زیست‌شناسی جانوری، سال شانزدهم، شماره دوم، زمستان ۱۴۰۲، صفحات ۹۳-۸۳

مقاله پژوهشی

# بررسی عیار پادتن حاصل از واکسن نیوکاسل و اثرات هیستوپاتولوژی در مرغ سبرایت

کیمیا کریمی ثانی، مهدی رضائی*، محمدرضا حسینچی

گروه دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

*مسئول مکاتبات: mehdi217mr@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۰۳

DOI: 10.22034/ascij.2023.1985192.1489

**چکیده**

بیماری نیوکاسل یکی از مهمترین بیماری‌های ویروسی پرندگان است که سالانه تلفات و خسارات فراوانی را در گله‌های طیور ایجاد می‌کند واکسیناسیون پرندگان یکی از مهمترین راهکارهای کنترل بیماری است. هدف از این مطالعه بررسی عیارپادتن حاصل از واکسن نیوکاسل و اثرات هیستوپاتولوژی در مرغ سبرایت می‌باشد. در این تحقیق تعداد ۷۲ قطعه مرغ سبرایت یک روزه در قالب طرح کاملا تصادفی در دو گروه (باسه تکرار) مورد آزمایش قرار گرفتند. از روز اول تا انتهای دوره، شرایط پرورشی برای تمامی مرغ‌های سبرایت یکسان و تفاوت گروه‌ها با یکدیگر تنها در برنامه واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل بود. واکسیناسیون در گروه اول به صورت استفاده از واکسن کلون به صورت قطره چشمی در یک روزگی، تزریق واکسن غیرفعال نیوکاسل همراه با واکسن کلون به صورت قطره چشمی در ۸ روزگی و استفاده از واکسن اونیو به صورت آشامیدنی در ۱۵ روزگی بود. گروه دوم به عنوان گروه شاهد (بدون واکسیناسیون) در نظر گرفته شد. آزمون HI ( Haemagglutination Inhibition) پس از دو نوبت خونگیری در روزهای ۲۵ و ۳۵، متعاقب واکسیناسیون برروی نمونه سرم‌های اخذ شده به عمل آمد. همچنین کوپ هیستوپاتولوژی از روده‌ها بعمل آمد. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری توسط آزمون تی تست نشان داد که میانگین عیار پادتن نیوکاسل در گروه واکسینه اختلاف معنی‌داری با گروه شاهد داشتند ($p < ۰/۰۱$). همچنین نتایج موفومتری و موفولوژی واکسن نیوکاسل در بافت روده در گروه‌های واکسینه نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌دار را نشان دادند ($p < ۰/۰۵$). این مطالعه به عنوان یک پایش و راهبرد از نظر عیار پادتن تولیدی و اثرات هیستولوژی بعد از واکسیناسیون را در گله‌های سبرایت ارائه می‌کند.

**کلمات‌کلیدی:** نیوکاسل، عیار پادتن، هیستوپاتولوژی، مرغ سبرایت.

## مقدمه

بیماری نیوکاسل، با توجه به شیوع بالا در بین ماکیان و سایر گونه‌های پرندگان، یک بیماری ویروسی خطرناک و مهم جهانی برای صنعت طیور در دنیا به حساب می‌آید. در دهه‌های اخیر، با اعمال برنامه‌های گسترده واکسیناسیون در مزارع طیور تجاری و به مقدار کمتر در طیور روستایی، شیوع همه‌گیری‌های بیماری نیوکاسل در ایران تا حدودی کاهش یافته است (۱، ۷، ۱۷). التهاب ملتحمه چشم بدون درگیری قرنیه در نتیجه آلودگی با ویروس بیماری نیوکاسل در انسان گزارش شده است اما انتقال انسان به انسان گزارش نشده است. (۱، ۳، ۲۲). نژاد سبرایت درسال ۱۸۰۰ میلادی به پاس تلاش‌های بی‌وقفه سرجان

ساندرس سبرایت، همنام با اسم این پرورش‌دهنده و محقق انگلیسی نامگذاری شد. از مهم‌ترین ویژگی‌های ظاهری این نژاد وجود حاشیه یا نوارهای سیاه رنگ در پرهای این پرنده می‌باشد. نژاد سبرایت در دو رنگ طلایی براق و سفید مایل به نقره ای وجود دارند و بر همین اساس به دو گونه سبرایت طلایی و سبرایت نقره‌ای نامگذاری شده است (۵). ویروس بیماری نیوکاسل در خانواده پارامیکسوویریده و جنس ارتوآوولا ویروس طبقه‌بندی می‌شود. ۲۰ سروتیپ از از پارامیکسوویروس‌های پرندگان شناسایی شده است که سروتیپ یک تحت عنوان ویروس بیماری نیوکاسل می‌باشد (۲۲).

آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون براساس واکنش بین ویروس نیوکاسل دارای فعالیت هماگلوتیناسیون و پادتن‌های اختصاصی موجود در سرم تحت آزمون ضد ویروس بیماری نیوکاسل می‌باشد و به عنوان یکی از کاربردی‌ترین و ساده‌ترین آزمون‌های سرولوژیک جهت تشخیص ویروس بیماری نیوکاسل و ارزیابی پاسخ به واکسیناسیون است که در مزارع پرورش طیور مکررا از آن استفاده می‌شود (۲، ۱۳، ۲۳).

