DOI: 10.22092/VJ.2020.342608.1715 شماره ۱۳۳ زمستان ۱۴۰۰

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

ارزیابی سویه‌های مختلف ویروس نیوکاسل در واکسن های غیرفعال در چالش با ژنوتیپ ۷

• حسین حسینی

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران

•محمدحسین فلاح‌مهرآبادی و محمد عبدالشاه

موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

• لیلا آقاییان، امیر مدیری‌همدان، زهرا ضیافتی‌کافی، علی هژیرراجعونی و ناصر صدری

گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی ،دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

• آرش قلیان‌چی‌لنگرودی (نویسنده مسئول)

گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی ،دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۲۸-۰۱-۱۳۹۹ تاریخ پذیرش:۲۰-۰۶-۱۳۹۹

Email:ghalyana@ut.ac.ir

چکیده

بیماری نیوکاسل خسارت زیادی را به صنعت طیور وارد می‌کند. دارای واکسن به شکل‌های مختلف و از سویه‌های مختلف می‌باشد. چهار هدف این آزمایش شامل مقایسه تیتر و محافظت ایجاد شده از واکسن‌های کشته با بذرهای متفاوت نیوکاسل علیه ویروس ژنوتیپ ۷، مقایسه واکسن اتوژن ژنوتیپ ۷ با واکسن‌های معمولی، مقایسه اثر دو ادجوانت در ساخت واکسن اتوژن، بررسی تزریق همزمان واکسن زنده نیوکاسل روی تیتر و محافظت ایجاد شده از واکسن‌های کشته با بذرهای متفاوت علیه ژنوتیپ ۷ می‌باشد. این آزمایش در هفت گروه پولت یک روزه صورت پذیرفت. به‌غیر از گروه کنترل، گروه‌ها واکسن‌های کشته حاوی Ulster 2C ، V4، لاسوتا، ژنوتیپ G7 همراه ادجوانت A یا B و واکسن کشته لاسوتا با زنده لاسوتا بصورت زیرجلدی در ۱۴ روزگی دریافت کردند. جوجه‌ها در یک روزگی، واکسن B1 را قطره چشمی دریافت کرده بودند. قبل از چالش، در سن ۳۵ روزگی و ۱۴ روز بعد از چالش خونگیری انجام شد. در ۳۵ روزگی جوجه‌ها (بغیر از۵ قطعه کنترل)، توسط روش چشمی _ بینی با ویروس ژنوتیپ هفت چالش داده شدند و مرگ و میر تا ۷ روز بعد از چالش بررسی شد. نتایج نشان داد واکسنی که Uslter 2C دارد تیتر بیشتری (۷ ± ۱/۲۶) در سه هفته بعد تزریق نسبت به سایر گروه‌ها ایجاد کرد(غیر معنی‌دار، P<۰,۰۵). در گروه واکسن لاسوتا، ژنوتیپ ۷ با ادجوانت A و کنترل، مرگ و میر به‌ترتیب ۱۳/۳، ۱۰ و ۴۰ درصد بود. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد این واکسن‌ها دارای تفاوت معنی‌داری (تیتر و زنده‌مانی) نمی‌باشند.

کلمات کلیدی: بیماری نیوکاسل، واکسن کشته، واکسیناسیون، ژنوتیپ ۷، ایران

● Veterinary Researches & Biological Products No 133 pp: 17-24

Evaluation of different strains of Newcastle disease virus in inactive vaccines in the challenge with Genotype VII vNDV

By: Hosseini, H., Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. Fallah Mehrabadi, M. H., Razi Vaccine & Serum Research Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization, Karaj, Iran. Abdoshah, M., Razi Vaccine & Serum Research Institute, Agricultural Research, Education & Extension Organization, Karaj, Iran. Aghaeean, L., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Modiri Hamedan, A., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. , Ziafati Kafi, Z., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. , Hojabr Rajeoni, A., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Sadri, N., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. and Ghalyanchi Langeroudi, A., (Corresponding Author) Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 2020-04-16 **Accepted: 2020-09-10**

