DOI: 10.22092/vj.2019.124316.1528
شماره ۱۲۷ تابستان ۱۳۹۹
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

بررسی پاسخ سرمی واکسن برونشیت عفونی طیور سویه H-120 تولید موسسه رازی در مقایسه با واکسن وارداتی در جوجه‌های گوشتی

• **لیلا پیشرفت ثابت (نویسنده مسئول)**
مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **شهین مسعودی**
مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **علیرضا باهنر**
گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران- ایران
• **شهلا شاهسوندی**
مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
• **بهمن خالصی**
مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران
تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۰۹-۰۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸-۰۲-۰۷
Email: l.sabet@rvsri.ac.ir

چکیده

برونشیت عفونی یک بیماری حاد و بسیار مسری در ماکیان می‌باشد که منجر به زیان‌های مالی فراوانی در صنعت طیور می‌شود. انواع واکسن‌های کشته و زنده تخفیف حدت یافته حاوی سروتیپ‌های مختلف ویروس (از جمله H-120) به طور وسیع برای کنترل بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرد. واکسن‌ها باید به طور دوره‌ای در جوجه‌های واکسینه شده مورد ارزیابی قرار گیرند. هدف از این مطالعه، ارزیابی پاسخ‌های سرمی نسبت به تجویز واکسن زنده برونشیت عفونی طیور سویه H-120 تولید موسسه رازی در جوجه‌های صنعتی گوشتی و مقایسه آن با نتایج حاصل از واکسن تجاری وارداتی مشابه بود. برای این منظور، یک واحد پرورش مرغ گوشتی با دو سالن مجزا انتخاب شد. جوجه‌ها در هر سالن با یکی از واکسن‌های IBV موسسه رازی و وارداتی مایه‌کوبی شدند. از ۲۰ جوجه هر سالن به‌طور جداگانه در فواصل زمانی ۴، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ روز پس از مایه‌کوبی خون‌گیری شد. پاسخ‌های سرمی القاء شده علیه IBV در جوجه‌های مایه‌کوبی شده با آزمایش‌های الایزا و خنثی‌سازی سرمی (SN) اندازه‌گیری شدند. در این مطالعه، تفاوت معنی‌داری در عیار آنتی‌بادی الایزا مابین دو گروه مایه‌کوبی شده با واکسن H-120 مؤسسه رازی و واکسن وارداتی در هیچ کدام از نوبت‌های خونگیری مشاهده نگردید. نتایج آزمایش خنثی‌سازی سرم نیز تأیید کننده داده‌های آزمایش الایزا بود. نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که واکسن IBV سویه H-120 تولید موسسه رازی همانند واکسن وارداتی مشابه (شرکت CEVA) از توانمندی لازم برای ایجاد پاسخ ایمنی در گله‌های گوشتی برخوردار است.

کلمات کلیدی: برونشیت عفونی، واکسن، سویه H-120 پاسخ سرمی، جوجه گوشتی

Veterinary Researches & Biological Products No 127 pp: 21-28

Evaluation of serum response of RAZI H-120 infectious bronchitis virus vaccine compared to imported vaccine in broiler chickens

By: Pishraft-Sabet, L., (Corresponding Author) Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. Masoudi, Sh., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. bahonar, A., Department of Food Hygiene & Quality Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran. Shahsavandi. Sh., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran. and Khalesi, B., Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

Received: 2018-11-28 **Accepted: 2019-04-27**

Email: l.sabet@rvsri.ac.ir

Infectious bronchitis is an avian acute and highly contagious disease that causes heavy economic losses in poultry industry. Inactivated and live attenuated vaccines containing different virus serotypes (e.g. H-120) are widely used to control the disease. These vaccines should be periodically evaluated in the vaccinated chickens. The purpose of this study was to evaluate the serum responses following administration of Razi infectious bronchitis virus (IBV) H-120 strain vaccine and compare them with the results of the same commercial imported vaccine. In this case, a farm of broiler chickens includes two poultry house was selected. The groups of chickens in each house were administrated with one of the imported or RAZI IBV vaccines. Twenty chickens per group were bleeded at 4, 10, 20, 30 and 40 days after vaccination. The induced serum responses against IBV were evaluated in vaccinated chickens by ELISA and serum neutralization (SN) tests. In this research, no significant differences were found in ELISA antibody titer between the two groups that vaccinated with Razi H-120 vaccine and similar imported vaccine (CEVA Company) in any of the blood transfusion episodes. The results of the serum neutralization test confirmed the ELISA data. The result of this study was showed that IBV H-120 Razi vaccine, like the same imported vaccine, has potency to induce immunity in broiler flocks.