امروزه پرورش طیور زینتی در حال گسترش می‌باشد بنابراین رعایت اصول امنیت زیستی و قرنطینه دقیق همراه با واکسیناسیون باید در پیشگیری از بیماری مد نظر قرار گیرد. تجویز بموقع و مناسب واکسن‌ها برای کنترل، پیشگیری و یا جلوگیری از انتشار بیماری بکار می‌رود. انتخاب نوع، زمان و روش واکسیناسیون بر اساس پاتوتیپ‌ها (پنوموتروپ و ویسروتروپ) و نیز ویروس‌های وحشی در حال گردش در منطقه و بررسی و تعیین عیار پادتن در سرم پرنده نشان دهنده موفقیت و یا شکست واکسیناسیون بوده و به عنوان یک فاکتور اساسی مدیریت سیستم و بررسی تاثیر واکسیناسیون در گله مطرح است که برای رسیدن به عیارهای محافظت‌کننده در پرنده ضروری می‌باشد (۱، ۳، ٤، ۲۲، ۲۳).

همچنین نوع واکسن استفاده شده حتما باید بدون عوارض جانبی بیماری باشد. بر این اساس بررسی ضایعات هیستوپاتولوژی در بافت روده از اهمیت بسیاری برخوردار است. بنابراین مطالعه حاضر اولین بار در ایران، به بررسی عیار پادتن حاصل از واکسن نیوکاسل و اثرات هیستوپاتولوژی آن در مرغ سبرایت پرداخته است.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه کاربردی مداخله‌ای در ۳ ماهه دوم سال۱۴۰۱ در سالن مرغداری درمانگاه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه انجام شد. تعداد ۷۲ عددجوجه سبرایت یک‌روزه از یک گله مادر فراهم شد. جوجه‌ها پس از انتقال به سالن مرغداری دانشگاه آزاد اسلامی ارومیه، واقع در کلینیک جاده مهاباد، در دو گروه با سه تکرار جمعا در ٦ گروه آزمایشی با در نظر گرفتن ۱۲ قطعه در هرگروه در قالب کاملا تصادفی تقسیم بندی شدند. گروه اول واکسیناسیون از یک‌روزگی انجام شد. گروه دوم نیز به عنوان گروه شاهد هیچ واکسنی دریافت نشد (جدول ۱). از روز اول تا انتهای دوره، شرایط پرورشی از جمله دما، نوردهی، تهویه، آب آشامیدنی، جیره، بستر و ... برای تمامی مرغ‌ها یکسان و تفاوت گروه‌ها با یکدیگر، تنها در برنامه واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل بود. آزمون HI به منظور سنجش عیار پادتن حاصل از واکسیناسیون پس از دو نوبت خونگیری از ورید بالی در روزهای ۲۵ و ۳۵ انجام شد (۲۳).

همچنین کوپ هیستولوژی برای ارزیابی واکسن نیوکاسل در روزهای ۲۵ و ۳۵ بعمل آمد. نمونه‌های بافتی وارد مرحله آغشتگی با پارافین شدند. پس از طی مراحل پاساژ بافت، نمونه‌ها با استفاده از پارافین

مذاب قالب‌گیری شدند. نمونه بافتی تهیه گردید. لام‌ها حداقل به مدت ۲٤ ساعت در هوای آزمایشگاه باقی ماندند تا کاملاً خشک شوند. جهت مطالعه بافت-شناسی و هیستومورفومتری مقاطع بافتی با استفاده از روش هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS 27 و آزمون تی استیودنت مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

جدول ۱- نوع واکسن، روش و سن واکسیناسیون در گروه‌ها مختلف

| تیمار | نوع واکسن، روز و روش واکسیناسیون | | |
|---|---|---|---|
| شاهد | بدون واکسیناسیون | | |
| | روز ۱ | روز ۸ | روز ۱۵ |
| واکسینه | CLON (قطره چشمی) | CLON (قطره چشمی)<br>NDK (تزریق زیرجلدی) | AVINEW (آشامیدنی) |

## نتایج

نتایج حاصل از آزمون تی استیودنت برای گروه‌های مستقل در این مطالعه نشان دادکه میانگین عیار سرمی پادتن ضد ویروس بیماری نیوکاسل در گروه‌های مورد مطالعه در روز ۲۵ و ۳۵ دوره پرورش اختلاف معنی‌داری داشتند. به طوری که در روز ۲۵ دوره‌ی پرورش عیار سرمی پادتن تولیدی ضد ویروس نیوکاسل ($p < ۰/۰۱$) شاهد داشتند همچنین در روز ۳۵ دوره پرورش ($p < ۰/۰۱$). در گروه شاهد به طور معنی‌داری کمتر از گروه واکسینه شده بود

میانگین عیار پادتنر بر علیه نیوکاسل در گروه شاهد اختلاف معنی‌داری باگروه واکسینه داشت (جدول ۲).