Email:ghalyana@ut.ac.ir

Newcastle disease virus (NDV) causes economic losses to the poultry industry. ND vaccines are used in different forms and include one of the strains. The purposes of this study were comparing titer and protection created by killed vaccines with different NDV seeds against genotype VII, comparing the autogenous genotype VII vaccine with conventional vaccines, comparing the effect of adjuvants in making the autogenous vaccine, and examining vaccination of live Newcastle vaccine on titer and protection created with inactivated ND vaccines against Genotype VII vaccines. The study was conducted in seven groups of day-old chicks. In addition to the control group, all groups injected subcutaneous vaccines containing V4, Ulster 2C, Lasota, G7 genotype with Adjuvant A or B, and Lasota with a live Lasota vaccine at 14 days old. At old-day, the chickens received the B1 vaccine. Serum was given before the challenge, at the age of 35 days and 14 days after challenge. At 35 days old, chickens were challenged by the ocular-nasal method with the genotype VII virus and the mortality was assessed up to 7 days after the challenge. The results of titration rate in 3 weeks after injection showed the Ulster 2C strain vaccine had a higher titer (1.26 ±7) than other groups (insignificant difference P>0.05). In Lasota vaccine group, Genotype VII with Adjutant A and control group, the mortality rate was 13.3, 10, and 40 percent, respectively. The results showed that different commercial vaccines in terms of titers do not have significant difference (titer and survival).

Key words: Newcastle, Killed vaccine, Vaccination, Genotype VII, Iran

مقدمه

گوشت طیور یکی از منابع اصلی تأمین کننده پروتئین در جامعه می‌باشد که از این نظر، بیماری‌های طیور اهمیت زیادی در تعیین سلامت جامعه دارند. بیماری نیوکاسل خسارات زیادی را به صنعت طیور وارد می‌کند، همچنین در مناطقی که عاری از بیماری نیوکاسل می‌باشند، سالانه هزینه‌ی زیادی صرف پاک نگاه داشتن منطقه از بیماری و یا در صورت رخداد بیماری، صرف معدوم‌سازی گله‌های درگیر، می‌شود (۲، ۱۷). عامل بیماری نیوکاسل، اورتوآوولاویروس تیپ ۱ (Avian orthoavulavirus 1 (AOAV-1))، ویروسی از زیرخانواده آوولاویرینه است (۱۱). ویروس بیماری نیوکاسل (NDV)، یک RNA ویروس با سنس منفی و حاوی شش پروتئین شامل نوکلئوکپسید (NP)، فسفوپروتین (P)، ماتریکس (M)، فیوژن (F)، هماگلوتنین-نورآمینیداز (HN)، و پلی‌مراز (L) می‌باشد. ویروس بیماری نیوکاسل در پنج فرم پاتوتایپ بیماری‌زائی دسته‌بندی می‌شود: فرم ولوژنیک احشائی (NVND): فرم حاد و کشنده‌ای که در تمامی سنین، طیور را درگیر کرده و سبب ایجاد جراحات هموراژیک در دستگاه گوارش می‌شود. فرم ولوژنیک عصبی (NVND): فرم حاد و کشنده‌ای که در تمامی سنین مرغان را درگیر و اغلب با علائم عصبی و تنفسی مشاهده می‌شود. فرم

مزوژنیک: بیماری با تلفات اندک و علایم به صورت حاد تنفسی مشاهده می‌شود. فرم لنتوژنیک: بیماری ملایمی که با علائم خفیف تنفسی همراه است. فرم بدون نشانه: در این فرم، ویروس در روده تکثیر یافته و بدون علامت مشخص می‌باشد. برای تعیین پاتوتایپ ویروس بیماری نیوکاسل از روش‌های مختلف آزمایشگاهی استفاده می‌شود. یکی از روش‌ها اندازه‌گیری شاخص بیماری‌زایی داخل مغزی (ICPI) می‌باشد، که در جوجه یک‌روزه تعیین می‌شود. ویروس‌های دارای ICPI کمتر از۰/۷ لنتوژنیک، مساوی یا بالاتر از ۰/۷ و کمتر از ۱/۵ مزوژنیک و ویروس‌های دارای ICPI بالای ۱/۵ ولوژنیک نام‌گذاری می‌شوند (۱).