Key words: Infectious bronchitis, vaccine, H-120, Antibody response, Broiler chicken

مقدمه

برونشیت عفونی (IB) طیور یک بیماری حاد بسیار مسری بخش فوقانی دستگاه تنفسی پرندگان است که با واگیری شدید در تمام سنین و تلفات بالا در جوجه‌های کمتر از ۶ هفته تظاهر می‌یابد و از نظر اقتصادی از اهمیت زیادی برخوردار است. عامل اتیولوژی این بیماری ویروس برونشیت عفونی طیور (IBV) از خانواده کروناویروس‌ها می‌باشد. این ویروس منجر به بیماری تنفسی می‌شود اما در سطح اپیتلیال غیر تنفسی مثل کلیه‌ها و گنادها نیز تکثیر پیدا می‌کند و منجر به آسیب در آن‌ها می‌شود (۲). سویه‌های این ویروس از نظر بیماری‌زایی در اعضای غیر تنفسی متفاوت هستند. تکثیر ویروس در سطوح گوارشی منجر به علایم بالینی نمی‌شود، اگر چه منجر به دفع ویروس از راه مدفوع می‌گردد (۴). نوترکیبی از ویژگی‌های تکثیر کروناویروس‌ها است که منجر به تکامل IBV و سایر ویروس‌های این خانواده می‌شود (۱, ۵). با استفاده از آزمایش‌های خنثی‌سازی سرمی وجود سروتیپ‌های مختلف IBV تایید شده است (اخیراً ۱۲ تا می‌باشد) و مطالعات نشان داده‌اند که مابین این سروتیپ‌ها حفاظت ایمنی محدودی وجود دارد (۱۰, ۱۴).

مشکلات اقتصادی به بار آمده در نتیجه عفونت با ویروس IB، به عوامل مختلفی بستگی دارد از جمله سویه ویروس، سن جوجه در عفونت، تغذیه و عوامل درونی و بیرونی محیط زندگی پرندگان مثل میزان آمونیاک و دمای هوا. بهترین روش کنترل و پیشگیری بیماری برونشیت عفونی، بر رعایت دقیق اصول امنیت زیستی از طریق اقدامات پیشگیرانه، کنترل و جلوگیری از گسترش عوامل بیماری‌زا در یک واحد مرغداری و همچنین استفاده از واکسن استوار است. از آنجایی‌که ویروس IB به سرعت در محیط پخش می‌شود، در مناطق دارای مزارع طیور متعدد، دور نگه‌داشتن جوجه‌ها از این عامل ویروسی تقریباً غیرممکن است. در نتیجه انجام

واکسیناسیون ضروری به نظر می‌رسد (۹).
برای پیشگیری از شیوع IBV در طیور صنعتی استفاده از واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته و کشته روغنی تهیه شده با سویه‌های ماساچوست در اکثر کشورهای جهان متداول است. در جوجه‌های گوشتی معمولا از واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته استفاده می‌شود. در گله‌های تخم‌گذار و مادر نیز علاوه بر استفاده از واکسن‌های کشته روغنی قبل از شروع مرحله تخم‌گذاری، از واکسن‌های زنده در اوایل زندگی نیز استفاده می‌گردد (۸). افزایش میزان آنتی‌بادی در خون مادر علاوه بر جلوگیری از کاهش تولید تخم‌مرغ، از نظر انتقال آنتی‌بادی مادری به نتاج نیز حائز اهمیت است. واکسن‌های زنده در تحریک ایمنی سلولی و موضعی مخاطی نقش مهم‌تری ایفاء می‌کنند. با توجه به اینکه هنوز سروتیپ ماساچوست متداول‌ترین سروتیپ در جهان است، اکثر گله‌های طیور در آغاز زندگی (۵- ۱ روزه) با این سروتیپ مایه‌کوبی می‌شوند (۶).
پس از انجام واکسیناسیون مناسب علیه IBV ایمنی در پرنده ایجاد می‌شود که در صورت آلودگی با ویروسی با سروتیپ همولوگ (ویروسی همسان با سروتیپ واکسن) پاسخ آنتی‌بادی ثانویه در پرنده ایجاد می‌شود که منجر به کنترل بیماری می‌شود (۱۲, ۱۹). پاسخ ایمنی هومورال در پاسخ به واکسیناسیون از طریق اندازه‌گیری میزان آنتی‌بادی در سرم و همچنین در ترشحات اشکی با استفاده از آزمایش‌های الایزا، خنثی‌سازی سرم (SN) و یا ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) انجام می‌شود (۳, ۱۱). پروفایل آنتی‌بادی سرم بستگی به روشی دارد که برای تشخیص مورد استفاده قرار گرفته است. به‌دنبال عفونت با سویه بیماری‌زای IBV، آنتی‌بادی اختصاصی علیه ویروس توسط آزمایش‌های HI، SN و الایزا شناسایی می‌شود (۱۷).
در حال حاضر، واکسن IBV سویه H-۱۲۰ (ماساچوست) به طور گسترده برای کنترل بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرد. واکسیناسیون از راه‌های مهم کنترل بیماری محسوب می‌شود و بهترین راه برای ارزیابی اثربخشی واکسن و راهبردهای کنترلی، پایش مداوم و ارزیابی پاسخ ایمنی ایجاد شده در طیور واکسینه شده می باشد که به طور دوره ای باید انجام شود. این مطالعه به منظور ارزیابی پاسخ سرمی واکسن برونشیت عفونی طیور سویه H-120 تولید موسسه رازی در گله گوشتی در مقایسه با واکسن تجاری وارداتی مشابه (شرکت CEVA) طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