ضایعات بافت روده باریک بر اساس کار Hussein و همکاران درآلودگی به NDV (ویروس بیماری نیوکاسل) به شرح زیر امتیازدهی شد: ۱-ارتشاح (نفوذ) خفیف تا متوسط سلول‌های لنفوسیتی. ۲- تخریب متوسط سلول‌های اپیتلیال در کنار نفوذ سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای معمولاً در نواحی زیر مخاطی. ۳-کانون هموراژیک همراه با نکروز در بافت لنفوئیدی مخاطی (۸). در گروه شاهد ۲۵ روزه در بافت دئودنوم هیچکدام از نمونه‌ها حالت ارتشاح لنفوسیتی و تخریب سلول‌های اپیتلیال را نشان ندادند و سلول‌های تک‌هسته‌ای و کانون‌های هموراژیک در زیر مخاط مشاهده نشد. در گروه تیمار ۲۵ روزه دریافت کننده واکسن‌های نیوکاسل ۷ عدد از پرندگان ارتشاح خفیف تا متوسط سلول‌های لنفوسیتی را در بافت‌های همبندی مخاط و زیر مخاط دئودنوم نشان دادند. در ٤ نمونه، تخریب سلول‌های اپیتلیال و نفوذ سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای در طبقه زیر مخاطی با شدت متوسط و در یک نمونه نیز کانون هموراژیک همراه با نکروز در بافت مخاط مشاهده شد. درگروه شاهد ۲۵ روزه در بافت ژژنوم حالت ارتشاح لنفوسیتی، کانون‌های هموراژیک، تخریب سلول‌های اپیتلیال و سلول‌های تک‌هسته‌ای در زیر مخاط وجود نداشت. در گروه تیمار ۲۵ روزه دریافت کننده واکسن‌های نیوکاسل در ۱۰ عدد از پرندگان ارتشاح خفیف تا متوسط سلول‌های لنفوسیتی در بافت‌های همبندی مخاط و زیر مخاط و در یک نمونه، تخریب سلول‌های اپیتلیال و نفوذ سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای در طبقه زیر مخاطی با شدت متوسط و در یک نمونه دیگر نیز کانون هموراژیک همراه با نکروز در بافت مخاطی ژژنوم مشاهده شد. میانگین امتیاز ضایعات بافتی دئودنوم - ژژنوم در گروه‌های مختلف روز ۲۵در جدول ۳ (تصویر شماره ۱) بیان شده است. در گروه شاهد ۳۵ روزه هیچکدام از

نمونه‌ها حالت ارتشاح لنفوسیتی و تخریب سلول‌های اپیتلیال دئودنوم را نشان ندادند و سلول‌های تک‌هسته‌ای و کانون‌های هموراژیک در زیر مخاط دئودنوم مشاهده نشد. در گروه تیمار ۳۵ روزه دریافت کننده واکسن‌های نیوکاسل ۹ عدد از پرندگان ارتشاح خفیف تا متوسط سلول‌های لنفوسیتی را در بافت‌های همبندی مخاط و زیر مخاط دئودنوم را نشان دادند. همچنین در ۳ نمونه، تخریب سلول‌های اپیتلیال و نفوذ سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای در طبقه زیر مخاطی دئودنوم با شدت متوسط مشاهده شد. در یک نمونه نیز هیچ عارضه و ضایعه بافتی مشاهده نشد. در گروه شاهد در جوجه‌های ۳۵ روزه هیچکدام از نمونه‌های ژژنوم حالت ارتشاح لنفوسیتی و تخریب سلول‌های اپیتلیال مشاهده نشد و سلول‌های تک هسته‌ای و کانون‌های هموراژیک نیز در این گروه مشاهده نشد. در گروه تیمار ۳۵ روزه دریافت‌کننده واکسن‌های نیوکاسل در ۱۱ عدد از پرندگان ارتشاح خفیف تا متوسط سلول‌های لنفوسیتی را در بافت‌های همبندی مخاط و زیر مخاط ژژنوم قابل مشاهده بود. همچنین در یک نمونه، تخریب سلول‌های اپیتلیال و نفوذ سلول‌های التهابی تک‌هسته‌ای در طبقه زیر مخاطی ژژنوم با شدت متوسط مشاهده شد. میانگین امتیاز ضایعات بافتی دئودنوم - ژژنوم در گروه‌های مختلف روز ۳۵ در جدول ٤ (شکل ۱) بیان شده است.

نتایج مورفومتری دئودنوم و ژژنوم در جوجه‌های سبرایت ۲۵ روزه نشان می‌دهد که طول و عرض کرک‌ها و عمق کریپت‌ها در گروه تیمار دریافت کننده واکسن نیوکاسل در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته است که این تفاوت مابین دو گروه کنترل و تیمار معنی‌دار نمی‌باشد. همچنین در جوجه‌های سبرایت ۳۵ روزه نیز طول کرک‌ها در دئودنوم و ژژنوم گروه تیمار دریافت کننده واکسن نیوکاسل در مقایسه با گروه شاهد کاهش یافته است که این تفاوت نیزمابین دو گروه دئودنوم و تیمار معنی‌دار نمی‌باشد. با افزایش سن طول کرک‌ها در دئودنوم و ژژنوم افزایش یافته است و این تفاوت مابین روزهای ۲۵ و ۳۵ معنی‌دار می‌باشد ($p < ۰/۰۵$) (جداول ٤ و ۵، شکل ۱) .

جدول ۱- مقایسه عیار پادتن بر علیه بیماری نیوکاسل در جوجه‌های سبرایت ۲۵ و ۳۵ روزه ، بین گروه‌های مورد مطالعه

| تیمار | تیتر آنتی‌بادی | |
|---|---|---|
| | ۲۵ روزگی | ۳۵ روزگی |
| گروه شاهد | ۱/۳۳ ± ۰/۸۱ [a] | ۱/۰۰ ± ۰/۶۳ [a] |
| گروه واکسینه شده | ۳/٤۰ ± ۰/۵٤ [b] | ٤/۸۰ ± ۰/٤٤ [b] |
| معنی‌داری | ۰/۰۰۱ | ۰/۰۰۱ |

نتایج به صورت میانگین± انحراف و حروف نامشابه در هر ستون در بالای اعداد نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($p < ۰/۰۱$).

