DOI: 10.22092/vj.2024.366759.2173 No 146 Spring 2025

Veterinary Research & Biological Products

Original Article

Evaluation and comparison of two types of Gumboro vaccines in one day old broiler Ross chicks A comparative study between two different types of vaccines: Immune complex and Naked

Ghalyanchi Langeroudi,A[1], Arabbaghi, F[2], Ziafati Kafi,Z[1], Pirzahed,A[2], Heydarzadeh,H[3], Jangjoo,G[3], Jamiri,F[1], Bakhshi, AR[1], Sarmadi,S[1], Vahidi Emami,H[1], Eghbali,O[1], Hosseini, Hossein[4]*

1- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

2- Behparvar company, Tehran, Iran.

3- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

4- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Islamic Azad University, Karaj, Iran.

Received: 2024-08-19 **Accepted: 2024-12-19**
Revised: 2024-12-17 **Published: 2025-03-02**

*Email: hosseini.ho@gmail.com

Abstract

Introduction: Infectious bursal disease (IBD) is an acute and highly contagious disease that primarily affects young chickens presented by varying clinical symptoms. Among the available vaccines used to prevent disease outbreaks, live attenuated vaccines are considered as the most common. Aim and method: In this study, the effect of two vaccine types, a live attenuated vaccine, MyHatch UPM93, and a commercial immune complex vaccine, on immunization against IBD were compared whose effects on immune system suppression were also studied. Results: The results indicate that neither vaccine had negative effects on mortality rate. Studying the weight of the bursa of Fabricius (BF) relative to the body weight and bursa Fabricius histopathology in the group vaccinated with MyHatch showed less immune system suppression. Furthermore, MyHatch UPM93 vaccine performed better in generating specific antibodies against IBD, and non-interfering with immunization against Newcastle disease and Avian Influenza. Regarding the presence of the vaccinal virus in bursa Fabricius tissue, no virus genome was detected in the group vaccinated with Immune complex vaccine until the 14th day after the vaccination, unlike the group which was vaccinated with MyHatch UPM93 vaccine. On days 21 and 28 in both groups, an equal percentage of samples (80% and 100%, respectively) were positive, and on day 35, the MyHatch group had a lower percentage of positive samples compared to the immune complex group (60% versus 80%). Conclusion: It is hoped that in future researches, the effects of other vaccines, which are recently imported to Iran, on the immune system will be studied.

Keywords: Infectious bursal disease virus, Vaccination, Iran, Live Attenuated vaccine, ELISA

DOI: 10.22092/vj.2024.366759.2173 شماره ۱۴۶ بهار ۱۴۰۴

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

مقاله کامل

ارزیابی و مقایسه دو نوع واکسن گامبورو در جوجه‌های گوشتی نژاد راس در یک‌روزگی: یک مطالعه مقایسه‌ای دو تیپ متفاوت واکسن ایمونوکمپلکس و Naked

آرش قلیان‌چی لنگرودی[۱]، فرهاد عرب باغی[۲]، زهرا ضیافتی‌کافی[۱]، علی پیرزاهد[۲]، هومن حیدرزاده[۳]، گیتا جنگجو[۳]، فهیمه جمیری[۱]، علیرضا بخشی[۱]، سروش سرمدی[۱]، حسن وحیدی‌امامی[۱]، امید اقبالی[۱]، حسین حسینی[۴]*

۱- گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- شرکت بهپرور، تهران، ایران.

۳- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

۴- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد کرج، البرز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳-۰۵-۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳-۰۹-۲۹

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳-۰۹-۲۷ تاریخ انتشار: ۱۴۰۳-۰۱-۰۱

*Email: hosseini.ho@gmail.com

چکیده

مقدمه : بیماری بورس عفونی (IBD) یک بیماری حاد و بسیار مسری است که عمدتاً در جوجه‌های جوان بروز یافته و درجات متغیری از علائم بالینی را نشان می‌دهد. از بین واکسن‌های موجود جهت پیشگیری از بروز بیماری، واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته بیشترین کاربرد را دارند.

هدف و روش کار: در این مطالعه، به مقایسه اثر دو نوع واکسن زنده تخفیف حدت یافته MyHatch UPM93 و یک واکسن کمپلکس ایمنی تجاری بر روی ایمنی‌زایی علیه بیماری بورس عفونی و همچنین اثر آن‌ها بر سرکوب سیستم ایمنی پرداخته شد.

یافته‌ها: بر اساس نتایج این مطالعه هیچ‌یک از واکسن‌های مورداستفاده تأثیر نامطلوبی بر روی میزان تلفات نداشتند. بررسی وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن و هیستوپاتولوژی بورس فابریسیوس در گروه واکسینه‌شده با واکسن MyHatch نشان-دهنده‌ی سرکوب کمتر سیستم ایمنی بود. همچنین در ایجاد آنتی‌بادی اختصاصی علیه IBD و عدم تداخل با ایمنی‌زایی علیه دو بیماری نیوکاسل و آنفلوانزای پرندگان، نیز واکسن MyHatch UPM93 عملکرد بهتری داشت. در مورد حضور ویروس واکسینال در بافت بورس فابریسیوس، در گروه واکسینه‌شده با واکسن کمپلکس ایمنی برخلاف گروه واکسینه‌شده با واکسن MyHatch UPM93 تا روز ۱۴ پس از واکسیناسیون، ژنوم ویروس شناسایی نشد، در روزهای ۲۱ و ۲۸، در هردو گروه درصد برابری از نمونه‌ها (به ترتیب ۸۰ و ۱۰۰ درصد) مثبت شدند و در روز ۳۵، در گروه MyHatch در مقایسه با گروه کمپلکس ایمنی درصد کمتری از نمونه‌ها مثبت گزارش شد (۶۰ درصد در مقابل ۸۰ درصد).

نتیجه گیری: امید است در مطالعات آینده تأثیرات سایر واکسن‌هایی که اخیراً وارد کشور شده‌اند، بر روی سیستم ایمنی بررسی شود.

کلمات کلیدی: ویروس بیماری بورس عفونی، واکسیناسیون، ایران، واکسن زنده تخفیف حدت یافته، الایزا.

مقدمه

ویروس بیماری بورس عفونی (IBDV) عامل یک بیماری حاد و بسیار مسری در بین جوجه‌های جوان است. این بیماری برای نخستین بار در شهر گامبورو واقع در ایالت دلاور، ایالات‌متحده آمریکا، شیوع یافت و بنابراین «بیماری گامبورو» نامگذاری شد (۱). این ویروس متعلق به خانواده Birnaviridae و دارای ژنوم RNA دو رشته‌ای دو قطعه‌ای (قطعات A و B) است. قطعه B بخش کوچک‌تری به طول حدود ۲۹۰۰ جفت باز (bp) بوده و پروتئین VP۱، که یک RNA پلیمراز وابسته به RNA است را کد می‌کند (۲). قطعه A، بخش بزرگ‌تری به طول حدود ۳۲۰۰ جفت باز بوده و پروتئین‌های VP4، VP3، VP2 و VP5 را کد می‌کند. VP2 و VP3 دو پروتئین ساختاری اصلی هستند. توالی ژنتیکی VP3 در بین سویه‌های مختلف IBDV حفاظت‌شده است اما در نقطه مقابل، توالی کدکننده پروتئین VP2 بسیار متغیر است و تنوع آنتی‌ژنی ویروس IBD و ظهور واریانت‌های مختلف آن با تغییرات ژنتیکی در ژن VP2 مرتبط است (۳).

بیماری بورس عفونی (IBD) عمدتاً در جوجه‌های جوان بزرگ‌تر از ۳ هفته بروز می‌یابد و بسته به حدت ویروس، درجات متغیری از علائم را نشان می‌دهد. بر اساس میزان بیماری‌زایی، سویه‌های ویروس IBD در سه پاتوتیپ طبقه‌بندی می‌شوند که عبارتند از؛ واریانت، کلاسیک و بسیار حاد. در جوجه‌های مبتلا به ویروس‌های IBD واریانت، علائم بالینی اندک و بدون مرگ‌ومیر همراه با ضایعات مشخصی در بورس فابریسیوس نمایان می‌شود (۴). جوجه‌های آلوده به سویه‌های حاد کلاسیک، در سنین ۳ تا ۶ هفتگی، مرگ‌ومیر متوسط و آتروفی بورس فابریسیوس همراه با علائم بالینی نظیر اسهال سفید آبکی، کثیفی پرهای مخرج، بی‌حالی، بی‌اشتهایی، کزکردگی و بستن چشم‌ها را نشان می‌دهند. در این بیماری به علت خارش مقعد، ممکن است جوجه‌ها به مخرج خود نوک بزنند که با التهاب و خونریزی مقعد همراه است (۲, ۵, ۶)، اما آلودگی جوجه‌ها به ویروس IBD حاد کلاسیک در سن کمتر از ۳ هفتگی معمولاً علائم بالینی کمی به همراه دارد یا جوجه‌ها علائم بالینی بروز نمی‌دهند. در هر دو حالت، ویروس باعث سرکوب سیستم ایمنی‌شده که پرندگان را در برابر انواع عفونت‌های ثانویه آسیب‌پذیر می‌کند. به دنبال این موضوع، جوجه‌ها نیز پاسخ ایمنی ضعیفی به واکسیناسیون علیه سایر عوامل بیماری‌زا ایجاد می‌کنند (۷). این در حالی است که سویه‌های بسیار حاد، باعث مرگ‌ومیر شدید همراه با علائم و ضایعات مشخص می‌شوند (۲). بنابراین، IBD یکی از مهم‌ترین بیماری‌ها ازنظر اقتصادی است که گله‌های صنعتی را در سراسر جهان تحت تاثیر قرار می‌دهد.

