DOI: 10.22092/vj.2018.123229.1492
شماره ۱۲۳ تابستان ۱۳۹۸
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

ارزیابی سرولوژی واکسن زنده برونشیت عفونی طیور سویه 793B/08IR در جوجه‌های صنعتی گوشتی در شرایط کنترل شده

• **شهلا شاهسوندی (نویسنده مسئول)**
دانشیار، ژنتیک مولکولی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **شهین مسعودی**
دانشیار، بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **محمدمجید ابراهیمی**
استادیار، بیوتکنولوژی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **لیلا پیشرفت‌ثابت**
استادیار، ویروس شناسی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۰۶-۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷-۰۹-۲۶
Email: s.shahsavandi@rvsri.ac.ir

چکیده

برونشیت عفونی بیماری بسیار مسری ویروسی ماکیان است و عامل مشکلات بهداشتی عمده صنعت طیور در بیشتر کشورهای دنیا به شمار می‌رود. بروز تغییرات پیوسته آنتی‌ژنی و ژنتیکی در ویروس برونشیت عفونی پاسخ‌های ایمنی بدن پرنده را به چالش وا می‌دارند. بنابراین واکسنی که برای پیشگیری از این بیماری در ماکیان جوان مورد استفاده قرار می‌گیرد هنگامی موثر خواهد بود که دارای سروتیپ در گردش باشد. در این راستا واکسن زنده برونشیت عفونی 793B/08IR در موسسه رازی و در مقیاس آزمایشگاهی تولید شد. اثر بخشی این واکسن در جوجه‌های صنعتی گوشتی در شرایط کنترل شده ارزیابی شد. دویست و پنجاه قطعه جوجه سویه Ross-308 یک روزه در چهار گروه تیمار و یک گروه کنترل (هر گروه ۵۰ قطعه) تقسیم شدند. دو گروه واکسن 793B/08IR و دو گروه دیگر یک واکسن زنده وارداتی را به صورت قطره چشمی دریافت کردند. سه هفته پس از واکسیناسیون اولیه، نوبت یادآور تجویز شد. پیش از واکسیناسیون و در فواصل دو هفته‌ای پس از آن از جوجه‌های هر گروه نمونه خون تهیه شد. توانمندی واکسن 793B/08IR با انجام آزمایش‌های خنثی‌سازی سرم و الایزا ارزیابی شده و نتایج با واکسن وارداتی مقایسه گردید. داده‌های شاخص خنثی‌سازی ویروس و نیز روند افزایشی عیار پادتن سرمی در طیور گوشتی تحت آزمایش بیانگر این است که واکسن زنده برونشیت عفونی سروتیپ 793B/08IR از کارایی مناسب علیه این بیماری برخوردار می‌باشد.

کلمات کلیدی: برونشیت عفونی، سویه B/793، توانمندی، Ross-308

Veterinary Researches & Biological Products No 123 pp: 106-112

Serological Evaluation Of Live Avian Infectious Bronchitis 793/B.08Ir Vaccine In Controlled Conditions

By: Shahsavandi, S., (Corresponding Author) Associated professor, Molecular genetics, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization, Karaj, Iran. Masoudi, Sh., Associated professor, Biotechnology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran. Ebrahimi, M.M., Assistant professor, Biotechnology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran. and Pishraft Sabet, L., Assistant professor, Virology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj, Iran.

Received: 2018-09-08 **Accepted: 2018-12-17**

Email: s.shahsavandi@rvsri.ac.ir

Infectious bronchitis is an extremely contagious viral disease and causes the major health problems of the poultry industry in most countries of the world. The incidence of continuous genetic and antigenic changes in infectious bronchitis viruses challenges the bird's immune responses. Therefore, a vaccine to prevent the disease in young chickens may effective when formulated with circulating serotype. In case, live infectious bronchitis 793B/08IR was developed in Razi Institute at laboratory scale. The potency of the vaccine was evaluated in commercial broiler chickens in controlled conditions. Two hundred and fifty one-day-old Ross-308 chickens were divided into the four treatment groups and one control group (n=50). The two treatment groups were received 793B/08IR vaccine and other groups received an imported one via eye drop method. The booster was administrated three weeks post vaccinations. Blood samples were collected from chickens in each group before vaccination and at intervals of two-week. The potency of 793B/08IR vaccine was evaluated using ELISA and serum neutralization assays and compared with an imported vaccine. The neutralizing index data and increase in serum antibody titer in treatment chicken groups indicated that live infectious bronchitis 793B/08IR has proper potency against the disease.