جدول ۲- امتیازدهی ضایعات بافت دوازدهه و ژژنوم در جوجه‌های سبرایت ۲۵ روزه .

| ردیف | نوع بافت | | تعداد با امتیاز ۱ | تعداد با امتیاز ۲ | تعداد با امتیاز ۳ | میانگین امتیاز |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | کنترل روز ۲۵ | دوازدهه | ۰ | ۰ | ۰ | a۰/۰۰±۰/۰۰ |
| ۲ | تیمار روز ۲۵ | دوازدهه | ۷ | ٤ | ۱ | b۱/۵۰±۰/٦۷ |
| ۳ | کنترل روز ۲۵ | ژژنوم | ۰ | ۰ | ۰ | a۰/۰۰±۰/۰۰ |
| ٤ | تیمار روز ۲۵ | ژژنوم | ۱۰ | ۱ | ۱ | b۱/۲۵±۰/۳۸ |

وجود حروف متفاوت در هر ردیف عمودی نشان دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p < ۰/۰۵$).

جدول ۳- :امتیازدهی ضایعات بافت دوازدهه و ژژنوم در جوجه‌های سبرایت ۳۵ روزه .

| ردیف | نوع بافت | | تعداد با امتیاز ۱ | تعداد با امتیاز ۲ | تعداد با امتیاز ۳ | میانگین امتیاز |
|---|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | کنترل روز ۳۵ | دوازدهه | ۰ | ۰ | ۰ | a۰/۰۰±۰/۰۰ |
| ۲ | تیمار روز ۳۵ | دوازدهه | ۹ | ۳ | ۰ | b۱/۲۵±۰/۴۵ |
| ۳ | کنترل روز ۳۵ | ژژنوم | ۰ | ۰ | ۰ | a۰/۰۰±۰/۰۰ |
| ۴ | تیمار روز ۳۵ | ژژنوم | ۱۱ | ۱ | ۰ | b۱/۰۸±۰/۲۸ |

وجود حروف متفاوت در هر ردیف عمودی نشان دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p < ۰/۰۵$).

جدول ۴- نتایج مورفومتری بافت دوازدهه و ژژنوم در جوجه‌های سبرایت ۲۵ روزه (بر حسب میکرومتر)

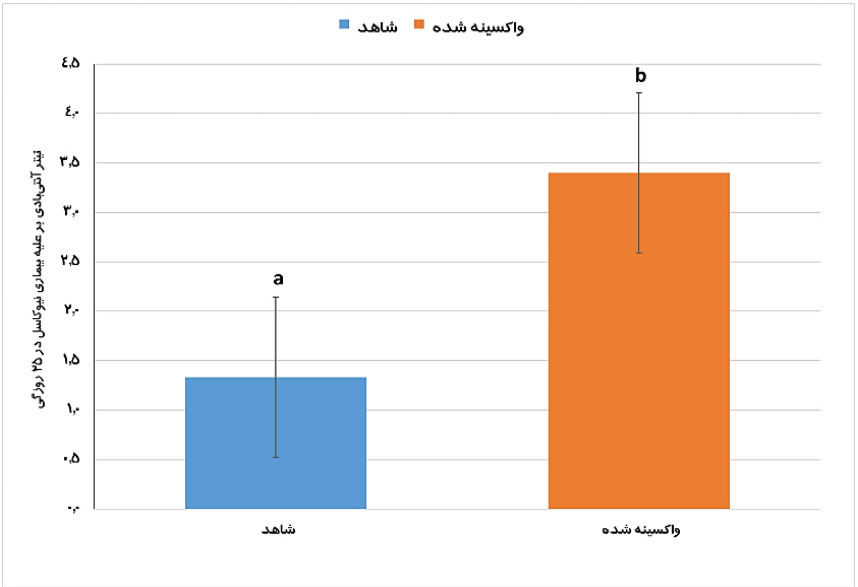
| ردیف | نوع بافت | | طول کرک (VL) | عرض کرک (VW) | عمق کریپت (CD) |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | کنترل روز ۲۵ | دوازدهه | a۷۰۵/۲۹±۳۳/۴۶ | a۱۰۵/۶۲±۱۷/۴۹ | a۱۰۹/۹۸±۲۰/۵۲ |
| ۲ | تیمار روز ۲۵ | دوازدهه | a۶۸۰/۶۷±۳۴/۰۲ | a۹۲/۷۰±۹/۱۱ | a۹۵/۴۲±۱۲/۵۸ |
| ۳ | کنترل روز ۲۵ | ژژنوم | b۵۹۶/۲۵±۲۸/۷۷ | b۸۸/۲۷±۹/۸۵ | b۶۹/۳۷±۸/۶۰ |
| ۴ | تیمار روز ۲۵ | ژژنوم | b۵۷۱/۳۱±۱۹/۵۴ | b۸۲/۸۳±۱۱/۲۵ | b۶۵/۷۶±۵/۴۱ |

وجود حروف متفاوت نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p < ۰/۰۵$).

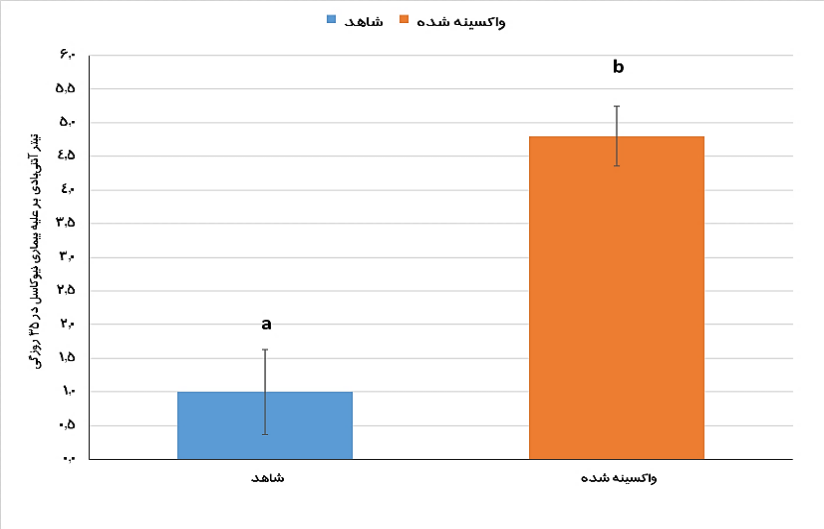
جدول ۵- نتایج مورفومتری بافت دوازدهه و ژژنوم در جوجه‌های سبرایت ۳۵ روزه (بر حسب میکرومتر)