رعایت امنیت زیستی و واکسیناسیون مهم‌ترین اقدام برای کنترل بیماری بورس عفونی است (۸). برای این بیماری انواع مختلفی از واکسن‌ها ارائه‌شده است، که شامل واکسن‌های غیرفعال، زنده تخفیف حدت‌یافته، کمپلکس ایمنی، بر پایه وکتور، زیر واحد و DNA هستند. واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته، که بیشترین کاربرد را در صنعت دارند، بر اساس شدت ضایعه هیستوپاتوژی ایجادشده متعاقب تقلیح در جوجه‌های بدون پاتوژن خاص (SPF)، به سه دسته ملایم (mild)، اینترمدیت (Intermediate) و اینترمدیت پلاس (Intermediate plus) تقسیم‌بندی می‌شوند. در این میان، واکسن‌های ملایم ضایعات پاتولوژی بر روی بافت بورس فابریسیوس ایجاد نمی‌کنند و توانایی شکست اثر خنثی‌سازی مقادیر بالای آنتی‌بادی مادری و همچنین محافظت در برابر سویه‌های بسیارحاد را ندارند. این در حالی است که سویه‌های اینترمدیت و اینترمدیت‌پلاس توانایی بیشتری در شکست اثر خنثی‌سازی آنتی‌بادی مادری و همچنین محافظت در برابر سویه بسیار حاد را دارند. به دلیل اثراتی مانند امکان بازگشت حدت در سویه‌های واکسینال دو واکسن اینترمدیت و اینترمدیت‌پلاس و همچنین توانایی متغیر واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته مختلف در برابر اثر خنثی‌سازی آنتی‌بادی مادری، تولید واکسن‌های نوین با مکانیسم‌های اثر متفاوت امری ضروری است، تا این واکسن‌ها بتوانند با تزریق به‌صورت تک‌دوز هم در برابر سویه‌های بسیارحاد و هم در برابر مقادیر بالای آنتی‌بادی مادری اثرگذار باشند (۹). از واکسن‌هایی با این مشخصات می‌توان به واکسن‌های کمپلکس ایمنی اشاره کرد که نسل جدیدی از واکسن‌ها هستند و در آن‌ها، ویروس واکسینال با آنتی‌بادی‌های اختصاصی IgY علیه ویروس IBD پوشانده می‌شوند. این واکسن هم به‌صورت داخل تخم‌مرغی در روز ۱۸ انکوباسیون در هچری و هم به روش تزریق زیر جلدی در یک‌روزگی استفاده می‌شوند این واکسن‌ها با یک مکانیسم ناشناخته منجر به تأخیر در تکثیر ویروس واکسینال در بافت‌های هدف ویروس شده که این امر باعث کاهش حدت ویروس می‌گردد و امکان تلقیح واکسن در داخل تخم‌مرغ را فراهم می‌کند و همچنین مانع تداخل بین واکسن و آنتی‌بادی مادری می‌شود (۱۰).

از مواردی که در صنعت همواره پیش از استفاده از هر واکسن زنده تخفیف حدت یافته علیه ویروس IBD بررسی می‌شود، میزان اثرات سوء واکسن موردنظر بر روی بافت بورس فابریسیوس است که می‌تواند با ایجاد ضایعات پاتولوژی و همچنین آتروفی آن، منجر به سرکوب سیستم ایمنی و متعاقباً افزایش حساسیت پرنده نسبت به بروز عفونت‌های ثانویه و حتی عدم کارایی واکسیناسیون علیه سایر بیماری‌های عفونی شود (۱۱) و همچنین مقایسه اثرات واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته با واکسن نسل جدید کمپلکس ایمنی است، که در مطالعات گذشته به مقادیر کمتری چنین اثرات سوئی از خود نشان داده‌اند (۱۲). در مطالعه کنونی نیز هدف ما ارزیابی اثرات واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته MyHatch UPM93 (شرکت UPM مالزی) در ایمنی‌زایی علیه بیماری بورس عفونی، بررسی اثرات سوء احتمالی این واکسن بر روی بافت بورس فابریسیوس و همچنین میزان تداخل آن با ایجاد پاسخ‌های ایمنی اختصاصی علیه ویروس‌های نیوکاسل و آنفلوانزای تحت حاد H9 پرندگان طی واکسیناسیون است.

مواد و روش کار

در شمال کشور ایران، در یک مزرعه در استان گیلان، ۱۷۰۰۰ قطعه جوجه‌ی گوشتی نژاد رأس، جوجه‌ریزی شد. جوجه‌ها در دو سالن ۱ و ۴ مزرعه و در هر سالن به تعداد ۸۵۰۰ قطعه طبقه‌بندی شده و تمامی گروه‌ها جیره استاندارد دریافت نمودند. جوجه‌های سالن ۱ با واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته MyHatch UPM93 از راه جلدی و در سن ۱ روزگی و جوجه‌های سالن ۴ را به روش زیر جلدی در سن ۱ روزگی با یک واکسن کمپلکس ایمنی تجاری علیه بیماری IBD واکسینه شدند. همچنین

جوجه‌ها در یک روزگی علیه بیماری‌های برونشیت عفونی (IBV)، نیوکاسل (ND) و آنفلوانزا پرندگان (AI)، نیز واکسن دریافت کردند که برنامه واکسیناسیون این گله به‌طور کامل در جدول شماره ۱ آمده است. در طول انجام پروژه، تلفات به صورت روزانه ثبت شد.

تعیین نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن

در روزهای ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ پس از واکسیناسیون در هر سالن در هر سن ۵ جوجه آسان‌کشی شدند. جوجه‌ها ابتدا وزن‌کشی شدند و وزن هر جوجه در هر گروه یادداشت شد. در ادامه وزن بورس فابریسیوس نیز در تمام این سنین اندازه‌گیری و نسبت وزن بورس به وزن بدن محاسبه شد.

ارزیابی مولکولی ویروس بیماری بورس عفونی

در روزهای ۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۳۵ پس از واکسیناسیون در هر سالن در هر سن ۵ جوجه آسان‌کشی شدند. بورس هر جوجه اخذ شد و به‌منظور بررسی حضور ویروس واکسینال بیماری بورس عفونی مورد ارزیابی قرار گرفت. استخراج RNA با استفاده از کیت استخراج RNA از بافت شرکت سینا کلون (Sina pure RNA extractin kit) ساخت ایران و بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام شد. RNA استخراج‌شده تا زمان انجام مرحله بعدی به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد (۱۳). سنتز cDNA با استفاده از کیت شرکت یکتا تجهیز (cDNA synthesis kit YT4500) در دو مرحله صورت گرفت. در مرحله اول میزان ۱ میکرولیتر رندوم هگزامر با ۱۰ میکرولیتر از RNA استخراج‌شده مخلوط شده و برای مدت پنج دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد و پس از آن برای مدت یک دقیقه در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در مرحله دوم مقدار ۱ میکرولیتر از آنزیم ترانسکریپتاز معکوس، ۲ میکرولیتر dNTP، ۲ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۴ میکرولیتر بافر آنزیم ریورس ترانسکریپتاز مورداستفاده به محصول واکنش مرحله اول افزوده شد و سپس برای مدت ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، ۵ دقیقه در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد و ۱ دقیقه در دمای ۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر با استفاده از پرایمرهای Forward: ٥´- CCCAGAGTCTACACCATA -´٣ و Reverse: ٥´- TCCTGTGCCACTCTTTC -´٣ برای تکثیر بخشی از ژن VP2 به طول ۴۷۳ bp انجام شد. برای تهیه مخلوط واکنش PCR از ۱/۵ میکرولیتر ۲۵۰ mM MgCl، ۲/۵ میکرولیتر بافر ۱۰ X PCRBuffer، ۱ میکرولیتر از هرکدام از پرایمرها، ۰/۵ میکرولیتر mM10 dNTPs، ۰/۲۵ میکرولیتر آنزیم Taq DNApolymerase، ۳ میکرولیتر از cDNA ساخته‌شده و ۱۵/۲۵ میکرولیتر آب مقطراستریل استفاده شد. در برنامه دمایی PCR ابتدا دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه جهت جداسازی اولیه اعمال شد. سپس واکنش PCR با ۳۹ سیکل شامل ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه جهت جداسازی، ۵۲ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ ثانیه برای اتصال پرایمرها، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه جهت طویل‌سازی ادامه یافت و در پایان واکنش دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه جهت طویل‌سازی نهایی به واکنش اعمال شد. پس از انجام واکنش PCR، میزان ۵ میکرولیتر از محصول واکنش بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز شد. جهت زنگ‌آمیزی ژل از رنگ اتیدیوم بروماید استفاده شد (۱۴).

ارزیابی هیستوپاتولوژی

در روزهای ۳۵ و ۴۲ پس از واکسیناسیون بخشی از بافت بورس‌های

جدول ۱- خلاصه‌ی واکسن‌های استفاده‌شده در یک روزگی در مزرعه.