گله تحت آزمایش

یک واحد پرورش مرغ گوشتی در استان البرز، شهرستان کرج با دو سالن در نظر گرفته شد. پاکسازی و ضدعفونی جایگاه طیور پس از تخلیه سالن‌ها از گله قبلی با Virkon S، Percidin و TH4 انجام شد. تعداد ۶۶۰۰ قطعه جوجه گوشتی یک روزه سویه Cobb۵۰۰ به طور تصادفی در دو سالن، هر سالن ۳۳۰۰ جوجه تقسیم شدند. سن گله مادر ۳۸ هفته بود. شرایط یهینه نگهداری جوجه‌ها در طی دوره آزمایش شامل دریافت آب و غذای کافی و مناسب رعایت شد. تغذیه هر دو سالن جوجه‌ها به طور یکسان انجام شد.
واکسن‌ها مطابق دستورالعمل شرکت‌های سازنده (موسسه رازی و شرکت خارجی) مورد استفاده قرار گرفتند. مایه‌کوبی علیه ویروس برونشیت عفونی طیور با واکسن IBV سروتیپ H-120 در یک روزگی از طریق اسپری انجام شد به گونه ای که هر پرنده حداقل یک دز واکسن را دریافت کند. در سالن ۱ واکسن H-120 تولید موسسه رازی و در سالن ۲ واکسن H-120 تجاری شرکت CEVA (Cevac® IBron) مورد استفاده قرار گرفت. خلاصه برنامه واکسیناسیون در جدول ۱ آمده است.

نمونه‌گیری

۲۰ قطعه از پرندگان هر سالن به طور تصادفی انتخاب شدند و در روزهای ۴، ۱۰، ۲۰، ۳۰ و ۴۰ بعد از مایه‌کوبی با واکسن برونشیت عفونی سویه H-120 خون‌گیری انجام شد. از ورید بال هر پرنده یک میلی‌لیتر خون گرفته شد. نمونه خون در داخل سرنگ به مدت یک ساعت در

جدول ۱- برنامه مایه کوبی جوجه های گوشتی تحت آزمایش

سن جوجه (روزگی)	نام واکسن	روش مایه کوبی
در جوجه کشی	ND+AI	تزریقی
۱	IB	اسپری
۱۰	ND-B1	آشامیدنی
۱۲	IBD	تزریقی
۱۸	ND	آشامیدنی
۲۱	IBD	تزریقی
۳۰	Clone30	آشامیدنی

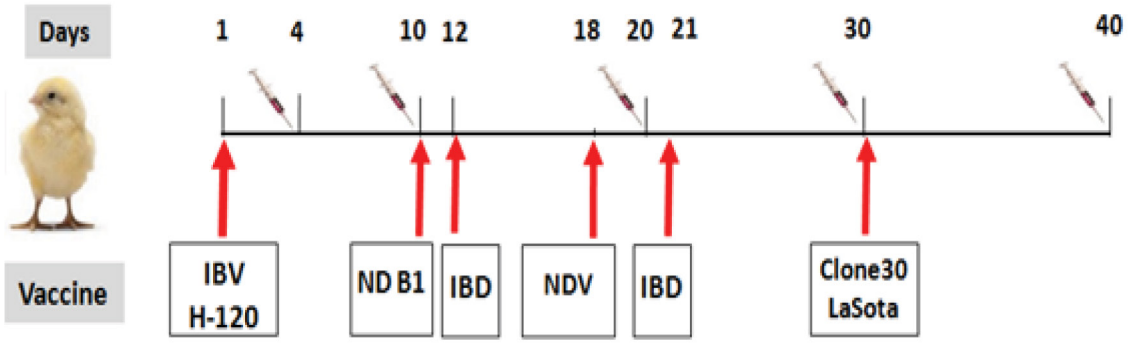
انکوباتور ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا سرم آن جدا شود. سپس سرم‌ها به طور جداگانه به میکروتیوب منتقل شدند. نمونه‌های سرم پس از جداسازی تا زمان انجام آزمایش‌های الایزا و خنثی‌سازی سرم به طور جداگانه در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. دیاگرام زمان خونگیری از جوجه‌ها در شکل ۱ خلاصه شده است.

آزمایش ELISA

برای انجام آزمایش الایزا بر روی نمونه‌های سرم، از کیت اندازه گیری آنتی بادی الایزای برونشیت عفونی طیور (IDEXX IBV Ab Test، USA) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده استفاده شد. ابتدا جذب نوری (OD) نمونه‌های مورد آزمایش تعیین گردید. میزان عیار آنتی بادی نمونه‌های سرمی با توجه به OD کنترل مثبت و منفی تعیین گردید. مطابق دستورالعمل کیت، عیار آنتی‌بادی مساوی یا بالاتر از ۳۹۶ مثبت در نظر گرفته شد.

