh, D., Naqi, S.A. 2003. Infectious Bronchitis; in Disease of Poultry, Saif, Y.M ., Barnes, H. J., Glisson, J.R Fadly, A.M., McDougald, L R. and Swayne, D.E. (eds Iowa State University Press, Amen. pp: 101-119.

5- Cavanagh, D. 2007. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Veterinary Research* 38: 281-97.

6- Cavanagh, D. & Gelb, J. 2008. Infectious bronchitis. In Y.M. Saif, A. M. Fadly, J.R. Glisson, L.R. McDougald, L.K. Nolan & D. E. Swayne (Eds.). Diseases of Poultry 12thedn (pp. 117-135). Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing Professional.

7- Cook, J. K. A., Orbell S. J., Woods, M. A., Huggins, M. B. 1996. A survey of the presence of a new infectious bronchitis virus designated 4/91 (793B). *The Veterinary Record* 138:178–180.

8- Cook, J. K. A., Orbell, S.Y., Woods, M.A., Huggings, M.B. 1999. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with Infectious Bronchitis Virus of heterologous serotypes. *Avian Pathology* 28:477-485.

9- Cook, J. K. A., Ashesher J., Baxendal, W., Green Wood, N., Huggins, M. B., Orbell, S. J. 2001. Protection of chickens against

renal damage caused by a nephropathogenic Infectious Bronchitis Virus. *Avian Pathology* 30: 423-425.

10- Cubillos, A., Ulloa, J., Cubillos, V., Cook, J. K. A. 1991. Characterisation of strains of infectious bronchitis virus isolated in Chile. *Avian Pathology* 20: 85-99.

11- Darbyshire J.H. (1985). A clearance test to assess protection in chickens vaccinated against avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathology* 14, 497–508.

12- Dawson., P. S., Gough., R. E. 1971. Antigenic variation in strains of avian infectious bronchitis virus. *Archiv für die gesamte Virusforschung* 34, 32–39.

13- European Pharmacopoeia ,8th Edition, Avain infectious bronchitis vaccine (Live): 04/2313:0442.PP: 926-928. Available on:http://www.fptl.ru/biblioteka/farmakopei/evropeyskaya_farmakopeya_8_vol-1.PDF.

14- Geerligs, H. J., Boelm, G. J., Meinders, C. A. M., Stuurman, B. G. E., Tarres-Call, J., Bru ,T., Vila, R., Mombarg, M., Karaca, K., Symons, J., Wijmenga, W. and M. Kumar.2011.Efficacy and safety of an attenuated live QX-like infectious bronchitis virus strain as a vaccine for chickens. *Avian Pathology* 40(1) 93_102.

15- Ghahremani, N., Bozorgmehri Fard, M. H., Shoushtari, H., Momayez, R., Sheikhi, N, Khoshzahmat, A., Eshratabadi, F. 2011. Molecular analysis of Infectious Bronchitis Virus isolated in Iran from 1998-2008. *Journal of Animal and Veterinary Advances* 10: 2961-2967.

16- Gholami Ahangaran, M., Shoushtari, A. H., Doosti, A., Fathi Hafshejani, E., Zia-Jahromi, N. 2012. Detection of Infectious Bronchitis Virus (4/91 type) in Broiler Chickens in Chahrmahal-va-bakhtiyari Province. *Veterinary Clinical Pathology (Veterinary Journal of Tabriz)* 22:1543-1547.

17- Gough, R. E., Randall, C.J., Dagless, M., Alexander, D.J., Cox, W. J., Pearson, D. 1992 . A 'new' strain of infectious bronchitis virus infecting domestic fowl in Great Britain. *Veterinary Research* 30: 493-4.

18- Hosseini, H., Akbari, G., Bahonar., A. 2014. Evaluation of the efficacy of BRONIPRA-I infectious bronchitis live vaccine in broiler chickens. *Research project* (In Persian).

19- Hosseini Aliabadi A.O, Momayez, R., Mahmoudzadeh, M., Yousefi Amini, A. 2013. Detection of 793/B serotype in broiler chicken flocks with respiratory out breaks in west of Mazandaran. *Journal of veterinary clinical research* 2: 91-97. (In Persian).