واکسیناسیون در:	نوع واکسن	نام واکسن/سالن ۱	نام واکسن /سالن ۴
جوجه گوشتی	IBD	MyHatch UPM93	Immune complex Vaccine
	ND/AI دوگانه	Cevac New Flu	Cevac New Flu
	IBV	Cevac iBird	Cevac iBird
	ND/IBV دوگانه	Ornimix	Ornimix
فارم	ND/IBVN	Hipra clon/H120	Hipra clon/H120
	ND LASOTA	Lasota razi	Lasota razi
	ND LASOTA	Clone razi	Clone razi
	ND LASOTA	Lasota razi Thermoresistant	Lasota razi Thermoresistat

اخذشده در فرمالین نگهداری شد و سپس برای تهیه لام‌های پاتولوژی مورد استفاده قرار گرفتند. از هر بورس فابریسیوس لام پاتولوژی تهیه شد و هر لام ازنظر ضایعات پاتولوژی شامل Follicular depletion، Epithelial Infiltration، necrosis و Cyst formation بررسی شد. لام‌ها با استفاده از رنگ هماتوکسیلین-ائوزینوفیل (H&E) رنگ‌آمیزی شدند و با روش ارائه‌شده توسط Jackwood مورد بررسی و امتیازدهی قرار گرفتند (۱۵).

ارزیابی سرولوژی

به‌منظور ارزیابی ایمنی‌زایی واکسن‌های بیماری بورس عفونی و اثرات احتمالی ایمنی‌زایی این واکسن‌ها بر واکسن دوگانه بیماری نیوکاسل و آنفلوانزا و همچنین بررسی تیتر آنتی‌بادی مادری جوجه‌ها علیه سه بیماری بورس عفونی، نیوکاسل و آنفلوانزای پرندگان، به ترتیب در روزهای صفر و همچنین ۴۲ بعد از واکسیناسیون از ۱۲ قطعه جوجه در هر گروه نمونه‌ی خون اخذ شد. برای ارزیابی ایمنی علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزای پرندگان از آزمون HI استفاده شد. لازم به ذکر است که آزمون HI انجام‌شده برای بررسی ایمنی جوجه‌ها علیه بیماری نیوکاسل با هر دو آنتی‌ژن ژنوتیپ ۷ و سویه‌ی لاسوتا و برای ارزیابی ایمنی ایجاد شده علیه آنفلوانزا پرندگان از هر دو آنتی‌ژن تجاری و آنتی‌ژن سویه‌ی در گردش استفاده شد. همچنین ارزیابی سرولوژیکی پاسخ ایمنی علیه بیماری بورس عفونی با آزمون الایزا (ELISA) و با استفاده از هر دو کیت تجاری شرکت IDEXX و Biocheck انجام شد.

بررسی آماری

در این مطالعه برای بررسی آماری داده‌ها از نسخه ۱۰ نرم‌افزار Graphpad prism استفاده شد. در مورد داده‌های کمی، پس از بررسی نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون آماری کولموگروف-اسمیرنوف (KS)، در صورت نرمال بودن توزیع داده‌ها از آزمون آماری t مستقل در جهت ارزیابی آماری داده‌ها استفاده شد. به منظور ارزیابی آماری داده‌های غیرپارامتریک نیز آزمون من-ویتنی مورد استفاده قرار گرفت. $p>0/05$ به معنای اختلاف آماری معنادار در نظر گرفته شد.

نتایج

ارزیابی شاخص تولید

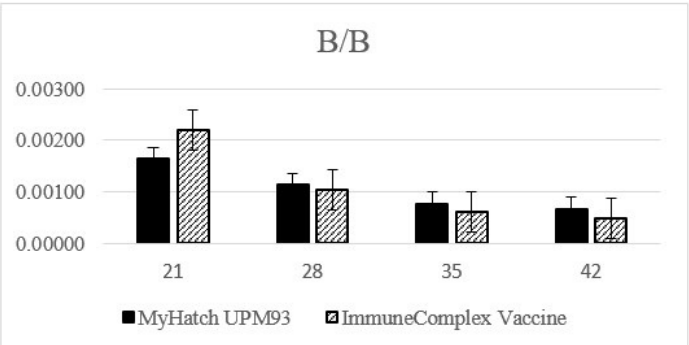
از روز صفر تا روز ۴۲ بعد از واکسیناسیون به‌طور روزانه درصد تلفات مورد ارزیابی قرار گرفت. درصد تلفات در گروه MyHatch UPM93 (۵٪) و در گروه واکسن کمپلکس ایمنی (۵,۲٪) گزارش شد.

تعیین نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن

به‌منظور ارزیابی نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن کل جوجه در روزهای ۲۱، ۲۸، ۳۵ و ۴۲ بعد از واکسیناسیون تعداد ۵ جوجه از هر گروه

جدول ۲- میانگین وزن بورس به وزن بدن در سنین مختلف.

Days/Groups	MyHatch UPM93	واکسن کمپلکس ایمنی
21	0.00164 ± 0,00062	0.00219 ± 0.00076
28	0.00114 ± 0,00060	0.00104 ± 0,00049
35	0.00077 ± 0.00047	0.00061 ± 0,00013
42	0.00067 ± 0.00022	0.00048 ± 0,00014



نمودار ۱- میانگین وزن بورس به وزن بدن در سنین مختلف.

آسان‌کشی شد و بافت بورس هرکدام به‌طور جداگانه وزن شد. میانگین نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن در سنین مختلف در جدول ۲ نشان داده‌شده است.

میانگین نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن در هر دو گروه واکسن نشان می‌دهد که هر چه سن افزایش می‌یابد این نسبت کمتر می‌شود. مقایسه میانگین نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن در گروه واکسن MyHatch UPM93 در سن ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی برخلاف ۲۱ روزگی شاخص بهتری را نسبت به گروه واکسن کمپلکس ایمنی نشان داد. درنهایت نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن در گروه MyHatch UPM93 از گروه واکسن کمپلکس ایمنی بیشتر بود و این نشان‌دهنده سرکوب ایمنی کمتر واکسن MyHatch UPM93 در جوجه‌ها هست (نمودار ۱). توزیع داده‌ها نرمال و هیچ اختلاف معناداری در نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن در بین دو گروه مورد مطالعه دیده نشد ($p>۰/۰۵$).

درصد بورس مثبت در آزمون PCR

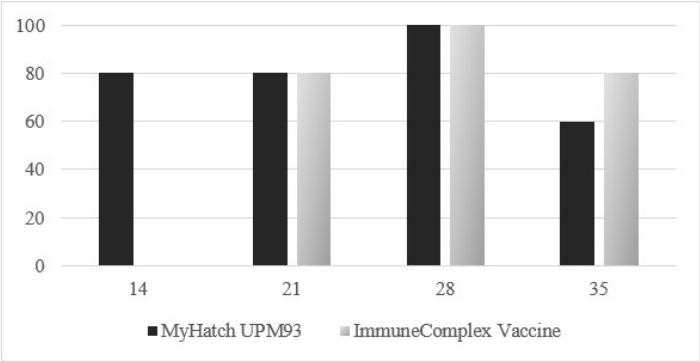
در روزهای ۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۳۵ پس از واکسیناسیون در هر سالن در هر سن ۵ جوجه آسان‌کشی شدند. بورس هر جوجه اخذ شد و به منظور بررسی حضور ویروس واکسینال بیماری بورس عفونی مورد ارزیابی قرار گرفت. در روز ۱۴ بعد از واکسیناسیون هیچ ویروس بورس عفونی در گروه واکسن کمپلکس ایمنی در آزمون PCR ردیابی نشد اما در گروه MyHatch UPM93 ۸۰ درصد از جوجه‌ها در روز ۱۴ بعد از واکسیناسیون، از نظر ویروس بیماری بورس عفونی در آزمون PCR مثبت بودند. نسبت حضور ویروس بورس عفونی در روز ۲۱ و ۲۸ بعد از واکسیناسیون در هر دو گروه برابر (به ترتیب ۸۰ درصد و ۱۰۰ درصد) بود. در روز ۳۵ بعد از واکسیناسیون میزان حضور ویروس بیماری بورس عفونی در گروه MyHatch UPM93 ۶۰ درصد و کمتر از گروه واکسن کمپلکس ایمنی (۸۰ درصد) بود (جدول ۳) (نمودار ۲). نتایج نشان می‌دهد در گروه واکسن کمپلکس ایمنی، ردیابی ویروس واکسینال بیماری بورس عفونی از روز ۲۱ آغاز شد. در حالی که حضور ویروس در گروه واکسن MyHatch UPM93 در روز ۱۴ نیز ردیابی شد که نشان‌دهنده‌ی دریافت سریع‌تر سویه واکسینال ویروس بیماری بورس عفونی گروه MyHatch UPM93 در بافت بورس در مقایسه با گروه واکسن کمپلکس ایمنی است.