آزمایش خنثی‌سازی سرم (SN)

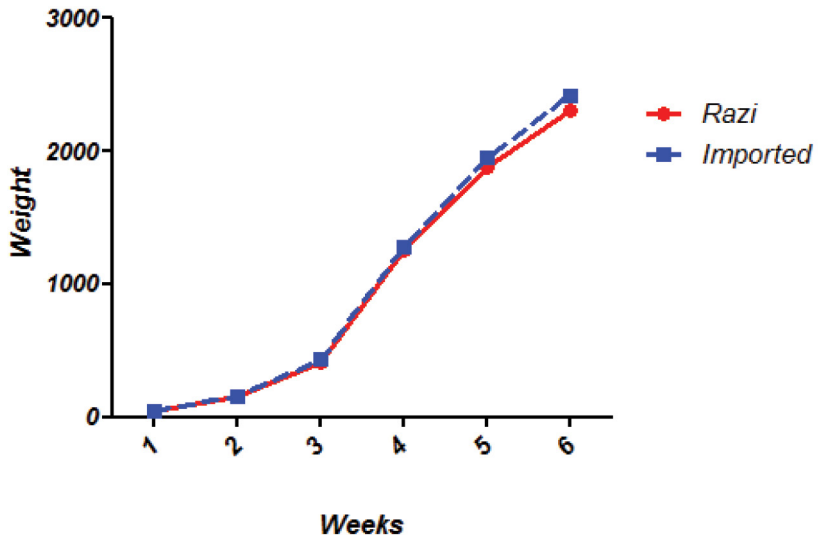
ارزیابی میزان آنتی‌بادی برونشیت عفونی و تعیین اندیس سرم (Neutralization index = NI) با روش خنثی‌سازی سرم (روش آلفا) در تخم‌مرغ SPF جنین‌دار ۱۰ روزه انجام شد (۱). به‌طور خلاصه، حجم مساوی از رقت‌های ده‌تایی (مبنای log ۱۰) ویروس برونشیت عفونی طیور سویه بودت (Beaudette) با سرم جوجه‌ها مخلوط گردید. مخلوط‌های ویروس و سرم پس از ۴۵ دقیقه انکوباسیون در دمای آزمایشگاه (حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد) به داخل حفره آلانتوئیک پنج عدد تخم مرغ SPF جنین‌دار ۱۰ روزه تلقیح گردید. همزمان عیارسنجی ویروس IBV سویه بودت نیز به طور جداگانه انجام شد. وضعیت جنین تخم‌مرغ‌ها از نظر زنده یا مرده بودن به مدت یک هفته به طور روزانه بررسی و ثبت شدند. در پایان روز هفتم اندیس سرم (NI) با کسر عیار مخلوط سرم با ویروس از عیار ویروس و با استفاده از فرمول کربر محاسبه شد (۱, ۲۳). فرمول کربر به قرار زیر است:



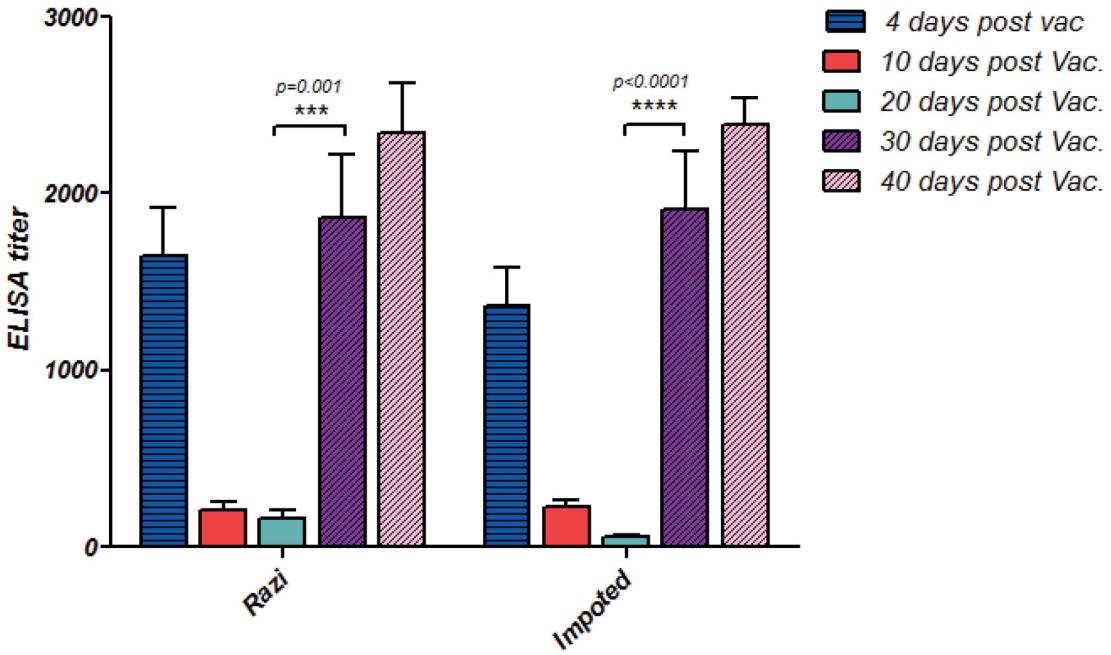
شکل ۱- برنامه زمان‌بندی مایه‌کوبی و نمونه‌گیری برای ارزیابی پاسخ سرمی. فلش‌ها زمان واکسیناسیون جوجه‌ها را نشان می‌دهد. علامت نشاندهنده روز خونگیری از جوجه‌ها می‌باشد.