| ردیف | نوع بافت | | طول کرک (VL) | عرض کرک (VW) | عمق کریپت (CD) |
|---|---|---|---|---|---|
| ۱ | کنترل روز ۳۵ | دوازدهه | a۸۱۲/۱۱±۴۵/۴۷ | a۱۲۱/۲۵±۹/۳۳ | a۱۲۱/۶۲±۱۵/۰۹ |
| ۲ | تیمار روز ۳۵ | دوازدهه | a۸۰۸/۲۱±۵۰/۸۷ | a۱۱۷/۳۸±۱۳/۴۶ | a۱۱۵/۶۳±۸/۱۶ |
| ۳ | کنترل روز ۳۵ | ژژنوم | b۶۳۵/۹۰±۳۱/۹۲ | b۹۴/۶۲±۱۰/۶۷ | b۷۵/۸۹±۸/۱۹ |
| ۴ | تیمار روز ۳۵ | ژژنوم | b۶۲۴/۱۳±۳۵/۲۵ | b۹۱/۴۴±۷/۷۳ | b۶۹/۷۴±۱۱/۳۹ |

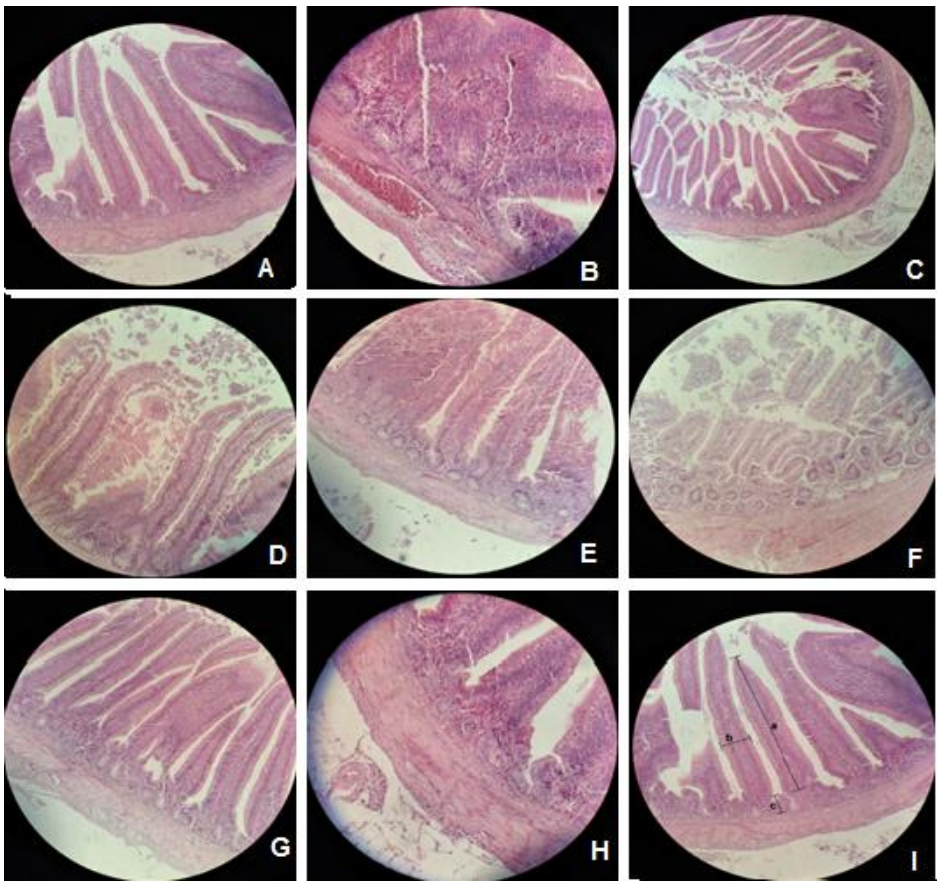
وجود حروف متفاوت در هر ردیف عمودی نشان دهنده تفاوت معنی‌دار می‌باشد ($p < ۰/۰۵$).




نمودار ۱- مقایسه میانگین ± انحراف معیار عیار پادتن در بیماری نیوکاسل در جوجه‌های ۲۵ روزه ، بین گروه‌های مورد مطالعه




نمودار۲- مقایسه میانگین ± انحراف معیار تیتر آنتی‌بادی برعلیه بیماری نیوکاسل در جوجه‌های ۳۵ روزه، ، بین گروه‌های مورد مطالعه




شکل ۱- A: دئودنوم گروه کنترل در جوجه سبرایت ۲۵ روزه. B: دئودنوم جوجه سبرایت ۲۵ روزه گروه دریافت کننده واکسن نیوکاسل C: دئودنوم گروه کنترل در جوجه سبرایت ۳۵ روزه D: دئودنوم جوجه سبرایت ۳۵ روزه گروه دریافت کننده واکسن نیوکاسل E: ژژنوم گروه کنترل در جوجه سبرایت ۲۵ روزه F: ژژنوم جوجه سبرایت ۲۵ روزه گروه دریافت کننده واکسن نیوکاسل G: ژژنوم گروه کنترل در جوجه سبرایت ۳۵ روزه H: ژژنوم جوجه سبرایت ۳۵ روزه گروه دریافت کننده واکسن نیوکاسل I: نحوه اندازه گیری طول(a)، عرض (b) کرک و عمق غدد لیبرکوهن (c). رنگ آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین بزرگنمایی X100 .