هیستوپاتولوژی بورس فابریسیوس

میانگین امتیازهای پاتولوژی در جدول ۴ نشان داده‌شده است. میانگین امتیاز ضایعات پاتولوژی در گروه MyHatch UPM93 در روز ۳۵ بعد از واکسیناسیون در مقایسه با روز ۴۲، کمتر بود این در حالی است که در رابطه با واکسن کمپلکس ایمنی، میانگین امتیاز ضایعات پاتولوژی در روز ۳۵ و ۴۲ بعد از واکسن مشابه بود. به‌طورکلی ضایعات هیستوپاتولوژی در گروه MyHatch UPM93 نسبت به گروه واکسن کمپلکس ایمنی کمتر مشاهده شد (نمودار ۳)، هرچند این تفاوت‌ها در دو سن مورد مطالعه از

جدول ۳- درصد موارد بورس مثبت در آزمون PCR ردیابی ویروس بیماری بورس عفونی.

Groups/Days	14	21	28	35
MyHatch UPM93	80	80	100	60
Immune Complex Vaccine	0	80	100	80



نمودار ۲- درصد موارد بورس مثبت در آزمون PCR ردیابی ویروس بیماری بورس عفونی.

نظر آماری معنادار نبودند (p>۰/۰۵).

ارزیابی سرولوژی

آزمون بررسی تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل به روش HI

در روزهای صفر و ۴۲ بعد از واکسیناسیون، تیتر آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل در خون‌های اخذشده از جوجه‌ها برای هر گروه به‌طور جداگانه با انجام آزمون HI و با هر دو آنتی‌ژن سویه‌ی لاسوتا و آنتی‌ژن ژنوتیپ ۷ ارزیابی شد. تمامی داده‌های به دست‌آمده دارای توزیع نرمال بودند. میانگین تیتر آنتی‌بادی در روز صفر بین دو گروه MyHatch UPM93 (۰/۹۶۵ ± ۶/۲۵۰) و گروه واکسن کمپلکس ایمنی (۱/۳۱۴ ± ۶/۵۰۰) تقریباً مشابه بود (نمودار ۴). در روز ۴۲، میانگین تیتر آنتی‌بادی با آنتی‌ژن ژنوتیپ ۷ ویروس بیماری نیوکاسل (۱/۳۳۳ ± ۴/۰۰) بالاتر از گروه واکسن کمپلکس ایمنی (۰/۸۷۵± ۳/۱۰۰) بود اما تفاوت معنی‌داری بین میانگین تیتر دو گروه در روز ۴۲ بعد از واکسن مشاهده نشد (p>۰/۰۵) (نمودار ۵). میانگین تیتر آنتی‌بادی با آنتی‌ژن سویه لاسوتا در روز ۴۲ بعد از واکسیناسیون به روش HI در گروه MyHatch UPM93 (۱/۶۹۱ ± ۵/۸۸۹) بالاتر از گروه واکسن کمپلکس ایمنی (۱/۳۰۲ ± ۴/۷۷۸) اما این افزایش معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵) (نمودار ۶). به‌طورکلی نتایج تیتر آنتی‌بادی نیوکاسل در هر سه روز با هر دو آنتی‌ژن در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد (p>۰/۰۵).

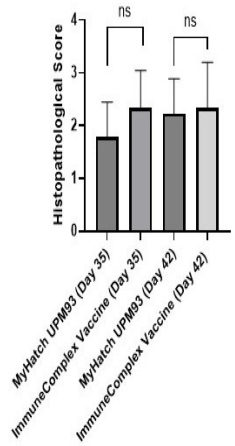
واکسن

آزمون بررسی تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس آنفلوانزا پرندگان H9 به روش HI

در روزهای صفر و ۴۲ بعد از واکسیناسیون، تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل در خون‌های اخذشده از جوجه‌ها برای هر گروه به‌طور جداگانه با انجام آزمون HI و با آنتی‌ژن سویه‌ی در گردش موردبررسی قرار گرفت. تمامی داده‌های حاصله دارای توزیع نرمال بودند. میانگین تیتر آنتی‌بادی در روز صفر بین دو گروه MyHatch UPM93 (۰/۹۹۶ ± ۶/۹۱۷) و گروه واکسن کمپلکس ایمنی (۰/۹۹۶ ± ۷/۰۸۳) تقریباً مشابه بود (نمودار ۷). میانگین تیتر آنتی‌بادی با آنتی‌ژن سویه در حال چرخش آنفلوانزا H9 در روز ۴۲ بعد از واکسیناسیون به روش HI در گروه MyHatch UPM93 (۰/۶۶۶ ± ۳/۷۷۸) بالاتر از گروه واکسن کمپلکس ایمنی (۰/۵۱۶ ± ۳/۶۶۷) اما این افزایش معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵) (نمودار

جدول ۴- میانگین امتیاز ضایعات هیستوپاتولوژی بورس در سنین مختلف.

Days/Groups	MyHatch UPM93	ImmuneComplex Vaccine
35	1.78 ± 0.667	2.33 ± 0.707
42	2.22 ± 0.667	2.33 ± 0.866



نمودار ۳- میانگین امتیاز ضایعات هیستوپاتولوژی بورس در سنین مختلف.

.(۸

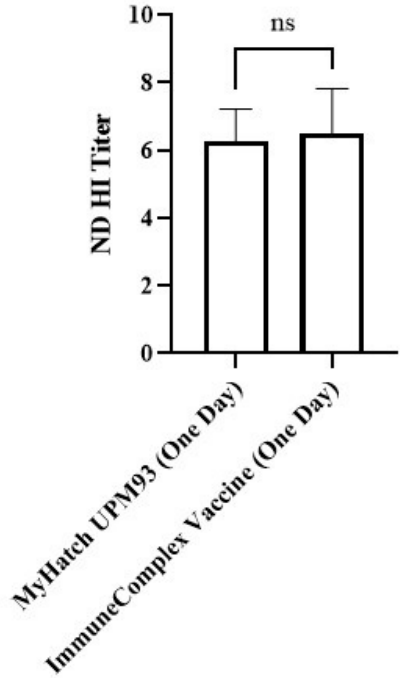
آزمون بررسی تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری بورس عفونی به روش الایزا با کیت IDEXX و Biocheck

برای ارزیابی سرولوژیکی پاسخ ایمنی علیه ویروس بیماری بورس عفونی در روزهای صفر و ۴۲ بعد از واکسیناسیون با هر دو کیت تجاری شرکت IDEXX و Biocheck الایزا انجام شد. تمامی داده‌های حاصل‌شده دارای توزیع نرمال بودند. مقایسه‌ی تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری بورس عفونی در روز صفر با کیت الایزا Biocheck در گروه MyHatch UPM۹۳ (۲۸۶۹ ± ۸۷۰۲) و بالاتر از گروه واکسن کمپلکس ایمنی (۱۵۳۶ ± ۷۵۸۳) بود اما این تفاوت معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵) (نمودار ۹). بررسی تیتر آنتی‌بادی در روز ۴۲ بعد از واکسیناسیون با کیت الایزا Biocheck در گروه MyHatch UPM93 (۳۶۰۸ ± ۹۴۲۱) بالاتر از واکسن کمپلکس ایمنی (۲۷۱۷ ± ۸۸۲۴) بود اما این تفاوت معنی‌دار نبود (p>۰/۰۵) (نمودار ۱۰).

همچنین مقایسه‌ی تیتر آنتی‌بادی در روز ۴۲ بعد از واکسیناسیون با کیت الایزا IDEXX در گروه MyHatch UPM۹۳ (۱۰۰۸ ± ۲۰۳۱) بالاتر از گروه واکسن کمپلکس ایمنی (۵۷۲/۴ ± ۱۶۴۸) بود اما تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵) (نمودار ۱۱).

بحث

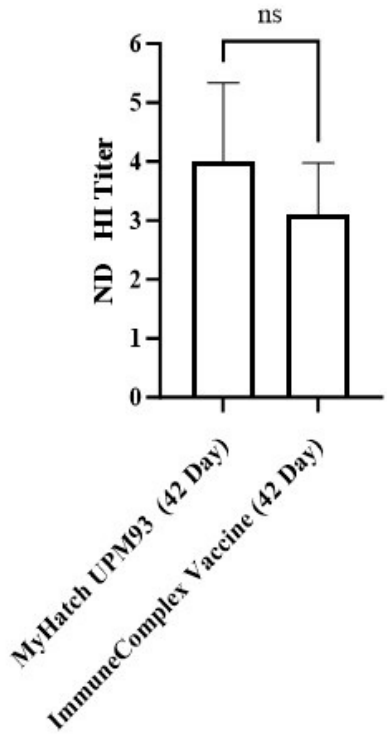
بیماری بورس عفونی، یک بیماری به‌شدت مسری بوده که اغلب طیور جوان صنعتی، بوقلمون و اردک را درگیر می‌کند. نام گامبورو از اولین محلی که این ویروس کشف شد گرفته‌شده است. این بیماری توسط ویروس بورس عفونی (IBDV) عضوی از جنس بیرناویروس ایجاد می‌شود. این ویروس در سلول‌های لنفی درون بورس فابرسیوس، لوزه و طحال جایگزین می‌شود. بیماری معمولاً جوجه‌های جوان تا ۶ هفته را درگیر کرده و با مرگ ناگهانی همراه است (۱۶).



	MyHatch UPM93 (One Day)	ImmuneComplex Vaccine (One Day
Mean	6.250	6.500
Std. Deviation	0.9653	1.314
Std. Error of Mean	0.2787	0.3794

نمودار ۴- میانگین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل با آزمون HI روز صفر.