جدول ۲- نتایج اندیس خنثی سازی سرم علیه ویروس برونشیت عفونی طیور در گروه های تحت آزمایش

سن جوجه (روز)	اندیس خنثی سازی (NI)	
	سالن ۱ (واکسن رازی)	سالن ۲ (واکسن تجاری وارداتی)
۴	۵/۸	۵/۸
۱۰	۴/۸	۴/۶
۲۰	۲	۲/۳۵
۳۰	۳/۸	۳/۸
۴۰	۴/۸	۵



شکل ۲- نمودار مقایسه میانگین وزن جوجه‌های مایه‌کوبی شده با واکسن رازی (Razi) و واکسن تجاری وارداتی (Imported)



شکل ۳ - منحنی میزان آنتی بادی علیه IB با آزمایش الایزا در دو گروه جوجه‌های مایه کوبی شده با واکسن IBV سویه H-۱۲۰ تولید موسسه رازی (RAZI) و واکسن تجاری وارداتی (Imported) در پنج نوبت خونگیری پس از واکسیناسیون (post vac). نتایج به صورت میانگین ± انحراف معیار نشان داده شده است. * نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه ها می باشد. (****: p<۰,۰۰۰۱، ***: p<۰,۰۰۱).

$$EID\ 50 = X + 1/2\ d - d\Sigma\ r1/n$$

X = آخرین رقت آزمایش
D = فاصلة لگاریتمی بین رقت های متوالی
$\sum r^1$= تعداد کلی جنین های عفونی
n = تعداد جنین های تلقیح شده در هر رقت

روش آماری

برای ارزیابی‌های آماری و رسم منحنی از نرم‌افزار GraphPad Prism نسخه ۵ استفاده شد. تحلیل آماری با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه ANOVA و تست تکمیلی Tukey انجام شد. p value کمتر یا مساوی ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

وضعیت بالینی جوجه‌های مورد مطالعه

در طول دوره مورد مطالعه، گله از نظر علایم بالینی و مشکلات احتمالی تحت کنترل بودند. در طول دوره رشد، جوجه‌ها از سلامت کامل برخوردار بودند. در پرندگان هیچ‌گونه عوارض بیماری به ویژه علایم تنفسی مشاهده نشد. میزان تلفات کل دوره در دو سالن ۱ و ۲ به ترتیب ۸/۳ و ۶/۷ درصد بود. در میانگین وزن پرندگان دو سالن در طول دوره پرورش اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. نمودار میانگین وزن پرندگان دو سالن در طول دوره در شکل ۲ آمده است.

میزان آنتی‌بادی علیه IBV با آزمایش خنثی‌سازی سرم

میزان آنتی‌بادی سرمی علیه ویروس IB در جوجه‌های گوشتی مایه‌کوبی شده در سالن‌های ۱ (واکسن موسسه رازی) و ۲ (واکسن وارداتی) در فواصل زمانی ۴، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ و ۴۰ روز پس از واکسیناسیون با H-120 با آزمایش خنثی‌سازی سرم مورد ارزیابی قرار گرفت. طبق OIE اندیس خنثی‌سازی (NI) بیشتر یا مساوی ۱/۵ مثبت در نظر گرفته می‌شود.
نتایج این مطالعه نشان داد که در طول دوره پرورش جوجه‌های هر دو سالن واکسن رازی و واکسن وارداتی NI بالای ۱/۵ داشتند. NI هر دو گروه تا ۲۰ روزگی کاهش یافت اما این عیار همچنان در حد قابل قبول بود. سپس NI در دو گروه تا انتهای دوره روند افزایش داشت، به طوری که در انتهای دوره در ۴۰ روزگی این اندیس در پرندگان هر دو سالن به بالاترین میزان خود رسید. در طول دوره اختلاف قابل توجهی در اندیس خنثی‌سازی بین دو گروه مشاهده نگردید. نتایج اندیس خنثی‌سازی سرم در دو سالن در جدول ۲ آمده است.

میزان آنتی‌بادی علیه IBV با آزمایش الایزا

میزان آنتی‌بادی سرمی علیه IBV در جوجه‌های واکسینه شده در هر دو سالن ۱، ۲ در پنج نوبت بعد از دریافت H-120 واکسن با آزمایش الایزا اندازه‌گیری شد. نتایج این بررسی نشان داد که در هر پنج نوبت بعد از واکسیناسیون اختلاف معنی‌داری در میانگین عیار آنتی‌بادی الایزای دو گروه مایه‌کوبی شده با واکسن برونشیت عفونی طیور تولیدی مؤسسه رازی و واکسن وارداتی مشاهده نشد ($p>0/05$).