Keyword: Infectious bronchitis, 793/B strain, potency, Ross-308

مقدمه

بی‌ماری برونشیت عفونی (IB) طیور نوعی بیماری ویروسی بسیار مسری تنفسی با مشخصات تراکئیت، سرفه و عطسه است که با واگیری شدید در تمام سنین و تلفات بالا در جوجه‌های کمتر از شش هفته تظاهر می‌یابد. علاوه بر بیماری‌زایی در دستگاه تنفس، بعضی از سویه‌های ویروس تمایل به ایجاد ضایعه و بیماری در اویدوکت و کلیه‌ها را نیز دارند. این بیماری سبب بروز تلفات و زیان‌های اقتصادی جبران‌ناپذیر به دلیل وزن‌گیری پایین، کاهش بازده غذایی، افت تولید و کیفیت تخم‌مرغ می‌شود. روند بیماری با بروز عفونت‌های مختلف و تنش‌های محیطی پیچیده شده و سبب افزایش میزان مرگ و میر در پرندگان جوان می‌شود (۱ و ۲). ویروس عامل این بیماری (IBV) متعلق به خانواده کروناویریده است. RNA ژنومی آن از ۲۷۶۰۰ نوکلئوتید تشکیل شده و چهار پروتئین مهم شامل گلیکوپروتئین سطحی S، پروتئین پوشینه E، نوکلئوپروتئین N و پروتئین غشایی M را به ترتیب در راستای 5' UTR-pol-S-E-M-N-3' UTR رمزدهی می‌کند (۳ و ۴). شروع عفونت ویروسی در نتیجه اتصال گلیکوپروتئین S به مولکول‌های اسید سیالیک (N استیل نورآمینیک اسید) با پیوند α۲,۳ در سطح گلیکوپروتئینی و گلیکولیپیدی سلول‌های بخش فوقانی دستگاه تنفسی میزبان است (۵). پیامد عفونت، مژک‌های ناحیه اپی‌تلیال بینی و نای از بین می‌روند و حرکت آن‌ها مختل می‌شود. در سطح اپی‌تلیوم غیر تنفسی مانند کلیه و گناد هم تکثیر پیدا کرده و سبب آسیب سلولی می‌شود (۶).

از نخستین توصیف IB در داکوتای شمالی ایالات متحده آمریکا در ۱۹۳۱ (۷) تاکنون، تغییرات ژنومی پیوسته و گسترده شامل حذف و اضافه شدن نوکلئوتیدی، و گاه رخداد نوترکیبی ژنومی طبیعی سبب پدیدار شدن واریته‌های پادگنی متفاوت و فنوتیپ‌های چندگانه این ویروس شده است. تغییرات منجر به بروز این واریته‌ها در بخش کوچکی از زیر واحد S1 ژن S ویروس رخ می‌دهند (۸). تا به امروز، طیفی از سروتیپ‌های مختلف IBV مانند California، Baudette، Massachusetts، Connecticut، Arkansas و QX، 793 / B (4/91) با استفاده از آزمایش خنثی‌سازی ویروس شده‌اند که گاه علیه هم حفاظت متقاطع ضعیفی دارند (۱ و ۹). به دلیل سرعت انتشار بسیار زیاد ویروس عفونت همزمان با بیش از یک سروتیپ در یک گله

به کرات رخ می‌دهد. از آن جایی که ایمنی ایجاد شده علیه هر سروتیپ اختصاصی است، به علت همسانی ژنومی نسبتا کم بین سروتیپ‌های IBV واکسن ساخته شده از یک سروتیپ علیه سروتیپ‌های دیگر ایمنی مناسبی ایجاد نمی‌کند. این امر موفقیت برنامه‌های پیشگیری و کنترل این بیماری را تحت تاثیر قرار می‌دهد. جداسازی سروتیپ 793/B برای نخستین بار از طیور پرورشی فرانسه گزارش شد، پس از آن طی سال‌های ۹۱-۱۹۹۰ به انگلستان گسترش پیدا کرد (۱۰) و در سال‌های اخیر در بسیاری از کشورها شناسایی شده است. این سروتیپ علاوه بر نشانه‌های معمول IB، میوپاتی عضلات عمقی سینه در مرغان تخمگذار ایجاد می‌کند (۲). با بررسی نمونه‌های بافتی نای، کلیه و ریه گله‌های مشکوک به بیماری تنفسی، در گردش بودن سروتیپ 793/B در برخی استان‌های ایران اعلام شده است (۱۵-۱۱). پس از تایید شناسایی این سروتیپ، واکسن زنده آن در بخش تحقیق و تولید واکسن‌های طیور موسسه رازی در مقیاس نیمه صنعتی ساخته شد. در این پژوهش توانمندی واکسن 793B/08IR در جوجه‌های گوشتی سویه Ross-308 با هدف ارتقا راهبردهای واکسیناسیون علیه IB ارزیابی شده است.