رعایت پروتکل‌های امنیت زیستی و ایمنی‌زایی در گله‌ها، راه‌های اصلی کنترل بیماری بورس عفونی هستند که در این بین، واکسیناسیون به‌عنوان بهترین روش کنترل بیماری شناخته می‌شود (۸). انواع مختلفی از واکسن‌ها به منظور ایمنی‌زایی علیه بیماری بورس عفونی ارائه‌شده است که عبارت از واکسن‌های غیرفعال، زنده تخفیف حدت یافته، کمپلکس ایمنی، بر پایه وکتور، زیر واحد و DNA هستند. جای تعجب نیست که هر یک از این استراتژی‌ها دارای مزایا و معایبی هستند که می‌توان به اثربخشی واکسن در القای ایمنی، زمان آغاز القای ایمنی و مدت‌زمان دوام آن، میزان کارآمدی واکسن در شکست اثر خنثی‌سازی آنتی‌بادی مادری و درنهایت، توانایی برانگیختن ایمنی هومورال و سلولی اشاره کرد. بااین‌وجود، واکسیناسیون توسط واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته، که پرکاربردترین شیوه واکسیناسیون علیه این بیماری است، عفونت ایجادشده توسط ویروس سویه مزرعه را تقلید می‌کند و با فعال کردن پاسخ‌های ایمنی سلولی و مخاطی علاوه بر پاسخ هومورال، بهترین محافظت از میزبان را برای طیور فراهم می‌کند. باوجود کاربرد گسترده واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته در صنعت، به دلیل دارا بودن اثرات جانبی نامطلوب، نظیر احتمال بازگشت به حدت و بیماری‌زایی، تحریک واکنش‌های متعاقب واکسیناسیون در بدن میزبان (که موجب کاهش تولید می‌شوند) و همچنین تداخل با آنتی‌بادی مادری، کارآمدی و امنیت استفاده از این واکسن‌ها همواره مورد سوال بوده است و لزوم بر گسترش شیوه‌های نوین واکسیناسیون را بیش‌ازپیش پررنگ کرده است. ازجمله این واکسن‌ها می‌توان به واکسن‌های کمپلکس ایمنی اشاره کرد. مزیت اصلی استفاده از این واکسن‌ها این است که علاوه بر امکان تزریق زیر جلدی واکسن در یک‌روزگی، می‌توان واکسن را در روز ۱۸ انکوباسیون در هچری در داخل تخم‌مرغ‌ها (in ovo) نیز تلقیح کرد (۸). از مزایای تلقیح واکسن در داخل تخم‌مرغ می‌توان به القای سریع‌تر ایمنی، کاهش استرس در پرندگان، کاهش هزینه‌های کارگر، تزریق دقیق‌تر و همچنین کاهش آلودگی اشاره کرد (۱۷). همچنین

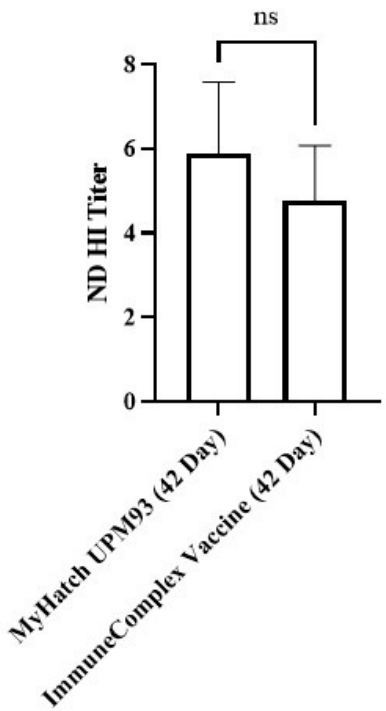


	MyHatch UPM93 (42 Day)	ImmuneComplex Vaccine (42 Day)
Mean	4.000	3.100
Std. Deviation	1.333	0.8756
Std. Error of Mean	0.4216	0.2769

نمودار ۵- میانگین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل با آزمون HI بر پایه‌ی آنتی‌ژن ژنوتیپ ۷ در روز ۴۲ بعد از واکسن.

در این واکسن‌ها با یک مکانیسم ناشناخته، ویروس واکسینال در برابر خنثی‌سازی توسط آنتی‌بادی مادری محافظت می‌شود و درنتیجه برخلاف واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته، تداخلی با آنتی‌بادی مادری، حتی در مقادیر بالای آن، ندارند. یکی از فرضیه‌های ذکرشده برای این موضوع این است که پوشیده شدن ویروس واکسینال توسط آنتی‌بادی اختصاصی ویروس بیماری بورس عفونی می‌تواند مانع خنثی‌سازی ویروس توسط آنتی‌بادی مادری شود (۸, ۱۰, ۱۸).

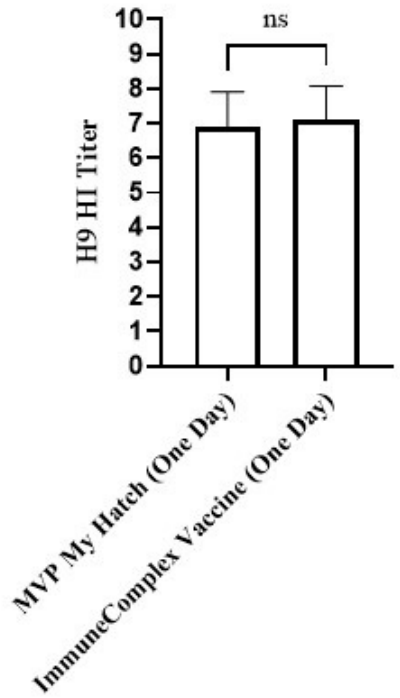
به طور کلی مطالعات گذشته و همچنین شواهد موجود در مرغداری‌ها نشان داده‌اند که در صورت تلقیح واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته در پیش و بلافاصله پس از هچ‌شدن تخم‌مرغ‌ها، این واکسن‌ها توسط آنتی‌بادی مادری خنثی می‌شوند که این امر موجب شده‌است که در مرغداری‌ها در سنین بالاتری از این واکسن‌ها به جهت ایمنی‌زایی استفاده شود، هرچند که مطالعات اندکی نیز وجود دارند که کارآمدی این واکسن‌ها را در هنگام تلقیح آن‌ها در داخل تخم‌مرغ یا جوجه ۱ روزه تایید می‌کنند (۱۹, ۲۰). واکسن نسل جدید زنده تخفیف یافته‌ای که در سال ۱۴۰۱-۱۴۰۲ ثبت و وارد کشور شده است، واکسن اینترمدیت‌پلاس MyHatch UPM93 شرکت UPM مالزی می‌باشد. این واکسن همانند واکسن‌های کمپلکس ایمنی، قابلیت استفاده در سن یک‌روزگی در هچری‌ها را دارا می‌باشد. در فرآیند تولید این واکسن، یک جدایه بومی مالزیایی از IBDV بانام UPM ۹۳۲۷۳ (MyHatch UPM93) انتخاب و بهینه‌سازی شد و به منظور تخفیف حدت، در تخم‌مرغ جنین‌دار SPF و کشت سلول تلقیح شد. در مطالعات گذشته، این واکسن در جوجه‌های SPF و جوجه‌های تجاری تحت شرایط آزمایشگاهی در برابر سویه مزرعه vvIBDV و بدون سرکوب سیستم ایمنی اما همراه با ضایعات خفیف در بورس فابریسیوس، با موفقیت محافظت ایجاد کرد. بذر ویروس MyHatch UPM93 برای واکسیناسیون به روش داخل چشمی، خوراکی یا داخل تخم‌مرغ اثرگذار است. این واکسن بسیار ایمنی‌زا بوده و قادر به خنثی کردن سطوح بالایی از آنتی‌بادی‌های مادری علیه ویروس IBDV می‌باشد (۱۸, ۲۱). یکی‌دیگر از واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته نسل جدیدی که اخیرا وارد بازار شده‌است، واکسن MB-1 شرکت Phibro Animal Health است که همانند واکسن MyHatch UPM93 توانایی تلقیح در هچری در داخل تخم‌مرغ یا تزریق به صورت زیرجلدی در جوجه‌های یک‌روزه



	MyHatch UPM93 (42 Day)	ImmuneComplex Vaccine (42 Day)
Mean	5.889	4.778
Std. Deviation	1.691	1.302
Std. Error of Mean	0.5638	0.4339

نمودار ۶- میانگین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری نیوکاسل با آزمون HI بر پایه‌ی آنتی‌ژن سویه‌ی لاسوتا در روز ۴۲ بعد از واکسن.