**بحث**

دفتر بین‌المللی A بیماری نیوکاسل، سالانه هزینه‌های زیادی را در صنعت طیور وارد می کند بطوریکه در فهرست بیماری‌های اپی‌زئوتیک گنجاده شده است (۱، ۱۱). آزمایشات سرولوژیکی برای ردیابی پادتن قابل تفسیر در سرم پرنده مدنظر قرار می‌گیرد. آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون یکی از مهم‌ترین آزمون-های سرولوژیک جهت تشخیص ویروس بیماری نیوکاسل و مانیتورینگ پاسخ به واکسیناسیون است که در مطالعه حاضر نیز از این آزمون استفاده شده است. برای انجام تفسیری معتبر از نتایج آزمون‌های سرولوژیک یک گله، اطلاعات جامع از برنامه واکسیناسیون گله مورد نیاز می‌باشد. واکسیناسیون گله‌ها علیه بیماری نیوکاسل با استفاده از یک برنامه واکسیناسیونِ متناسب با شرایط منطقه و گله یکی از مهمترین راهکارهای پیشگیری از بیماری نیوکاسل است. تعیین و تفسیر عیار پادتن سرمی در گله، می‌نواند برای استفاده از انواع واکسن‌های نیوکاسل، ارزیابی موفقیت و یا شکست واکسیناسیون، بررسی احتمال درگیری با ویروس مزرعه و در نهایت کمک به تخمین حداکثر پتانسیل تولیدی و سطح حفاظتی سودمند باشد (۲، ۳، ٤، ۲۰، ۲۲).

واکسیناسیون با استفاده از واکسن‌های زنده، غیر فعال (کشته) و یا ترکیبی از هر دو ویروس واکسن ، عیار پادتن را در آزمون افزایش می‌دهد که در مطالعه حاضر نیز از این روش استفاده شده است (۲، ۲۳). این تحقیق، اولین بار در ایران بر روی بررسی عیار پادتن و ارزیابی هیستولوژی حاصل از واکسن‌های رایج نیوکاسل در مرغ‌های سبرایت انجام شده است. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که عیار سرمی پادتن ضد ویروس بیماری نیوکاسل در روزهای ۲۵ و ۳۵ دوره پرورشی، افزایش معنی‌داری نسبت به گروه شاهد داشت در روز ۳۵ دوره پرورشی بالاترین عیار پادتن سرمی ضد ویروس بیماری نیوکاسل مشاده شد که برای رسیدن به عیارهای محافظت کننده و نیز عملکرد مطلوب واکسیناسیون در سطح گله ضروری می‌باشد. بنابراین تحریک سیستم ایمنی و تولید آنتی‌بادی ضد ویروس واکسن نیوکاسل در گروه‌های واکسینال صورت گرفته است که نشان از موفقیت واکسیناسیون می‌باشد. واکسیناسیون همراه با رعایت سیستم امنیت زیستی می‌نواند در پیشگیری و کنترل خسارات ناشی از بیماری نیوکاسل بسیار موثر باشد. واکسیناسیون با واکسن‌های نیوکاسل موجب کاهش میزان دفع ویروس، کاهش تلفات و همچنین کاهش شدت علائم بالینی بیماری در گله می‌گردد. تجویز به موقع و مناسب واکسن در کنار استفاده از روش‌های صحیح واکسیناسیون توسط یک یا چند پاتوتیپ واکسن و همچنین سیف بودن و داشتن کمترین عوارض حاصل از واکسن، نقش بسزایی در ایجاد محافظت در پرندگان دارد (۲٤).

بطوریکه در امتیازدهی ضایعات هیستولوژی در مطالعه حاضر در جوجه‌های ۲۵ و ۳۵ روزه تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های کنترل و تیمار واکسینه شده مشاهده شد که این یافته‌ها همسو با یافته‌های Perezo و همکاران (۲۰۰۸)، Khaddar و همکاران (۲۰۲۱) که بر روی واکسن زنده تحقیق شده بود می‌باشد (۱۰، ۱۵). همچنین در مقایسه نتایج روزهای ۲۵ و ۳۵ می-توان نتیجه گرفت که با افزایش سن مقادیر طول کرک‌ها در دئودنوم و ژژنوم افزایش یافته است و این تفاوت مابین روزهای ۲۵ و ۳۵ معنی‌دار می‌باشد ($p < ۰/۰۵$).

Kapczynski و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند واکسن نیوکاسل قابل قبول واکسنی است که نه تنها از بیماری بالینی جلوگیری میکند، بلکه دفع ویروس به محیط را کاهش داده یا از بین می‌برد (۹). Roohani و

همکاران (۲۰۱۵) واکسن‌های زنده، غیرفعال وضعیف شده بیماری نیوکاسل، فقط می‌نواند از بیماری بالینی جلوگیری کنند، اما نمی‌توانند از دفع ویروس ممانعت کنند (۱۷). واکسن‌ها به دلیل توانایی پیشگیری از بیماری و هزینه نسبتا ارزان تولید بیش از شش دهه است که رکن اصلی کنترل بیماری نیوکاسل محسوب می‌شوند (۱).