واکسیناسیون در کنترل بیماری نیوکاسل علاوه بر کاهش موارد ابتلا و تلفات، موجب کاهش میزان دفع ویروس و نیز کاهش وقوع بیماری در سطح گله‌های طیور می‌شود. قابل ذکر هست که هیچ واکسنی نمی‌تواند به طور کامل پرندگان را در مقابل مرگ‌ومیر حاصل از درگیری با vNDV ایمن نگاه دارد. نتایج ایمنی ایجاد شده توسط واکسن بر اساس میزان آنتی‌بادی تولید شده، میزان کاهش پرندگان بیمار و یا تلف شده و میزان دفع ویروس پس از چالش بررسی می‌شود. بر اساس قانونی که در اتحادیه اروپا در ۹۳/۱۵۲/EEC مصوب شده است، واکسن زنده علیه بیماری نیوکاسل باید ICPI کمتر از ۰/۴ یا ۰/۵ داشته باشد. سازمان جهانی بهداشت حیوانات (OIE) نیز تصویب کرده است که واکسن زنده بیماری نیوکاسل نباید ICPI بالاتر از ۰/۷ داشته باشند (۱۵). در ایران، طبق تقسیم‌بندی قدیم و شناخته شده، تحت ژنوتیپ های مختلف ژنوتیپ ۷ مانند VIId، VIIi، VIIj و در حال چرخش می‌باشند (۷-۸). در واکسیناسیون علیه این بیماری در کشور، از واکسن‌های مختلف زنده نیوکاسل با ICPIهای متفاوت دارای گرایش تنفسی (Lasota، Hitchner B1 و Cloned Lasota) یا گوارشی (VG/GA، ND6/10 و PHY.LMV.42) مصرف می‌گردد.

در حوزه واکسن‌های کشته نیز، واکسن‌ها به‌صورت تک گانه نیوکاسل، دوگانه نیوکاسل + آنفلوانزا، سه‌گانه و یا چهارگانه در اشکال مختلف در گله‌های گوشتی، پولت، تخم‌گذار، مادر و اجداد استفاده می‌شوند. سویه‌های ویروس به کار رفته در این واکسن‌ها از سویه‌های مختلف V4، Ulster 2C و لاسوتا می‌باشند. با وجود واکسیناسیون‌های گسترده علیه نیوکاسل در کشور، همچنان شکست ایمنی به علل گوناگون از جمله تیترهای آنتی‌بادی پایین و غیریکنواخت ایجاد شده در گله وجود دارد (۴). در طی سال‌های اخیر همواره تولید واکسن اتوژن از ژنوتیپ ۷ نیز مورد نظر محققین داخلی بوده است. با توجه به سوالات متعدد و مشکلات صنعت طیور در این حوزه، چهار هدف برای انجام این مطالعه در نظر گرفته شد: ۱) مقایسه تیتر آنتی‌بادی و محافظت ایجاد شده از واکسن‌های کشته با بذرهای متفاوت ویروس نیوکاسل علیه ژنوتیپ ۷، ۲) مقایسه واکسن اتوژن ژنوتیپ ۷ با واکسن‌های رایج، ۳) مقایسه اثر دو ادجوانت تجاری مختلف در ساخت واکسن اتوژن نیوکاسل، ۴) بررسی تزریق همزمان واکسن زنده نیوکاسل بر روی تیتر و محافظت ایجاد شده از واکسن‌های کشته با بذرهای متفاوت نیوکاسل.

مواد و روش کار

تهیه واکسن کشته

در این مطالعه از یک سوش از ویروس نیوکاسل ژنوتیپ هفت که در بانک ویروسی موجود بود و در بانک جهانی ژن ثبت شده بود به عنوان بذر ویروس استفاده شد. ویروس مورد نظر در تخم‌مرغ‌های عاری از پاتوژن پاساژ داده شد و ویروس به صورت تیتر 10^{7} ایجاد گردید. سپس ویروس مورد نظر با فرمالین یک دهم درصد به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه غیرفعال گردید و توسط هموژنایزر آزمایشگاهی، دو اجوانت مونتاناید ISA-70 از دو کشور مختلف سازنده با نسبت حجمی