را دارا می‌باشد (۲۲). در مطالعه Ashash و همکاران در سال ۲۰۱۹، به منظور بررسی ایمنی‌زایی واکسن MB-1 بر علیه بیماری بورس عفونی و همچنین احتمال تداخل این واکسن با آنتی‌بادی مادری و اثرات سو آن بر واکسیناسیون برعلیه سایر بیماری‌های عفونی، واکسن MB-1 را به دو شیوه داخل تخم‌مرغی و تزریق زیرجلدی در ۱ روزگی تلقیح کردند. اثرات فوق‌الذکر را با یک واکسن کمپلکس ایمنی تجاری تلقیح شده به دو روش داخل تخم‌مرغی یا تزریق زیرجلدی و همچنین یک واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته تجاری دیگری که در سنین بالاتر به روش آشامیدنی تلقیح شده بود، مقایسه کردند. در مطالعه مذکور، به وسیله بررسی‌های سرولوژی، مولکولی و پاتولوژی نشان داده شد که واکسن MB-1 از کارآمدی لازم در ایجاد ایمنی برعلیه بیماری بورس عفونی برخوردار بوده و فاقد هرگونه اثر منفی بر واکسیناسیون بر علیه سایر بیماری‌های عفونی بوده‌است و همچنین توسط آنتی‌بادی مادری نیز خنثی نشده‌است (۲۰). در مطالعه کنونی نیز با استفاده از روش‌های الایزا، PCR، بررسی هیستوپاتولوژی بافت بورس فابریسیوس و اندازه‌گیری نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن، اثرات واکسن MyHatch UPM93 بر روی ایجاد ایمنی اختصاصی علیه بیماری بورس عفونی، میزان مقاومت در برابر خنثی‌سازی آنتی‌بادی مادری و همچنین اثرات سرکوب‌کننده آن بر روی سیستم ایمنی بررسی و با واکسن کمپلکس ایمنی ترانسمیون مقایسه شد که در هیچ یک از مؤلفه‌های مورد بررسی اختلاف معناداری بین دو واکسن مورد استفاده دیده نشد (p>۰/۰۵). در سال ۲۰۲۱ نیز de Witt و همکاران در مطالعه‌ای، با روش تلقیح داخل تخم‌مرغی عملکرد واکسن MB-1 و یک واکسن کمپلکس ایمنی تجاری را بر روی سیستم ایمنی با یکدیگر مقایسه کردند که نتایج نشان‌دهنده‌ی کارآمدی واکسن MB-1 بود (۱۹). بدین ترتیب احتمالا این واکسن قابلیت مطرح شدن به عنوان یک واکسن مناسب جهت تلقیح پیش و بالافاصله پس از هچ شدن تخم‌مرغ‌ها را داشته‌باشد. دلیل عدم شکست واکسن MB-1 در برابر آنتی‌بادی مادری همچنان مشخص نشده‌است اما Wein و همکاران در سال ۲۰۲۳ فرضیه را به این گونه مطرح کردند که شاید سویه واکسینال MB-1 پس از ورود به داخل بدن وارد سلول‌های ماکرفاژ می‌شود، در

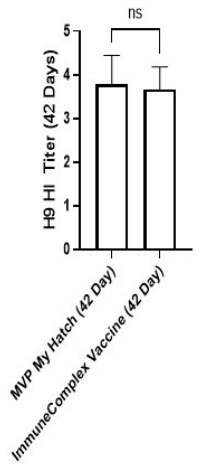


	MVP My Hatch (One Day)	ImmuneComplex Vaccine (One Day)
Mean	6.917	7.083
Std. Deviation	0.9962	0.9962
Std. Error of Mean	0.2876	0.2876

نمودار ۷- میانگین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری آنفلوانزا با آزمون HI بر پایه‌ی آنتی‌ژن در گردش در روز صفر.

داخل آن‌ها باقی می‌ماند و بدین صورت به اندام‌های لنفاوی نظیر طحال منتقل شده و در برابر آنتی‌بادی مادری محافظت می‌شوند. آن‌ها با استفاده از PCR و همچنین فلورسنت در روش FACS حضور ویروس واکسینال را در داخل طحال ردیابی کردند و نشان دادند که در دورانی که عیار بالایی از آنتی‌بادی مادری در بدن جوجه وجود دارد، مقادیر بسیار اندکی از ویروس در داخل طحال یافت می‌شود که احتمالا پس از کاهش عیار آنتی‌بادی مادری به سمت بورس فابریسیوس حرکت کنند (۲۲).

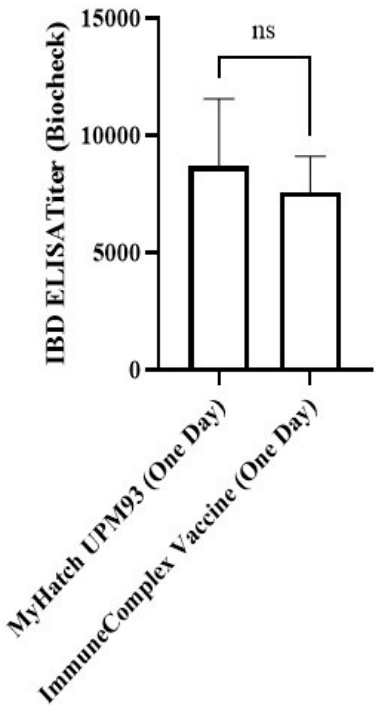
در مطالعه انجام‌شده توسط Abou El-Fetouh و همکاران در سال ۲۰۲۰، عملکرد دو واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته و کمپلکس ایمنی علیه بیماری بورس عفونی از نظر بررسی میزان تلفات، اندازه‌گیری تیتر سرمی آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری بورس عفونی، بررسی هیستوپاتولوژی و Real-time PCR بر روی بورس فابریسیوس، اندازه‌گیری نسبت وزن بورس فابریسیسوس به وزن بدن و همچنین مقاومت در برابر چالش با یک‌سویه بسیار حاد مقایسه شد (۲۳). در مطالعه کنونی نیز ۱۷۰۰۰ قطعه جوجه در دو گروه به تعداد ۸۵۰۰ قطعه در هر گروه تقسیم‌بندی شدند و میزان اثربخشی واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته MyHatch و یک واکسن کمپلکس ایمنی تجاری در ایمنی‌زایی علیه ویروس بیماری بورس عفونی و تداخل احتمالی آن‌ها با ایمنی‌زایی علیه ویروس‌های ND و AI، اثرات هیستوپاتولوژی آن‌ها بر بافت هدف ویروس (بورس فابریسیوس) و همچنین تکثیر ویروس در بافت بورس فابریسیوس ارزیابی و مقایسه شد. در مطالعه Abou El-Fetouh و همکاران در سال ۲۰۲۰، در ۲ سن ۲۱ و ۲۸ روزگی میان دو گروه چالش داده نشده و واکسینه‌شده با واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته و کمپلکس ایمنی تفاوتی میان ضایعات هیستوپاتولوژی بورس فابریسیوس دیده نشد اما در مقایسه تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس IBDV بین دو گروه ذکرشده در سنین ۱۴، ۲۱ و ۳۵ روزگی، گروه واکسینه‌شده با واکسن کمپلکس ایمنی به‌طور معناداری در ایجاد تیتر سرمی آنتی‌بادی مؤثرتر واقع شد ($P<0/05$). این در حالی است که در مطالعه کنونی، ضایعات هیستوپاتوژی بورس فابریسیوس در گروه واکسینه‌شده با واکسن Myhaych در مقایسه با گروه واکسینه‌شده با واکسن کمپلکس ایمنی کمتر بود و همچنین میزان آنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس IBDV در آزمون‌های الایزای انجام‌شده



	MVP My Hatch (42 Day)	ImmuneComplex Vaccine (42 Day)
Mean	3.778	3.667
Std. Deviation	0.6667	0.5164
Std. Error of Mean	0.2222	0.2108

نمودار ۸- میانگین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری آنفلوانزا با آزمون HI بر پایه‌ی آنتی‌ژن در گردش در روز ۴۲ بعد از واکسن.

توسط هردو کیت Biocheck و IDEXX در گروه واکسینه‌شده با واکسن MyHatch عدد بالاتری را نشان داد، اما درهیچکدام از این دو مؤلفه تفاوت معناداری میان دو گروه دیده نشد (P>۰/۰۵). دلیل وجود این تفاوت‌ها در دو مطالعه حاضر را می‌توان به دو دلیل تفاوت در جامعه آماری موردمطالعه و همچنین واکسن‌های مورداستفاده دانست. در مطالعه Abou El-Fetouh و همکاران در سال ۲۰۲۰، در هردو سن ۲۱ و ۲۸ روزگی، نسبت بورس به وزن بدن در گروهی که واکسن کمپلکس ایمنی دریافت کردند بیشتر از گروه واکسینه‌شده با واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته بود. در مطالعه کنونی نیز در سن ۲۱ روزگی، وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن در گروه کمپلکس ایمنی عدد بالاتری را نشان داد اما در سن ۲۸، ۳۵ و ۴۲ روزگی برعکس این اتفاق رخ داد، هرچند که این تفاوت‌ها در هیچ‌یک از روزهای ذکرشده معنادار نبودند (P>۰/۰۵). در مطالعه Abou El-Fetouh و همکاران در سال ۲۰۲۰، حضور ویروس واکسینال در دو گروه واکسینه‌شده چالش نیافته، با استفاده از توالی یابی تائید و میزان لود ویروس واکسینال در گروه واکسینه‌شده با واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته (آستانه سیکل (CT) معادل ۲۴/۳) بیشتر از گروه واکسینه‌شده با واکسن کمپلکس ایمنی (آستانه سیکل معادل ۲۸/۶) گزارش شد. در مطالعه کنونی نیز در روزهای ۱۴، ۲۱، ۲۸ و ۳۵، حضور ویروس واکسینال IBD در بافت بورس فابریسیوس در هر گروه توسط RT-PCR بررسی شد که در روز ۱۴ در گروه واکسینه‌شده با واکسن کمپلکس ایمنی در مقایسه با گروه واکسینه‌شده با واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته، در هیچ یک از ۵ نمونه اخذشده، ویروس قابل‌ردیابی تشخیص داده نشد که اثباتی است بر تأخیر آغاز تکثیر ویروس واکسینال در بافت هدف ویروس در جوجه‌های واکسینه‌شده با واکسن‌های کمپلکس ایمنی در مقایسه با واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته که این یافته با مطالعات گذشته تطابق دارد (۱۰, ۲۳). در مطالعه انجام‌شده توسط Jeurissen و همکاران در سال ۱۹۹۸ نیز یک تأخیر ۵ روزه در تشخیص ویروس IBD در گروه واکسینه‌شده با واکسن کمپلکس ایمنی در بافت‌های موردمطالعه در مقایسه با گروه واکسینه‌شده با واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته دیده شد (۱۸). در مطالعه کنونی در روزهای ۲۱ و ۲۸ در هر دو گروه در درصد برابری از نمونه‌ها حضور ویروس تشخیص داده شد (به ترتیب در ۸۰ و ۱۰۰ درصد نمونه‌ها) این در حالی است که ویروس ردیابی