مواد و روش‌ها

واکسن زنده IB سویه 793/B

واکسن زنده 793B/08IR تولیدی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی حاوی سویه 793/B کشت داده شده در تخم‌مرغ عاری از عوامل بیماری‌زا (SPF) جنین‌دار با EID ۵۰ ≥ $10^{3/5}$ به ازای هر دز مورد استفاده قرار گرفت.

گروه‌بندی جوجه‌های صنعتی سویه Ross-308 و واکسیناسیون چهار گروه پنجاه‌تایی جوجه‌های گوشتی سویه Ross-308 یک روزه انتخاب شدند. یك گروه پنجاه‌تایی از همین سویه به عنوان شاهد (C) در نظر گرفته شد. جوجه‌ها در شرایط بستر، تغذیه و محیط یکسان نگهداری شدند. پرندگان گروه A۱ و A۲ در سن یک هفتگی واکسن 793B/08IR را به صورت قطره چشمی و پرندگان گروه B۱ و B۲ یک واکسن وارداتی را به همان روش دریافت کردند. در هفته سوم برای جوجه‌های گروه A۲ یک نوبت یادآور واکسن 793B/08IR و برای جوجه‌های گروه B۲ نیز یک نوبت یادآور واکسن وارداتی به‌صورت قطره چشمی تجویز شد. جوجه‌های شاهد در مکانی جداگانه و شرایط یکسان نگهداری شدند. موارد اخلاقی نگه‌داری جوجه‌ها در دوره آزمایش شامل دریافت کافی و مناسب آب و خوراک، عدم ایجاد تنش به‌هنگام خون‌گیری و واکسیناسیون طبق شیوه استاندارد (۱۶) به‌طور کامل رعایت شد.

ارزیابی توانمندی

اثر حفاظت بخشی واکسن 793B/08IR بر روی سرم خون با انجام آزمایش‌های خنثی‌سازی سرم (SN) و الایزا ارزیابی شد. پیش از واکسیناسیون و سپس در فواصل دو هفته‌ای از جوجه‌های هر گروه نمونه خون از ورید بال تهیه شد. برای تعیین عیار پادتن علیه IBV از کیت تجاری شرکت BioCheck استفاده شد و آزمایش SN در تخم‌مرغ‌های جنین‌دار SPF ده روزه به روش α انجام شد (۱۷). برای این منظور، رقت‌های سریال از ویروس بر مبنای Log۱۰ (10^{-1} تا 10^{-7}) تهیه شده و به حجم‌های مساوی آن‌ها از غلظت ثابت سرم اضافه شد. مخلوط‌های سرم ویروس در دمای آزمایشگاه

شکل ۱- موارد مثبت (چپ) و منفی (راست) در آزمایش خنثی‌سازی سرم ویروس برونشیت عفونی طیور در جنین هفده روزه.

به مدت ۴۵ دقیقه برای انجام خنثی‌سازی قرار داده شدند. به ازای هر رقت، پنج تخم‌مرغ در نظر گرفته شد و مخلوط در حفره آلانتوئیك هر تخم‌مرغ تلقیح گردید. به طور همزمان برای عیارسنجی ویروس 793/B، رقت‌های 10^{-5} تا 10^{-7} از آن تهیه شده و از هر کدام به پنج تخم‌مرغ تلقیح شد. محل تلقیح با پارافین مذاب بسته شده و تخم‌مرغ‌ها در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت هفت روز قرار داده شدند. جنین‌های مرده ۲۴ ساعت پس از تلقیح مخلوط سرم-ویروس به عنوان تلفات غیراختصاصی IB حذف می‌شدند. پس از باز کردن تخم‌مرغ‌ها موارد مثبت (جنین‌های غیرطبیعی و کوتوله با علایم اختصاصی IBV) و منفی هر رقت ثبت شد و شاخص خنثی‌سازی (NI) با روش Spearman-Karber برآورد شد.