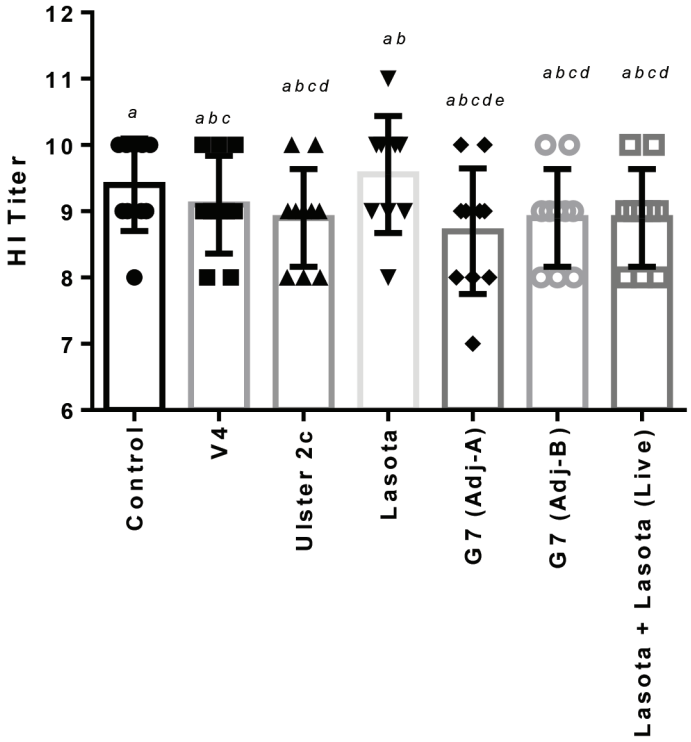
جدول ۱- گروه بندی و نوع واکسن و نحوه دریافت واکسن و چالش در گروه های مختلف.

گروه سن	یک روزگی	۱۴ روزگی	۳۵ روزگی (چالش)
گروه اول یا کنترل	B1(قطره چشمی)	-	بدون چالش (۵ عدد جوجه)
			(ویروس زنده ژنوتیپ ۷ (قطره چشمی و بینی)
گروه دوم	B1 (قطره چشمی)	واکسن کشته V4 (زیر جلدی)	(ویروس زنده ژنوتیپ ۷ (قطره چشمی و بینی)
گروه سوم	B1 (قطره چشمی)	واکسن کشته C Ulster (زیر جلدی)	(ویروس زنده ژنوتیپ ۷ (قطره چشمی و بینی)
گروه چهارم	B1 (قطره چشمی)	واکسن کشته لاسوتا (زیر جلدی)	(ویروس زنده ژنوتیپ ۷ (قطره چشمی و بینی
گروه پنجم	B1 (قطره چشمی)	واکسن کشته ژنوتیپ هفت با ادجوانت A (زیر جلدی)	(ویروس زنده ژنوتیپ ۷ (قطره چشمی و بینی
گروه ششم	B1 (قطره چشمی)	واکسن کشته ژنوتیپ هفت با ادجوانتB (زیر جلدی)	(ویروس زنده ژنوتیپ ۷ (قطره چشمی و بینی)
گروه هفتم	B1 (قطره چشمی)	واکسن کشته لاسوتا (زیر جلدی) + یک دوز واکسن زنده لاسوتا (قطره چشمی)	ویروس زنده ژنوتیپ ۷ (قطره چشمی و بینی)

۷۰ به ۳۰ با آنتی‌ژن ویروسی غیرفعال شده به خوبی مخلوط گردید تا ترکیب هموژن یکدست بدست آید و از این قسمت‌ها پس از تست‌های تاییدی به عنوان واکسن کشته مورد استفاده گردید.