میانگین عیار آنتی‌بادی علیه IBV در جوجه‌های دو سالن ۱ و ۲ در سن ۴ روزگی به ترتیب ۱۳۳۱ و ۱۰۱۸ بود. عیار این آنتی‌بادی در جوجه‌های دو سالن تا سن ۲۰ روزگی به تدریج کاهش یافت. در ۳۰ روزگی میانگین عیار آنتی‌بادی در سالن واکسن‌های رازی و وارداتی افزایش یافته و مقادیر آن به ترتیب به ۱۳۴۵ و ۱۳۸۰ افزایش یافت که به طور معنی‌داری نسبت به عیار آنتی‌بادی در همان سالن‌ها در ۲۰ روزگی بالاتر بوده است (p value به ترتیب ۰/۰۰۰۱> و ۰/۰۰۱). در انتهای دوره در ۴۰ روزگی عیار آنتی‌بادی در هر دو سالن به بالاترین میزان خود رسید به طوری که صد درصد جوجه‌ها در این روز از نظر آنتی‌بادی برای برونشیت عفونی طیور مثبت بودند. نمودار مقایسه میانگین عیار آنتی‌بادی در دو گروه واکسینه شده در شکل ۳ آمده است.

بحث و نتیجه‌گیری

بیش از نیم قرن است که واکسیناسیون به عنوان یک راهکار مهم در کنترل و پیشگیری از بیماری IB محسوب می‌شود. دو واکسن زنده و کشته شده در ایمن‌سازی جوجه‌ها علیه IBV بکار می‌رود. واکسن‌های زنده در انواع جوجه‌های گوشتی و برای واکسیناسیون اولیه پولت‌های تخم‌گذار و نتاج استفاده می‌شود. سویه‌های واکسن مورد استفاده در هر کشور برای پیشگیری از بیماری نشان دهنده طیف آنتی‌ژنیک ایزوله‌های یک منطقه یا کشور است. از آنجایی که جدایه‌های اولیه ویروس برونشیت عفونی در بسیاری از کشورها ماساچوست می باشند، سویه های این سروتیپ ویروسی از جمله H-120 به طور وسیع در بسیاری از کشورها از جمله ایران به عنوان واکسن استفاده می شود (۱۳).
واکسیناسیون منجر به القاء پاسخ ایمنی ذاتی و اکتسابی در جوجه‌ها می‌گردد. ایمنی اکتسابی منجر به فعال شدن مکانیسم‌های ایمنی اختصاصی آنتی‌ژن از جمله پاسخ ایمنی هومورال، ایمنی سلولی و ماکروفاژها و تولید سلولی‌های ایمنی خاطره می شود. هر دو پاسخ ایمنی سلولی و هومورال در کنترل بیماری برونشیت عفونی طیور نقش دارند. آنتی‌بادی‌های IgA و IgG تولید شده علیه IBV در مجاری تنفسی و گوارشی نقش مهمی در حفاظت بخشی علیه ویروس IB دارند. مطالعات واکسیناسیون و ارزیابی حفاظت بخشی آن، اغلب به پاسخ‌های ایمنی هومورال و ارتباط آن با حفاظت بخشی متمرکز می‌شود (۳). نقش ایمنی سلولی نیز در حفاظت بخشی علیه IBV عنوان شده است (۷, ۲۰). پاسخ‌های سرولوژیکی ایجاد شده توسط عفونت با یک ویروس زنده از جمله IBV به تکثیر آن ویروس در بافت هدف در میزبان بستگی دارد (۱۶).
اندازه‌گیری میزان آنتی‌بادی سرمی علیه IBV برای تعیین پروفایل آنتی‌بادی در جوجه‌ها توصیه شده است (۲۰) و بدین طریق ارزیابی آنتی‌بادی سرمی به عنوان راهکاری ساده برای برآورد کارآیی واکسن‌ها استفاده می‌شوند دکتر حسینی و همکارانش در سال ۱۳۹۳ ارزیابی ایمنی‌زایی واکسن تجاری برونشیت عفونی سویه H-120 (BRONIPRA-I)) در مقایسه با واکسن H-120 رازی را در یک گله گوشتی انجام دادند. نتایج آنها نشان داد که جوجه‌های واکسینه شده با واکسن BRONIPRA-I از نظر میانگین عیار آنتی‌بادی الایزا با جوجه‌های واکسینه شده با H-120 ساخت موسسه رازی اختلاف معنی‌داری نداشتند