ارزیابی آماری

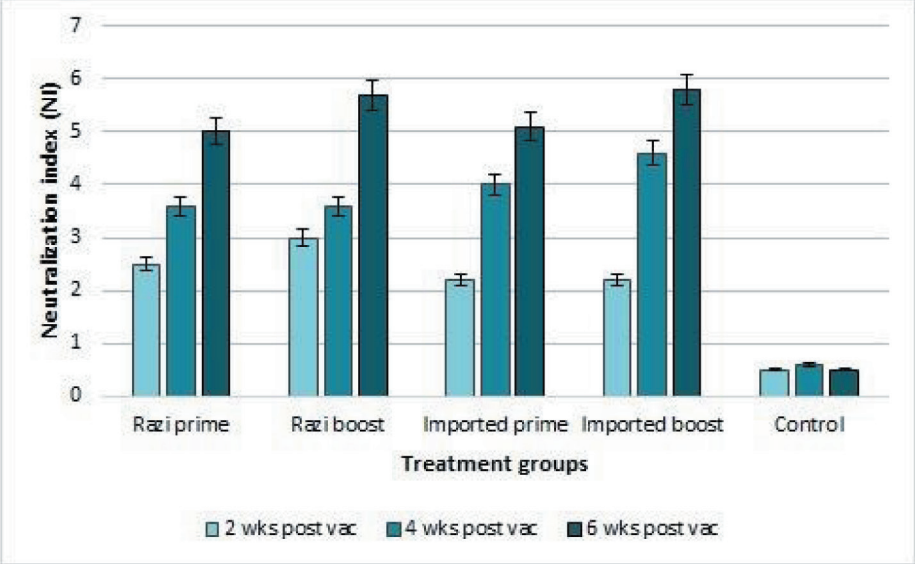
برای انجام ارزیابی آماری روی نتایج سرمی از آزمون یک طرفه ANOVA استفاده شد. بیشینه خطای مورد پذیرش، با درنظر گرفتن ($p<۰/۰۵$) به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

برای ارزیابی توانمندی واکسن زنده 793B/08IR از آزمایش‌های SN و الایزا استفاده شد. در تفسیر داده‌های آزمایش SN اگر پیامد تلقیح مخلوط ویروس و سرم گرفته شده از جوجه‌های مورد آزمایش در حفره آلانتوئیك تخم‌مرغ‌ها، ویروس با پادتن اختصاصی خنثی شود آن‌گاه ویروس عفونت‌زایی خود را از دست داده و در نتیجه اثری بر روی جنین نخواهد داشت. در صورتی که ویروس خنثی نشود، حضور آن با مشاهده آثار آسیب اختصاصی IBV شامل کوتولگی، پیچ خوردگی و کاهش مشهود رشد جنین تایید خواهد شد. در این آزمایش، سرم خون گروه‌های جوجه سویه Ross-308 ایمن شده با واکسن 793B/08IR و یا واکسن وارداتی توانست ویروس را در نوبت‌های مختلف خون‌گیری خنثی کند (شکل ۱). بر اساس دستورالعمل OIE این شاخص در مورد مخلوط سرم-ویروس همولوگ ممکن است به ۷-۴/۵ هم برسد در حالی که مقادیر برابر و یا کمتر از ۱/۵ اختصاصی سروتیپ نیست. داده‌ها بیانگر این است که در هر دو گروه تیمار شده با واکسن‌های زنده IB در نوبت اول و نیز در واکسیناسیون یادآور، ویروس با پادتن اختصاصی خنثی شده و از NI مناسبی برخوردارند. در آزمایش الایزا، نمونه‌های سرمی با نسبت S/P کمتر از ۰/۱۴۹ یا کمتر (عیارهای ۶۲۴ یا کمتر) به عنوان منفی، بین ۰/۱۹۹-۰/۱۵۰ (عیارهای ۸۳۳-۶۲۵) به عنوان مشکوک، و نمونه‌هایی که این نسبت در آن‌ها بیش از ۰/۲۰۰ (عیارهای ۸۳۴ و بیش از آن) باشد مثبت در نظر گرفته می‌شوند. پیامد تجویز واکسن 793B/08IR عیار مناسبی در جوجه‌های گوشتی واکسینه ایجاد شد. نتایج مشابه در ایمن‌سازی با واکسن وارداتی به دست آمد و اختلاف معنی‌داری ($p<۰/۰۵$) بین دو گروه واکسینه مشاهده نشد (شکل ۲).