Ratih و همکاران (۲۰۱۷) با بررسی اثرات مستقیم خود ویروس نیوکاسل در گله‌های درگیر به این بیماری نشان دادند که دئودونوم دچار آنتریت می‌شود. پوسته پوسته شدن و نکروز سلول مخاطی اپیتلیال، خونریزی و نفوذ سلول‌های التهابی به لایه زیرمخاطی وجود دارد. بررسی میکروسکوپی روده‌های بزرگ نیز نشان می‌دهد که نکروز سلول مخاطی اپیتلیال، خونریزی و نفوذ سلول التهابی به لایه زیر مخاطی وجود دارد. واکنش ایمنی مثبت در سلول‌های اپیتلیال مخاطی و سلول‌های التهابی در فولیکول لنفاوی نیز یافت می‌شود. ضایعه ماکروسکوپی و میکروسکوپی و واکنش ایمنی مثبت به نیوکاسل در هر نوع پرنده و در هر سنی با شدت بالایی خود را نشان می‌دهد. نتایج فوق همسو با نتایج حاضر و با توجه به نوع ویروس موجود در واکسن نیوکاسل، در این مطالعه نیز همان علایم ولی با حدت و شدت بسیار پایین‌تر در بافت روده باریک مرغ‌های سبرایت مشاهده شد (۱۶).

Mohammadamin و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی اثرات ویروس نیوکاسل بر روی مورفومتریک دوازدهه و ژژنوم نشان دادند که طول و عرض کرک‌های روده کاهش یافته است ولی این کاهش معنی‌دار نبود که درست مخالف با یافته‌های ما می‌باشد. همچنین نتایج مطالعات قبلی نشان می‌دهد که عرض کرک‌ها افزایش و ادغام شدگی در پرزها وجود دارد که این تفاوت می‌نواند به دلیل تفاوت نژادی، تفاوت شرایط محیطی و یا تغذیه پرندگان باشد (۱۲).

Erf (۲۰۰۴) واکسن‌های زنده بیماری نیوکاسل پاسخ ایمنی هومورال سیستمیک را ایجاد می‌کنند وبه واسطه سطح آنتی‌بادی در سرم ارزیابی می‌شوند (۶).

Scott (۲۰۰۴) ایمنی مخاطی تولیدی توسط ایمونوگلوبین A، نقش مهمی در توسعه محافظت در برابر ویروس بیماری نیوکاسل ایفا میکند که در مطالعه حاضر نیز از روش قطره چشمی برای تولید ایمنی موضعی استفاده شد (۲۱).

Perozo و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند تولید آنتی‌بادی در مخاط مربوط به تکثیر ویروس در سلول‌های هدف است (۱۴).

Sarcheshmei و همکاران (۲۰۱۶) به ارزیابی اثرات محافظتی واکسن‌های نیوکاسل و دفع دوره‌ای ویروس با استفاده از برنامه‌های مختلف واکسیناسیون با واکسن‌های زنده و غیرفعال (کشته) بعد از چالش با ویروس مزرعه (104EID50/پرنده) در جوجه‌های گوشتی پرداختند. نتایج حاصل از آزمون HI نشان داد که واکسن‌های رایج استفاده شده با طرح‌های واکسیناسیون مختلف می‌نواند از جوجه‌ها در برابر بیماری در مناطقی که نیوکاسل بومی است محافظت کند (۱۹).

باتوجه به یافته‌های تحقیق حاصل می‌توان نتیجه گرفت که واکسیناسیون با استفاده از واکسن نیوکاسل بر ایجاد عیار محافظت کننده و قابل ردیابی در سرم موثر می‌باشد. همچنین غلظت آنتی‌ژن‌های موجود در ترکیب واکسن علاوه بر تاثیر روی پادتن تولیدی می‌نواند اثرات هیستوپاتولوژی خود را بر روی بافت روده نیز بگذارد. بنابراین مطالعه حاضر به عنوان یک پیش‌زمینه و یک ارزیابی پایه در برنامه‌ی واکسیناسیون مرغ‌های سبرایت می‌نواند مد نظر قرار گیرد.

## نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که ترکیب واکسن زنده و کشته با پاتوتیپ‌های متفاوت / CLON (AVINEW) و روش‌های مختلف واکسیناسیون علاوه بر پادتن قابل تفسیر در سرم و داشتن کمترین عوارض هیستولوژی، می‌نواند بعنوان پایش والگویی راهبردی در استفاده از برنامه واکسیناسیون در گله‌های مرغ سبرایت مد نظر قرار بگیرد.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از پرسنل محترم سالن مرغداری درمانگاه دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند، صمیمانه تشکر و قدردانی نمایند.

## منابع

1.Alexander D.J. 2000. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. *Revue Scientifique et Technique*, 19(2):443-462.

2. Alexander D.J., Senne D.A. 2008. A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens. 5th ed. *American Association of Avian Pathologists*, pp:135-141.

3. Alexander D J., Jones R C. 2008. Poultry Diseases. 6th ed. Saunders ELSEVIER. pp: 294-305.

4. Butcher G.D., Mile R.D. 2018. The Avian Immune System. Florida, Ifas Extension University of Florida, 74:1-2.

5. Ekarius C. 2016. Poultry Breeds: Chickens, Ducks, Geese, Turkeys: The pocket Guide to 104 Essential Breeds. Storey Publishing, LLC.

6. Erf GF. 2004. Cell-mediated immunity in poultry. *Poultry Science*, 83(4):580-590.

7.Ghalyanchi Langeroudi A., Hossein H., Karimi V., Madadgar O., Hashemzadeh M., Ghafouri S.A., Bagheri S.S., Vahedi S.M. 2014. 'Phylogenetic study based on the phosphoprotein gene of Iranian Newcastle disease viruses (NDV) isolates, 2010 - 2012', *Iranian Journal of Veterinary Medicine*, 8(2):73-77.