(۱۵). در سال ۱۳۷۹ ولی‌نژاد و همکاران واکسن برونشیت سویه H-120 را در گله‌های گوشتی شهرستان مشهد مورد ارزیابی قرار دادند. از دو گله که در طول دوره پرورش علایم بیماری برونشیت عفونی در آنها دیده شد و دو گله بدون بروز علایم بیماری، در انتهای دوره پرورشی در سن ۴۱ روزگی خونگیری کردند و تیتر آنتی‌بادی علیه برونشیت عفونی را با روش الایزا اندازه گیری کردند. این گله‌ها در طول دوره پرورش واکسن برونشیت سویه H-120 را دریافت کرده بودند. با توجه به افزایش معنی‌دار عیار آنتی‌بادی در گروهی که به بیماری برونشیت مبتلا شده بودند، عنوان کردند که احتمالا عامل ایجاد بیماری سویه‌ای غیر از سویه واکسن H-120 (سویه ماساچوست)می باشد که شناسایی سویه‌ها و ساخت واکسن مطابق سویه‌های در گردش را ضروری دانستند (۲۲). شیرزاد و همکارانش در سال ۲۰۱۲ اثربخشی برنامه واکسیناسیون با دو واکسن IBV سویه‌های H-120 و ۴/۹۱ را در جوجه‌های گوشتی و به دنبال آن چالش با ویروس حاد IRFIB32 را مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج آنها نشان داد که واکسیناسیون با واکسن IBV حفاظت بهتری در مقابل چالش با سویه همولوگ ایجاد می‌کند (۲۱). مطالعه حاضر، با هدف ارزیابی پاسخ سرمی واکسن برونشیت عفونی طیور سویه H-120 ساخت مؤسسه رازی و مقایسه آن با واکسن خارجی مشابه در گله گوشتی طراحی گردید. برای این منظور دو آزمون سرولوژیکی SN و الایزا مورد استفاده قرار گرفت.

در این مطالعه، میزان آنتی‌بادی‌های سرمی علیه IBV تا سن ۲۰ روزگی در پرندگان هر دو سالن دریافت‌کننده واکسن موسسه رازی و واکسن وارداتی کاهش یافت. در آزمایش خنثی‌سازی سرمی، کاهش عیار آنتی بادی به طور مشابه تا ۲۰ روزگی در هر دو سالن مشاهده گردید اگرچه این عیار در پرندگان هر دو سالن درحد قابل قبول بود. کاهش میزان آنتی‌بادی تا ۲۰ روزگی بنظر می‌رسد در نتیجه کاهش عیار آنتی‌بادی مادری باشد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که آنتی‌بادی مادری گاهی می‌تواند به مدت ۵-۳ هفته از ایجاد پاسخ ایمنی توسط مایه‌کوبی زود هنگام جلوگیری نماید (۱۸). عیار آنتی‌بادی مادری به تدریج رو به کاهش گذاشته و به دنبال آن گردش ویروس‌های واکسن و تکثیر آنها در بافت هدف منجر به افزایش پاسخ ایمنی و عیار آنتی‌بادی می‌شود. در این مطالعه، سه هفته پس از مایه کوبی، میزان آنتی‌بادی روند افزایشی داشته است، به طوری که در ۳۰ روزگی میانگین میزان آنتی‌بادی الایزا به طور معنی‌داری نسبت به دوره قبل (۲۰ روزگی) در هر دو گروه افزایش داشت (در گروه واکسن رازی و واکسن تجاری وارداتی، p به ترتیب ۰/۰۰۰۱> و ۰/۰۰۱). در انتهای دوره پرورش (در ۴۰ روزگی) در هر دو سالن میانگین میزان آنتی‌بادی سرمی به بالاترین میزان خود در طول دوره پرورش افزایش یافت. روند کاهشی عیار آنتی‌بادی علیه IBV تا سن ۳-۲ هفتگی در جوجه‌های مایه کوبی شده، اهمیت رعایت دقیق اصول بهداشتی و امنیت زیستی در پیشگیری از این بیماری در مزارع پرورش طیور بیشتر مشخص می‌شود تا از تبعات بعدی مواجه شدن با ویروس جلوگیری گردد.

نتایج این بررسی نشان داد که میانگین عیار آنتی‌بادی علیه IBV در هر پنج نوبت بعد از واکسیناسیون، اختلاف معنی‌داری مابین دو گروه مایه‌کوبی شده با واکسن IBV تولید مؤسسه رازی و واکسن مشابه وارداتی مشاهده نشد (p>۰/۰۵). بدین‌طریق، متعاقب انجام آزمایش ELISA برروی سرم‌های اخذ شده، نتایج بدست آمده نشان داد که هر دو واکسن موسسه رازی و واکسن وارداتی از نظر توانایی القای تولید آنتی‌بادی علیه ویروس IB در طیور یکسان هستند.

بررسی حاضر نشان داد که مایه کوبی با واکسن برونشیت عفونی طیور موسسه رازی می‌تواند آنتی‌بادی مناسبی را در گله گوشتی ایجاد نماید و از این نظر مشابه واکسن خارجی عمل می‌کند. نتایج نشان داد که از نظر توانایی ایجاد حفاظت قابل قبول علیه بیماری برونشیت، جوجه‌هایی که واکسن موسسه رازی را دریافت کرده بودند نسبت به آنهایی که واکسن وارداتی را دریافت کرده بودند سطح آنتی‌بادی مشابهی داشتند. برآیند نتایج بدست آمده بیان کننده این است که واکسن زنده IBV سویه H-120 تولید مؤسسه رازی گزینه مناسبی در برنامه‌های کنترل و پیشگیری بیماری برونشیت می‌باشد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش حاصل پروژه تحقیقاتی با کد ۹۳۱۲۹-۱۸-۱۸-۲ می‌باشد که با حمایت مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی اجرا شده است. از همکاران محترمی که در انجام این پژوهش ما را یاری دادند، به‌ویژه آقای دکتر بشاشتی صمیمانه تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع مورد استفاده

1- Avian Infectious Bronchitis. (2013). In: Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. Office International Des Epizooties, P., France. Chapter 2.3.2. p.1-15. OIE.