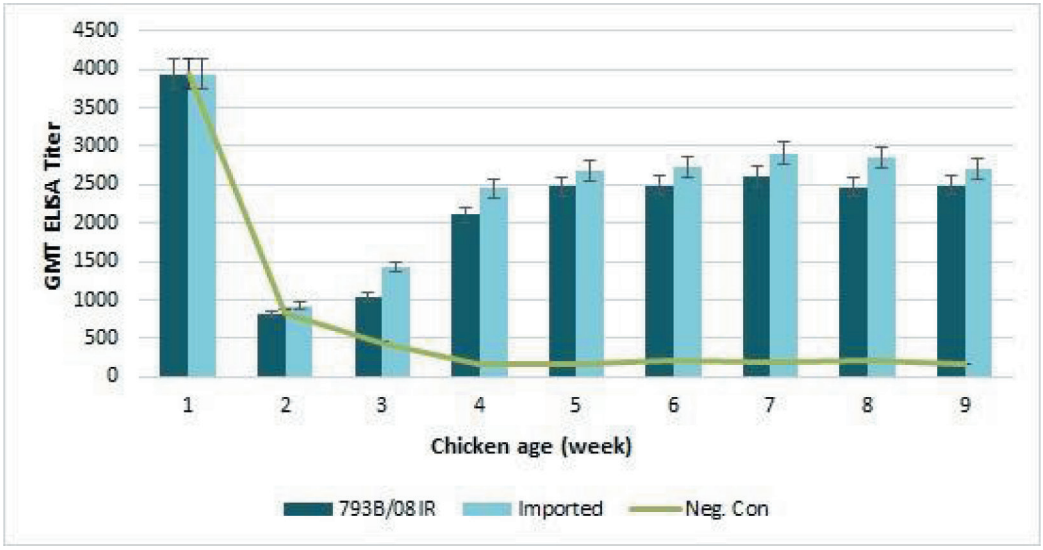
بحث

زیان‌های اقتصادی ناشی از رخداد IB، اغلب به دلیل کاهش تولید در ماکیان تخمگذار و مرگ و میر جوجه‌های گوشتی است. اهمیت اقتصادی



شکل ۲- شاخص خنثی سازی واکسن زنده برونشیت عفونی 793B/08IR تولید موسسه رازی و واکسن وارداتی در نوبت های اول و یادآور واکسیناسیون، و گروه کنترل در جوجه های گوشتی سویه Ross-308 مقایسه شده اند.