20- Kant, A., Koch, G., van Roozelaar, D. J., Kusters, J.G., Poelwijk, F.A.J., van der Zeist, B. A. M. 1992. Location of antigenic sites defined by neutralizing monoclonal antibodies on the S1 avian infectious bronchitis glycopeptide. *Journal of general virology* 73:591-596.

21- Lai, M. M. C., Holmes, K.V. 2001. Coronaviridae: the viruses and their replication. In: Knipe, D.M., Howley, P.M., Griffin, D.E., Lamb, R.A., Martin, M.A., Roizman, B., Straus, S.E. (Eds.), Fields Virology, fourth ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, pp. 1163–1185.

22- Momayes, R., Pourbakhsh, S. A., Khodashenas, M., Banani, M. 2002. Isolation and Identification of infections bronchitis virus from commertial chickens. *Archives of Razi Institute* 53:1-10.

23- Nouri, A., Assasi, K., Seyfi-Abad Shapouri, M. R. 2003. Field study of Infectious Bronchitis Virus in broiler using type-specific RT-PCR. *Archives of Razi Institute* 55: 1-10.

24- OIE (Office international des epizooties). Manual of standards for Diagnostic tests and Vaccine. (Avian Infectious Bronchitis) Seventh Edition. Chapter 2.3.2: 414-426. 2012. Available on: http://www.oie.int/fileadmin/Home/eng/Health_standards/tahm/2.03.02_AIB.PDF.

25- Roser, D., Pujols, J., Ordonez, G., Porta, R., Majo, N. 2008 .Molecular epidemiology and evolution of avian infectious bronchitis virus in Spain over a fourteen-year period. *Virology* 1: 50-59.

26- Seify Abad Shapouri, M. R., Mayah, M., Charkhkar, S., Assasi K. 2002. Serotype identification of recent Iranian isolates of Infectious Bronchitis Virus by type-specific multiplex RT-PCR. *Archives of Razi Institute* 53: 79-85.

27- Shirzad, M. R., Asasi. K., Mohammadi. A. 2012. Efficacy of vaccination programmes using two commercial live infectious bronchitis vaccines against a field IRFIB 32 strain. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 4: 260 - 272.

28- Shoushtari, A.H., Toroghi, R., Momayez, R., Pourbakhsh, S. A. 2008.793/B type the predominant circulating type of avian Infectious Bronchitis Viruses 1999-2004 in Iran: a retrospective study. *Archives of Razi Institute* 63: 1-5.

29- Tarpey, I., Orbell, S. J., Britton ,P., Casais, R., Hodgson, T., Lin ,F., Hogan, E., Cavanagh, D. 2006. Safety and efficacy of an infectious bronchitis virus used for chicken embryo vaccination. *Vaccine* 24 6830 – 6838.

30- Terregino, C., Toffan, A., Beato, M.S., Nardi, R.D., Vescellari, M., Meini, A., Ortali, G., Mancin, M., Capua, I. 2008. Pathogenicity of a QX strain of infectious bronchitis virus in specific pathogen free and commercial broiler chickens, and evaluation of protection induced by a vaccination programme based on the Ma5 and 4-91 serotype. *Avian Pathology* 37: 487-493.

31- Valinenejad , A., Kalidari,. M., Akhavizadegan,. M. A, Vahadi, F., Pourbakhsh,A. 2001. Field trial of infectious Bronchitis Vaccine (H120) in broiler flocks of Mashhad (research project) (In

Persian).
32- Vasfi Marandi, M., Bozorgmehri Fard, M. H. 2000. Isolation and identification of infectious bronchitis viruses in chickens in Iran. Proceedings of the World's Poultry Congress PP: 20-25. Montreal, Canada/ August.
33- Williams, A. K., Wang, L., Sneed, L.W., Collisson, E.W. 1993. Analysis of a hypervariable region. In the 3' noncoding end of the infectious bronchitis virus genome. *Virus Research* 28: 19-27.
34- Zhao, Y., Cheng, J, L., Liu,. X. Y, Zhao, J., Hu, Y. X., Zhang, G. Z. 2015. Safety and efficacy of an attenuated Chinese QX-like infectious bronchitis virus strain as a candidate vaccine. *Veterinary Microbiology* 22; 180 (1-2):49-58.