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

3- Cavanagh, D. 2003. Severe acute respiratory syndrome vaccine development: experiences of vaccination against avian infectious bronchitis coronavirus. *Avian Pathol* 32: 567-582.

4- Cavanagh, D. 2005. Coronaviruses in poultry and other birds. *Avian Pathol* 34: 439-448.

5- Cavanagh, D., K. Mawditt, P. Britton and C. Naylor. 1999. Longitudinal field studies of infectious bronchitis virus and avian pneumovirus in broilers using type-specific polymerase chain reactions. *Avian Pathology* 28: 593-605.

6- Cavanagh, D. and N. S. Infectious bronchitis, in: Mark W. Jackwood and Sjaak de Wit, Diseases of poultry, Iowa, 11th edition, Ames, Iowa State University Press, 2013, pp. 201–230.

7- Chhabra, R., A. Forrester, S. Lemiere, F. Awad, J. Chantrey and K. Ganapathy. 2015. Mucosal, cellular, and humoral immune responses induced by different live infectious bronchitis virus vaccination regimes and protection conferred against infectious bronchitis virus Q1 strain. *Clinical and Vaccine Immunology* 22: 1050-1059.

8- Cook, J., J. Chesher, W. Baxendale, N. Greenwood, M. Huggins and S. Orbell. 2001. Protection of chickens against renal damage caused by a nephropathogenic infectious bronchitis virus. *Avian Pathology* 30: 423-426.

9- Cook, J. K., M. Jackwood and R. Jones. 2012. The long view: 40 years of infectious bronchitis research. *Avian Pathology* 41: 239-250.

10- Cook, J. K., S. J. Orbell, M. A. Woods and M. B. Huggins. 1999. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. *Avian Pathol* 28: 477-485.

11- De Wit, J. 2000. Detection of infectious bronchitis virus. *Avian Pathology* 29: 71-93.

12- De Wit, J., J. Nieuwenhuisen-van Wilgen, A. Hoogkamer, H. Van De Sande, G. Zuidam and T. Fabri. 2011. Induction of cystic oviducts and protection against early challenge with infectious bronchitis virus serotype D388 (genotype QX) by maternally derived antibodies and by early vaccination. *Avian Pathology* 40: 463-471.

13- Fabricant, J. 1998. The early history of infectious bronchitis. *Avian Dis* 42: 648-650.

14- Gelb Jr, J., Y. Weisman, B. S. Ladman and R. Meir. 2005. S1 gene characteristics and efficacy of vaccination against infectious bronchitis virus field isolates from the United States and Israel (1996 to 2000). *Avian Pathol* 34: 194-203.

15- Hosseini, H., G. Akbari-Azad and A. Bahonar. 1393. Evaluation of BRONIPRA-I Infectious Bronchitis Live Vaccine in the Prevention of Poultry Infectious Bronchitis in broiler flocks: Faculty of Veterinary Medicine. University of Tehran.

16- McKinley, E. T., D. A. Hilt and M. W. Jackwood. 2008. Avian coronavirus infectious bronchitis attenuated live vaccines undergo selection of subpopulations and mutations following vaccination. *Vaccine* 26: 1274-1284.

17- Mockett, A. and J. Darbyshire. 1981. Comparative studies with an enzyme□linked immunosorbent assay (ELISA) for antibodies to avian infectious bronchitis virus. *Avian Pathology* 10: 1-10.

18- Mondal, S. and S. Naqi. 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.

19- Pei, J., W. E. Briles and E. W. Collisson. 2003. Memory T cells protect chicks from acute infectious bronchitis virus infection. *Virology* 306: 376-384.

20- Raj, G. D. and R. Jones. 1997. Infectious bronchitis virus: immunopathogenesis of infection in the chicken. *Avian Pathology* 26: 677-706.

21- Shirzad, M., K. Asasi and A. Mohammadi. 2012. Efficacy of vaccination programmes using two commercial live infectious bronchitis vaccines against a field IRFIB 32 strain. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine* 15: 260-272.

22- Vali Nezhad, A., M. Kelidari, M. Akhavizadegan, F. Vahedi and S. Pourbakhsh. 1379. Field evaluation of bronchitis vaccine (H-120) in broiler flocks of Mashhad. Ministry of Agriculture.

23- Villegas, P. Titration of Biological Suspensions. In: A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, 5th ed. D.E. Swoyne, J.R. Glisson, J.E. Pearson, W.M. Reed, M.W. Jackwood, and P.R. Woolcock. American Association of Avian Pathologists, Kennett Square, Penn. Pp. 217-221.