این بیماری سبب شد تا در اواسط دهه ۱۹۴۰ اقداماتی برای ایمن‌سازی گله‌های پرورشی و جلوگیری از بروز این بیماری در دوره‌های رشد و تولید تخم‌مرغ پیش‌بینی شود (۳ و ۴). از سال ۱۹۴۵ که تولید واکسن تجاری علیه IB آغاز شد تاکنون بهترین روش پیشگیری و کنترل این بیماری، رعایت اصول دقیق امنیت زیستی و استفاده از واکسن است. با وجود واکسیناسیون گسترده، اغلب شیوع بیماری حتی در گله‌های واکسینه شده نیز روی می‌دهد. وجود سروتیپ‌های متعدد در گردش، حدت ویروس، و ماهیت تغییرپذیر پادگن IBV از عوامل بسیار مهم عدم دستیابی به ایمنی مناسب هستند. همانند سایر RNA ویروس‌ها، خاصیت پادگنی IBV نیز به تدریج با جهش‌های نقطه‌ای تغییر می‌کند. جهش‌ها شامل جایگزینی، حذف و اضافه شدن بازها، مکانیسم‌های اصلی ایجاد تغییر در این ویروس‌ها هستند. این جهش‌های کوچك و پیوسته همراه با تغییرات اسیدآمینه در زیر واحد S1 ویروس به ایجاد واریته‌ای با خاصیت پادگنی جدید منجر می‌شود (۹،۱۸ و ۱۹). از طرف دیگر، بازآرایی یا تبادل قطعات RNA بین دو ویروس متفاوت از نظر ژنوتیپ که یك سلول واحد را آلوده می‌کنند، گاه سبب افزایش یا کاهش توان بیماری‌زایی ویروس، بروز تغییر در پادگن‌های آن، و یا تغییر ماهیت و پدیدار شدن سویه‌های جدید می‌شود. به عنوان مثال، با بررسی فیلوژنی چهار جدایه IBV در اسپانیا اعلام شد که این ویروس‌ها بیشترین همسانی (۸۳/۷-۸۱/۷ درصد) را با ۹۱/۴ و همسانی کمتری با D-274 داشتند و بسیار شبیه سویه Italy02 بودند (۲۰). این ویروس به عنوان جدایه نوترکیب گزارش شده و به نظر می‌رسد تیپ وحشی غالب در غرب اروپا است اگرچه هنوز منشا آن مشخص نیست. احتمالا بروز جهش‌های نقطه‌ای در توالی ژنومی سویه ۴/۹۱ سبب پیدایش این ژنوتیپ جدید شده است. از طرف دیگر هنگامی که برنامه واکسیناسیون علیه یک سروتیپ به طور کامل اجرا شود، اگرچه کنترل بهتری بر روی بیماری اعمال می‌شود اما احتمال بروز انتخاب مثبت بیشتر می‌شود. افزایش تعداد مکان‌های تحت انتخاب مثبت به پیدایش تعداد زیادی شبه گونه و واریته‌های ژنوتیپی منجر خواهد شد. این تنوع ژنتیکی به عنوان یکی از دلایل غالب شدن سروتیپ ۴/۹۱ در انگلستان وسروتیپ Delaware در آمریکا در نظر گرفته شده است (۴). تا دو دهه پیش سویه ماساچوست تنها سروتیپ موجود در ایران گزارش می‌شد اما رخدادهای IB و تعداد موارد رو به افزایش درگیری طیور پرورشی کشور علیرغم واکسیناسیون گسترده ماکیان جوان با واکسن سویه H-120، احتمال حضور سروتیپ‌های دیگر ویروس که همسانی کمی با سویه ماساچوست دارند، را تقویت کرد. براساس مطالعات درباره فراوانی سروتیپ‌های مختلف IBV در گله‌های گوشتی، سروتیپ 793/B در ایران به طور گسترده حضور دارد. اکبری آزاد و همکاران با کشت نمونه‌های بافتی گله‌های گوشتی و تخم‌گذار طی سال‌های ۱۳۸۲-۱۳۷۷ و شناسایی ویروس‌های جدا شده با آزمایش‌های RT-PCR و الگوهای هضم آنزیمی (RFLPs)، حضور سروتیپ ماساچوست و سروتیپ 793/B را تایید کردند (۱۳). نوری و همکاران در سال ۱۳۸۲ وجود این سروتیپ را در گله‌های پرورشی استان فارس اعلام کردند (۱۱). در گزارش اسدپور از پنجاه نمونه مورد بررسی گله‌های گوشتی استان گیلان ۳۲ نمونه (۶۴ درصد) آلوده به IBV بوده و در ۳۱/۲۵ درصد از نمونه‌های مثبت سروتیپ 793/B و در ۶۶/۷۵ درصد سروتیپ ماساچوست شناسایی شده است (۱۵). حسینی علی‌آباد و همکاران وجود این سروتیپ را در موارد تنفسی گله‌های گوشتی استان مازندران در پاییز و زمستان ۱۳۸۹ گزارش کردند (۲۱). غلامی آهنگران و همکاران ۱۸ گله جوجه گوشتی مبتلا به



شکل ۳- مقایسه عیار پادتن سرمی علیه واکسن زنده برونشیت عفونی 793B/08IR تولید موسسه رازی با واکسن وارداتی در جوجه های گوشتی سویه Ross-308 در آزمایش الایزا.

سندرم تنفسی از نقاط مختلف استان چهارمحال و بختیاری که در دوره پرورش از واکسن ۴/۹۱ استفاده نکرده بودند را بررسی کردند. از مجموع ۱۱ سویه IBV شناسایی شده پنج جدایه به سروتیپ 793/B تعلق داشت (۱۴). ارزیابی توالی نوکلئوتیدی چند جدایه سروتیپ 793/B ایران موید این است که این جدایه‌ها تشابه ۹۷/۵ درصدی با یکدیگر، و با جدایه UK/7/91 تشابه نوکلئوتیدی ۹۷/۴ درصد دارند. این جدایه‌ها علیرغم این که ویروس واکسن نیستند دارای ۹۵ درصد تشابه با سویه واکسن زنده و سویه FR/CR8806/88 می باشندکه برای ساخت واکسن زنده CR88 استفاده شده است (۱۹ و ۲۲).