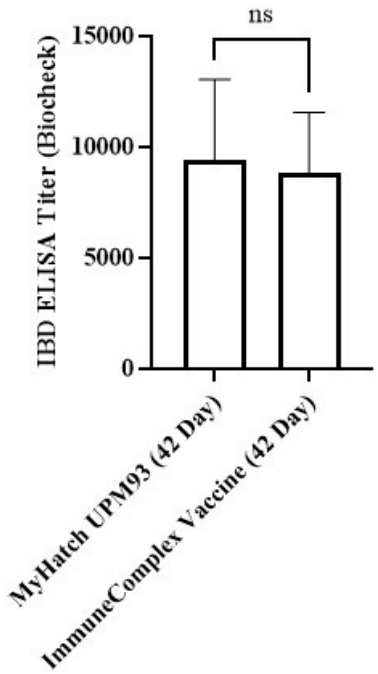


	MyHatch UPM93 (One Day)	ImmuneComplex Vaccine (One Day)
Mean	8702	7583
Std. Deviation	2869	1536
Std. Error of Mean	907.3	485.6

نمودار ۹- میانگین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری بورس عفونی با کیت الایزا Biocheck در روز صفر.

شده در نمونه‌ها در ۳۵ روزگی در گروه واکسن کمپلکس ایمنی بیشتر از گروه واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته بود (حضور ویروس در ۸۰ درصد نمونه‌ها در مقایسه با ۶۰ درصد) که تأییدی بر کاهش سریع‌تر اثر واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته در مقایسه با واکسن کمپلکس ایمنی می‌باشد. بنابراین در مطالعه کنونی نشان داده شد که تکثیر ویروس واکسینال واکسن MyHatch در بورس فابریسیوس در روز ۲۸ پس از واکسیناسیون، به اوج خود می‌رسد و پس‌ازآن کاهش می‌یابد.

در مطالعه دیگری در سال ۲۰۰۹ توسط Niwat و همکاران، اثر دو واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته و یک واکسن کمپلکس ایمنی در ایمنی‌زایی علیه بیماری بورس عفونی توسط آزمون سرولوژی و مقاومت در برابر چالش و همچنین اثرات سوء آن‌ها بر بافت بورس فابریسیوس توسط اندازه‌گیری نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن و بررسی‌های هیستوپاتولوژی ارزیابی شد. در این مطالعه در سن ۱۴ و ۳۸ روزگی، در تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس IBDV در بین گروه‌ها اختلاف معناداری دیده نشد (P>۰/۰۵) اما در سن ۲۸ روزگی، دریکی از گروه‌های واکسینه‌شده با واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته به‌طور معناداری تیتر بالاتری دیده شد (P<۰/۰۱). در بررسی امتیازدهی هیستوپاتولوژی بافت بورس فابریسیوس و نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن در پیش از چالش با ویروس، در میان گروه‌ها اختلاف معناداری دیده نشد (P>۰/۰۵) (۲۴). برخلاف مطالعه کنونی و مطالعه Niwat و همکاران در سال ۲۰۰۹، در مطالعه انجام‌شده توسط Zahid و همکاران در سال ۲۰۱۷، در بررسی واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته و کمپلکس ایمنی، دیده شد که واکسن

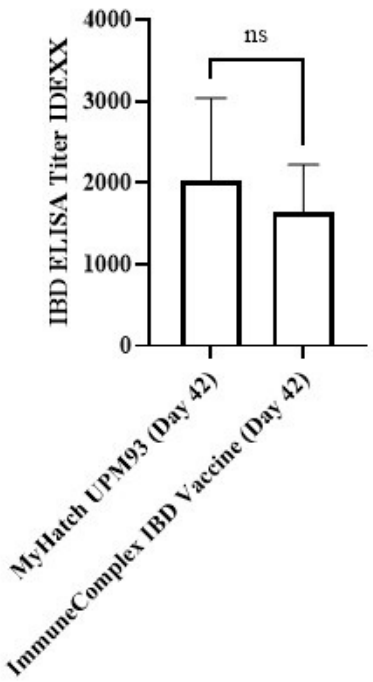


	MyHatch UPM93 (42 Day)	ImmuneComplex Vaccine (42 Day)
Mean	9421	8824
Std. Deviation	3608	2717
Std. Error of Mean	1141	859.1

نمودار ۱۰- میانگین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری بورس عفونی با کیت الایزا Biocheck در روز ۴۲ بعد از واکسیناسیون.

کمپلکس ایمنی مورد مطالعه، نه‌تنها به‌طور قابل‌توجهی در ایجاد ایمنی اختصاصی علیه IBD مؤثرتر واقع شد بلکه به‌صورت قابل‌توجهی اثرات سوء کمتری نیز بر بافت بورس فابریسیوس باقی گذاشت. تفاوت نتایج در مطالعه ذکرشده را می‌توان به دلیل تفاوت در سویه و میزان حدت واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته مورداستفاده، نسبت داد (۱۲).

ویروس بیماری بورس عفونی به دلیل کاهش سلول‌های لنفوسیت B باعث سرکوب سیستم ایمنی می‌شود. این امر خود به دلیل افزایش حساسیت پرنده به ابتلا به عفونت‌های ثانویه و همچنین عدم کارآمدی واکسیناسیون علیه سایر بیماری‌ها باعث ضررهای اقتصادی قابل‌توجه و کاهش تولید می‌شود. همان‌طور که گفته شد، واکسیناسیون علیه بیماری IBD، راه اصلی کنترل بیماری می‌باشد. واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته بر اساس میزان تخفیف حدت، درجات مختلفی از سرکوب سیستم ایمنی را نشان می‌دهند که ممکن است با افزایش حساسیت پرنده به ابتلا به سایر بیماری‌های عفونی و همچنین کاهش ایمنی‌زایی واکسیناسیون علیه آن‌ها، امنیت استفاده از واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته را مورد سوال قرار دهند (۱۱). در مطالعه انجام‌شده توسط Thomrongsuwannakij و همکاران در سال ۲۰۲۱، تأثیر دو واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته IBD بر سرکوب سیستم ایمنی و تداخل آن با ایمنی اختصاصی ایجادشده به دنبال واکسیناسیون علیه ND، مورد بررسی قرار گرفت. سویه واکسینال یکی از واکسن‌های مطالعه ذکرشده، متعلق به پاتوتیپ بسیار حاد و واکسن دیگر متعلق به پاتوتیپ کلاسیک بودند. در بررسی‌های انجام‌شده، واکسن پاتوتیپ کلاسیک، تأثیر مخرب کمتری



	MyHatch UPM93 (Day 42)	ImmuneComplex IBD Vaccine (Day 42)
Mean	2031	1648
Std. Deviation	1008	572.4
Std. Error of Mean	336.1	181.0

نمودار ۱۱- میانگین تیتر آنتی‌بادی علیه ویروس بیماری بورس عفونی با کیت الایزا IDEXX در روز ۴۲ بعد از واکسیناسیون.

بر روی نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن و ضایعات پاتولوژی بافت بورس فابریسیوس و همچنین کاهش تیتر آنتی‌بادی ویروس ND داشت که با تفاوت دو پاتوتیپ ویروس‌های واکسینال در مطالعات پیشین هم‌خوانی دارد (۲۵). در مطالعه انجام‌شده توسط Hassanzadeh و همکاران در سال ۲۰۰۶، در بررسی تأثیر دو شیوه تلقیح داخل تخم‌مرغ و تزریق زیرجلدی واکسن کمپلکس ایمنی و مقایسه آن‌ها با واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته بر روی آنتی‌بادی حاصله از واکسن ND، نشان دادند که هیچ یک از واکسن‌ها بر روی آنتی‌بادی ND تولیدشده اثر منفی نداشتند (۱۰). در مطالعه کنونی نیز تأثیر واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته MyHatch و واکسن کمپلکس ایمنی تجاری بر روی تیتر آنتی‌بادی ویروس‌های ND و آنفلوانزا پرندگان H۹ متعاقب واکسیناسیون ارزیابی شد. در این مطالعه تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه ویروس ND توسط HI و با استفاده از دو آنتی‌ژن ژنوتیپ ۷ و لاسوتا بررسی شد که در هردو آنتی‌ژن مورداستفاده، آنتی‌بادی تولیدشده در گروه MyHatch بالاتر از گروه کمپلکس ایمنی گزارش شد. تیتر آنتی‌بادی تولیدشده علیه H9 نیز در گروه MyHatch بالاتر از گروه واکسن کمپلکس ایمنی بود، هرچند هیچ یک از این اختلاف‌ها معنادار نبودند (P>۰/۰۵).