8. Hussein E.A., Hair-Bejo M., Adamu L.A.R., Omar A.R., Arshad S.S., Awad E.A., Aini I. 2018. Scoring System for LesionsInduced by Different Strains of Newcastle Disease Virus in Chicken. *Veterinary Medicine International*, (1):9.

9. Kapczynski D.R., Afonso C.L., Miller P.J. 2013. Immune responses of poultry to Newcastle disease virus. *Developmental and Comparative Immunology*, 41(3):447-453.

10. Khader M.A., El-Kady M.F., Shaheed I.B. 2021. Comparative study between the post vaccinal histopathological alterations in some broiler chickens' tissues induced by lasota and vg/ga newcastle disease vaccinal strains. *Advances in* Animal *and Veterinary Sciences*, 9(8):1135-1142.

11. Leslie J. 2000. Newcastle disease: Outbreak losses and control policy costs. *Veterinary Record*, 146(2):603-606

12. Mohammadamin O.G., Qubih T.S. 2011. Histopathology of virulent Newcastle disease virus in immune broiler chickens treated with IMBO®. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*, 25(1):9-13.

13. Miller P.J., Afonso C.L., El Attrache J., Dorsey K.M., Courtney S.C., Guo Z., Kapczynski D.R. 2013. Effects of Newcastle Disease Virus Vaccine Antibodies on the Shedding and Transmission of Challenge Viruses, *Developmental and Comparative Immunology*, 41(4):505-513.

14. Perozo F., Marcano R, Afonso C.L., 2012. Biological and phylogenetic characterization of a genotype VII Newcastle disease virus from Venezuela: efficacy of field vaccination. *Journal of Clinical Microbiology*, 50(4): 1204-1208.

15. Perozo F., Villegas P., Dolz R., Afonso C.L., Purvis L.B. 2008. The VG/GA strain of Newcastle disease virus: mucosal immunity, protection against lethal challenge and molecular analysis. *Avian Pathology*, 37(3):237-245.

16. Ratih D., Handharyani E., Setiyaningsih S. 2017. Pathology and immunohistochemistry study of Newcastle disease field case in chicken in Indonesia. *Veterinary World*, 10(9):1066-1071

17. Roohani K., Tan S.W., Yeap S.K., Ideris A., Bejo M.H., Omar A.R. 2015. Characterisation of genotype VII Newcastle disease virus (NDV) isolated from NDV vaccinated chickens, and the efficacy of LaSota and recombinant genotype VII vaccines against challenge with velogenic NDV. *Journal of veterinary Science*, *16*(4), 447–457.

18. Samadi S., Kianizadeh M., Fathi Najafi M., Mousavi Nasab S.D., Davatgar A.M.H., Royaee A., Pilvar P. 2014. Molecular characterization and Phylogenetic Study of Velogenic Newcastle Disease Virus Isolates in Iran. *Virus Genes*, 48(2):290-295.

19. Sarcheshmei M, Dadras H, Mosleh N, Mehrabanpour M J. 2016. Comparative Evaluation of the Protective Efficacy of Different Vaccination Programs Against a Virulent Field Strain of the Newcastle Disease Virus in Broilers. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 18(1):363-370.

20. Sharma J.M. 1991. Overview of the Avian Immune System. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 30(2):7-13.

21. Scott T.R. 2004. Our current understanding of humoral immunity of poultry. *Poultry Science*, 83:574-579.

22.Suarez D.L. 2020. Diseases of Poultry. 14th ed. WILLY Blackwell, pp: 112-166.

23. Thayer S.G., Bread C.W. 2008. A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens. *The American Association of Avian Pathologists*, 23(3):221-232.

24. Winterfield R.W., Dhillon A.S. 1981. Comparative Immune Response from Vaccinating Chickens with lentogenic Newcastle Disease Virus Strains. *Poultry Science*, 60(2):1195-1203

# Evaluation of Antibody Titer from Newcastle Vaccine and Histological Effect in Sebright Chickens

**Kimia Karimi Sani, Mehdi Rezaei*, Mohammadreza Hossenchi**

Department of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

## Abstract

Newcastle disease (ND) is one of the most important viral disease which make lots of casualty in poultry flocks. Therefor vaccination against ND is the main way to prevents the damages. The aim of this research was evaluation of antibody titer from ND vaccines and histopathological effects in Sebright chickens. In this research, 72 one-day-old Sebright chickens were tested in a completely random format in two groups (with three replications). From day one to the end of period, the breeding conditions were the same for all quails and the differences between the groups were only in the Newcastle disease vaccination program. Vaccination in the first group was based on using: Clone ND vaccine in day old (eye drop), injection of ND/AI + Clone ND (eye drop) in day 8 and using Avinew vaccine (drinking water) in day 15. The second group was considered as the control group (without vaccination). Blood samples were taken at day 25 and 35 and evaluated by HI test. Also, a sample was taken from the intestine and a histopathology specimen was prepared. The results of statistical analysis by Tukey test showed that the mean titer of Newcastle antibody in the vaccinated groups was significantly different ($p < 0.01$). Also, the results of morphometry and morphology of Newcastle vaccine in the intestinal tissue in the vaccinated groups showed a significant difference compared to the control group ($p < 0.05$). This study presents as a strategy in terms of antibody production and histological effects after vaccination in Sebright farms.

**Keywords:** Newcastle, Antibody titer, Histopathology, Sebright chicken.