انواع ویروس‌های جدا شده از موارد ابتلا گله‌های پرورشی به سروتیپی متفاوت با سویه واکسن IB تعلق دارند (۲ و ۹). در گردش بودن 793/B این گمان را تقویت می‌کند که این سروتیپ می‌تواند مسوول واگیری IB در گله‌های واکسینه شده و توجیه‌کننده شکست در واکسیناسیون علیه این بیماری باشد. زیرا به دلیل همزمانی وجود سروتیپ‌ها و واریانت‌های متعدد این ویروس که ایمنی متقاطع کمی نسبت به هم دارند، حفاظت کامل علیه این بیماری در گله‌های طیور القا نمی‌شود. بنابراین برای ایمن‌سازی مناسب و تقویت عیار پادتن علیه IBV، انتخاب واکسن متناسب با سروتیپ در گردش از اهمیت زیادی برخوردار است. جداسازی و شناسایی این سروتیپ مقدمه‌ای برای تغییر راهبرد کنترل و پیشگیری علیه IB با طراحی و تولید واکسن با این سویه شد. پیشتر کارایی واکسن 793B/08IR در جوجه‌های SPF با بررسی میزان مصونیت پرندگان واکسینه شده در برابر ویروس حاد مورد ارزیابی قرار گرفته و نشان داده شده بود که این واکسن توانایی تحریک سطح بالایی از ایمنی را دارد (۲۳). در این پژوهش، توانمندی این واکسن در شرایط کنترل شده با انجام آزمایش‌های سرولوژی در جوجه‌های گوشتی سویه Ross-308 بررسی شد. پیامد واکسیناسیون علیه IB پاسخ‌های ایمنی هومورال با پادتن‌های اختصاصی تولید شده توسط سلول‌های پلاسما ترشح‌کننده پادتن که آخرین مرحله از سیر تکامل لنفوسیت‌های B است، ایجاد می‌شود. این فرایند توسط CD4+T کمکی حمایت می‌شود و سایتوکاین‌های مشتق شده از سلول‌های T برای فعال شدن و تمایز هر دوی پاسخ‌های سلول‌های B و CD8+T ضروری هستند. در ایمن‌سازی ابتدا پاسخ IgM اولیه به پیک رسیده و پیش از اینکه پاسخ IgG مشاهده شود کاهش می‌یابد (۲۴). حضور پادتن‌ها در القا پاسخ های ایمنی و مقاومت علیه IBV نقش مهمی ایفا می‌کنند و افزایش میزان آن‌ها در خون علاوه بر جلوگیری از کاهش تولید تخم‌مرغ در انتقال پادتن مادری به جوجه دارای اهمیت است (۲۵). پادتن تولید شده در بدن جوجه از نوع پلی والان است یعنی پرنده علیه تمام پادگن‌های موجود در سطح ویروس پادتن تولید می‌کند که قابل اندازه‌گیری با آزمایش الایزا هستند. بدین ترتیب داده‌های آزمایش الایزا مشخص می‌کند چه مقدار پادتن علیه ویروس در سرم خون گله وجود دارد اما قادر به تعیین سروتیپ ویروس نیست زیرا پروتئین اختصاصی سروتیپ IBV فقط زیر واحد S1 آن است. این زیر واحد به عنوان عامل اصلی تعیین کننده سروتیپ دارای چندین اپی توپ اختصاصی است. بیشتر پادتن‌های خنثی کننده علیه IBV به وسیله تعداد کمی از این اپی توپ‌ها القا می‌شوند. داده‌های شاخص خنثی‌سازی ویروس و نیز روند افزایشی عیار پادتن سرمی در طیور گوشتی تحت آزمایش در شرایط کنترل شده بیانگر این است که واکسن زنده 793B/08IR از توانمندی مناسب علیه این بیماری برخوردار می‌باشد.

نتیجه گیری

به دلیل القا محافظت نسبی سروتیپ ماساچوست در برابر سایر سروتیپ‌ها و نیز در گردش بودن سروتیپ 793/B در ایران، تولید واکسن حاوی این سروتیپ برای ایجاد ایمنی مناسب در گله‌های پرورشی ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی کرج با شماره ۱۲-۱۸-۹۴۵۳-۹۴۰۰۳ انجام شده است.

منابع مورد استفاده

1. Cavanagh D. 2007. Coronavirus avian infectious bronchitis virus. *Veterinary Research* 38:281-297.

2. Cavanagh, D., Gelb, J. 2008. Infectious bronchitis. pp. 117-135, In: Y.M. Saif et al (eds), Diseases of Poultry. 12th ed. Blackwell Publishing, Iowa State University Press, USA, Ames.

3. Cook, J.K., Jackwood, M., Jones, R.C. 2010. The long view: 40 years of infectious bronchitis research. *Avian Pathology* 41:239-50.

4. de Wit, J.J., Cook, J.K.A., van der Heijden, H.M. 2011. Infectious bronchitis virus variants: a review of the history, current situation and control measures. *Avian Pathology* 40: 223–235.

5. Winter ,C., Schwegmann-Wessels, C., Cavanagh, D., Neumann, U., Herrler, G. 2006. Sialic acid is a receptor determinant for infection of cells by avian Infectious bronchitis virus. *Journal of General Virology* 87:1209-1216.