نتیجه‌گیری نهایی

هدف از مطالعه کنونی، بررسی تأثیر واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته نسل جدید MyHatch UPM 93 بر ایجاد ایمنی اختصاصی علیه ویروس بیماری بورس عفونی، میزان اثرات سوء آن بر سیستم ایمنی و ایمنی حاصل‌شده طی واکسیناسیون علیه بیماری‌های نیوکاسل و آنفلوانزا پرندگان و مقایسه این موارد با یک واکسن کمپلکس ایمنی تجاری بود. به طور کلی در فاکتورهای وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن، ضایعات پاتولوژی بر روی بافت بورس فابریسیوس، ایجاد ایمنی اختصاصی علیه IBD و همچنین عدم تداخل با ایمنی‌زایی علیه سایر بیماری‌های عفونی، واکسن MyHatch UPM 93 عملکرد بهتری را نشان داد، هرچند که در هیچ از فاکتورهای موردبررسی، اختلاف معناداری بین دو گروه دیده نشد (P>۰/۰۵). امید است در مطالعات آینده تأثیرات واکسن‌های بیماری بورس عفونی که به‌تازگی به کشور واردشده‌اند، با دقت بر روی سیستم ایمنی مورد مطالعه و بررسی واقع شود تا با دانش بهتری اقدام به انتخاب بهترین واکسن ممکن با توجه به وضعیت یک گله صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از پشتیبانی شرکت ویوا پارس در تأمین هزینه‌های این طرح تحقیقاتی تقدیر و تشکر می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که در این پژوهش هیچگونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مورد استفاده

1. Balamurugan, V. and Kataria, JM, 2006. Economically important non-oncogenic immunosuppressive viral diseases of chicken- current status. Vet Res Commun. 30 (5), 541–566. https://doi.org/10.1007/s11259-006-3278-4.

2. Tomás G, Techera C, Marandino A, Olivera V, Williman J, Panzera Y, et al. Genomic characterization of infectious bursal disease virus in Argentina provides evidence of the recent transcontinental spread of Chinese genotype A2dB1b. AVIAN PATHOL. 2024; 53 (5):1-20. https://doi.org/10.1080/03079457.2024.2355918.

3. Niu X, Han J, Huang M, Wang G, Zhang Y, Zhang W, et al. Infectious bursal disease virus VP5 triggers host shutoff in a transcription-dependent manner. Mbio. 2024:e03433-23. https://doi.org/10.1128/mbio.03433-23.

4. Elbestawy AR, Abd El-Hamid HS, Ellakany HF, Gado AR, El-Rayes SH, Salaheldin AH. Genetic Sequence and Pathogenicity of Infectious Bursal Disease Virus in Chickens in Egypt During 2017–2021. Avian Dis. 2024; 68 (2): 99-111. https://doi.org/10.1637/aviandiseases-D-23-00087.

5. Okoye J, Uzoukwu M. An outbreak of infectious bursal disease among chickens between 16 and 20 weeks old. Avian Dis. 1981; 25 (4):1034-8. https://doi.org/10.2307/1590079.

6. Mirbagheri A, Hosseini H, Hojabr Rejeoni A, Ziafati Kafi Z, Sadri N, Sarmadi S, et al. Molecular surveillance of infectious bursal disease virus in live bird market, Tehran, Iran. Iran J Virol. 2020;14(1): 63-5.

7. Ghermezian B, Namavari M, Abdi-Hachesoo B, Mohammadi A, Hayati M, Bootorabi Z, et al. Growth and replication of infectious bursal disease virus in the fish cell line as an experimental vaccine. Res Vet Sci. 2024:105293. https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2024.105293.

8. Müller H, Mundt E, Eterradossi N, Islam MR. Current status of vaccines against infectious bursal disease. AVIAN PATHOL. 2012;41(2):133-9. https://doi.org/10.1080/03079457.2012.661403.

9. Dey S, Pathak DC, Ramamurthy N, Maity HK, Chellappa MM. Infectious bursal disease virus in chickens: prevalence, impact, and management strategies. Vet Med-Res Rep. 2019:85-97. https://doi.org/10.2147/VMRR.S185159.

10. Hassanzadeh M, Hassan M, Fard B, Tooluo A. Evaluation of the immunogenisity of immune complex infectious bursal disease vaccine delivered in ovo to embryonated eggs or subcutaneously to day-old chickens. Int J Poult Sci. 2006;5(1):70-4.

11. Geerligs HJ, Ons E, Boelm GJ, Vancraeynest D. Efficacy, safety, and interactions of a live infectious bursal disease virus vaccine for chickens based on strain IBD V877. Avian Dis. 2015;59(1):114-21. https://doi.org/10.1637/10927-082914-Reg.

12. Zahid B, Aslam A, Qazi J, Ahmad N, Ara C, Akhtar R, et al. Pathogenicity and immunosuppressive effect of different vaccines

of Infectious Bursal Disease virus. JAPS. 2017;27(4): 1183-89.
13. Khalilian M, Hosseini SM, Emami HV, Madadgar O. High Frequency of HPV Genotypes 16 and 18 Found in breast cancer patients: Evidence for a more comprehensive hpv vaccination program in Iran. Int J Adv Biol Biomed . 2023; 13 (2): 158-66. https://doi.org/10.18502/jabs.v13i2.12729.
14. Emami HV, Langeroudi AG, Hosseini SM, Najafi H, Kafi ZZ, Sarmadi S. Molecular Identification of the Gag and Tax Gene of Bovine Leukemia Virus (BLV) in Women with Breast Cancer. Journal of Zabol Medical School. 2023; 6 (4): 151-55. https://doi.org/10.18502/jzms.v6i4.15485.
15. Pantin-Jackwood MJ, Brown TP. Infectious bursal disease virus and proventriculitis in broiler chickens. Avian Dis. 2003;47(3):681-90. https://doi.org/10.1637/7018.
16. Ghorani M, Ghalyanchi Langeroudi A, Khordadmehr M, Hojabr Rajeoni A. Molecular and Histopathological Characterization of Inclusion Body Hepatitis (IBH) in Broiler Chickens in Isfahan Province. Iran J virol. 2021;15(2):28-33.
17. Ricks C, Avakian A, Bryan T, Gildersleeve R, Haddad E, Ilich R, et al. In ovo vaccination technology. Adv Vet Med. 1999;41:495-515. https://doi.org/10.1016/S0065-3519(99)80037-8.
18. JEURISSEN, JANSE, LEHRBACH, HADDAD, AVAKIAN, WHITFILL. The working mechanism of an immuno complex vaccine that protects chickens against infectious bursal disease. Immunology. 1998;95(3):494-500. https://doi.org/10.1046/j.1365-2567.1998.00617.x.
19. de Wit J, Jorna I, Finger A, Loeb V, Dijkman R, Ashash U, et al. In ovo application of a live infectious bursal disease vaccine to commercial broilers confers proper immunity. AVIAN PATHOL. 2021;50(6):531-9. https://doi.org/10.1080/03079457.2021.1986618.
20. Ashash U, Noach C, Perelman B, Costello C, Sansalone P, Brazil T, et al. In ovo and day of hatch application of a live infectious bursal disease virus vaccine to commercial broilers. Avian Dis. 2019;63(4):713-20. https://doi.org/10.1637/aviandiseases-D-19-00087.
21. Iván J, Velhner M, Ursu K, Germán P, Mató T, Drén CN, et al. Delayed vaccine virus replication in chickens vaccinated subcutaneously with an immune complex infectious bursal disease vaccine: quantification of vaccine virus by real-time polymerase chain reaction. Can J Vet Res. 2005;69(2):135.
22. Wein Y, Loeb V, Asmare A, Tal S, Finger A, Friedman A. Immunization and Host Responses to MB-1, a Live Hatchery Vaccine against Infectious Bursal Disease. Vaccines. 2023;11(8):1316. https://doi.org/10.3390/vaccines11081316.
23. Abou El-Fetouh MS, Hafez MH, El-Attar E-SR, El-Agamy ME. Immune Complex Infectious Bursal Disease Virus versus Live Attenuated Vaccines to Protect SPF Chicken against Very Virulent Virus Challenge. J World's Poult. 2020;10(4):556-64. https://dx.doi.org/10.36380/jwpr.2020.63.
24. Chansiripornchai N, Sasipreeyajan J. Comparison of the efficacy of the immune complex and conventionally live vaccine in broilers against infectious bursal disease infection. THAI J VET MED. 2009;39(2):115-20. https://doi.org/10.56808/2985-1130.2163.
25. Thomrongsuwannakij T, Charoenvisal N, Chansiripornchai N. Comparison of two attenuated infectious bursal disease vaccine strains focused on safety and antibody response in commercial broilers. Vet World. 2021;14(1):70. https://doi.org/10.14202%2Fvetworld.2021.70-77.