6. Boltz, D.A., Nakai, M., Bahra, J.M. 2004. Avian infectious bronchitis virus: a possible cause of reduced fertility in the rooster. *Avian Diseases* 48:909–915.

7. Schalk, A.F., Hawn, M.C. 1931. An apparently new respiratory disease of baby chicks. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 78:413-422.

8. Britton, P., Evans, S., Dove, B., Davies, M., Casais, R., Cavanagh, D. 2005. Generation of a recombinant avian coronavirus infectious bronchitis virus using transient dominant selection. *Journal of Virological Methods* 123:203–211.

9. Capua, I., Minta, Z., Karpinska, E., Mawditt, K., Britton, P., Cavanagh, D., Gough, R.E. 1999. Co-circulation of four types of infectious bronchitis virus (793/B, 624/I, B1648 and Massachusetts). *Avian Pathology* 28: 587-592.

10. 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 Record*

130:493-494.
11. Nouri, A., Assasi, K., Seifi-abad Shapori, M.R. 2003. Field study of infectious bronchitis virus in broiler using type-specific RT-PCR. *Archives of Razi Institute* 55: 1-10. (In Farsi).
12. Vasfi Marandi, M., Bozorgmehri Fard, M.H. 2001. Isolation and identification of infectious bronchitis viruses in chickens between 1997-2000 in Iran. *Journal of Veterinary Research* 56:119-124. (In Farsi).
13. Akbari Azad, G., Vasfi Marandi, M., Keyvani, H. 2004. Detection of infectious bronchitis viruses by RT-PCR/RFLPs in poultry farms of Iran. *Journal of Veterinary Research* 59:259-264. (In Farsi).
14. Gholami-Ahangaran, M., Shoushtari, A.M., Doosti, A., Fathi Hafshejani, E.A., Zia-Jahromi, N.2012. Detection of infectious bronchitis virus (4/91 type) in broiler chickens in Chahrmahal-va-bakhtiyari province. *Veterinary Journal of Islamic Azad University Tabriz Branch* 6:1534-1537. (In Farsi).
15. Asadpour, L. 2015. Molecular identification of avian infectious bronchitis virus serotypes of broiler chicken in Gilan province. *Journal of Microbial World* 7: 275-281.
16. National Research Council. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 2010. 8 th ed. National Academies Press. Washington DC.
17. Office International des Epizooties. 2013. Infectious bronchitis virus. Chapter 2.3.2. pp: 1-15.
18. McKinley, E.T., Hilt, D.A., Jackwood, M.W. 2008. Avian coronavirus infectious bronchitis attenuated live vaccines undergo selection of subpopulations and mutations following vaccination. *Vaccine* 26:1274-1284.
19. Cavanagh, D., Picault, J.P., Gough, R.E., Hess, M., Mawditt, K., Britton, P. 2005. Variation in the spike protein of the 793/B type of infectious bronchitisvirus, in the field and during alternate passage in chickens and embryonated eggs. *Avian Pathology* 34: 20-25.
20. Dolz, R., Pujols, J., Ordóñez, G., Porta, R., Majó, N. 2006. Antigenic and molecular characterization of isolates of the Italy 02 infectious bronchitis virus genotype. *Avian Pathology* 35:77-85.
21. Hosseini Aliabad, S.A., Momayez, R., Mahmodzadeh, M., Yousefi Amin, A. 2013. Detection of 793/B serotype of infectious bronchitis virus from broiler flocks with respiratory infection signs in west of Mazandaran province. *Journal of Veterinary Clinical Research* 4:91-97. (In Farsi).
22. Jackwood, M.W., Hilt, D. A., Lee, C-W., Kwon, H.M., Callison, S.A., Moore, K.M., Moscoso, H., Sellers, H., Thayer, S. 2005. Data from 11 years of molecular typing infectious bronchitis virus field isolates. *Avian Diseases* 49: 614–618.
23. Khalesi, B., Masoudi, S., Ebrahimi, M.M., Pishraft Sabet, L. 2017. Efficacy evaluation of Razi infectious bronchitis live attenuated B08IR/793 vaccine strain. *Veterinary Researches and Biological Products* 118: 40-47. (In Farsi).
24. Pei, J., Briles, E., Colisson, E.W. 2003. Memory T cells protect chicks from acute infectious bronchitis virus infection. *Virology* 306:376- 384.
25. Mondal, S.P., Naqi, S.A. 2001. Maternal antibody to infectious bronchitis virus: its role in protection against infection and development of active immunity to vaccine. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 79:31-40.