طرح آزمایش

این آزمایش در هفت گروه پولت تخم‌گذار یک روزه (هر گروه ۲۵ عدد جوجه، نگهداری شده در اتاق‌های مجزا، تغذیه یکسان و طبق دستورالعمل پرورش) صورت پذیرفت. تمامی جوجه‌ها در یک روزگی یک دز واکسن B1، با روش قطره چشمی دریافت نمودند. سپس در ۱۴ روزگی به غیر از گروه کنترل، گروه‌های دیگر با تزریق زیرجلدی واکسن‌های کشته بیماری نیوکاسل، حاوی سویه‌های Ulster 2C ، V4، لاسوتا، ژنوتیپ G7 همراه ادجوانت A، ژنوتیپ G7 همراه ادجوانت B و واکسن کشته لاسوتا همراه با یک دز واکسن زنده لاسوتا بصورت تزریق زیرجلدی دریافت نمودند (جدول ۱). عملیات خونگیری قبل از تزریق واکسن و سه هفته بعد در سن ۳۵ روزگی انجام و میزان تیتر آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل در همه گروه‌ها با آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)



شکل ۱- میزان تیتر HI در گروه‌های مختلف که در سن ۳۵ روزگی و قبل از چالش با ویروس زنده.

جدول ۲- میزان تیتر HI در گروه‌های مختلف که در سن ۳۵ روزگی و قبل از چالش با ویروس زنده.

واکسن	کنترل	V4	Ulster 2c	Lasota	G7 (Adj-A)	G7 (Adj-B)	Lasota + Lasota (Live)
تیتر HI	۲/۶	۵/۲۰	۷/۰۰	۵/۳۰	۵/۹۰	۶/۶۰	۶/۲۰
انحراف معیار	۰/۵۵	۱/۶۶	۱/۲۶	۱/۷۳	۱/۹۲	۰/۶۶	۰/۹۸
CV٪	۹/۱۳	۳۱/۹۵	۱۸/۰۷	۳۲/۷۳	۳۲/۵۶	۱۰/۰۵	۱۵/۸۰

اندازه‌گیری شد. ساخت واکسن ژنوتیپ ۷، طبق دستورالعمل OIE انجام گرفت. تمامی واکسن‌های مصرف شده، از واکسن‌های تجاری دوگانه ساخت ایران و یا وارداتی بودند.

چالش

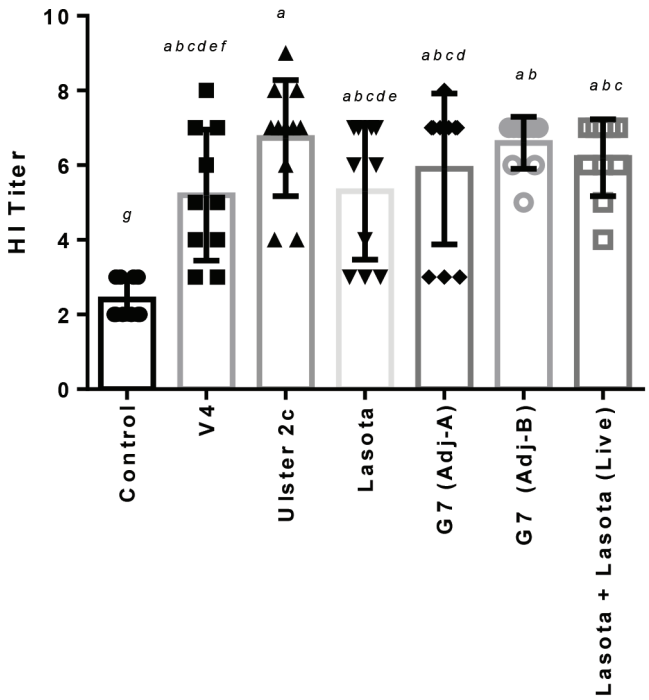
در ۳۵ روزگی، کلیه جوجه‌ها (بغیر از پنج قطعه از جوجه‌های کنترل)، توسط روش چشمی_ بینی با دز 10^{5} (EID_{50}) با استفاده از ویروس ژنوتیپ ۷ ثبت شده در بانک جهانی ژن (Accession No.: JX131352) چالش داده شدند و میزان مرگ و میر تا هفت روز بعد از چالش مورد بررسی قرار گرفت. جهت بررسی میزان اثر چالش بر روی تیتر، ۱۴ روز بعد از تلقیح از همه گروه‌ها خونگیری شد.

آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)

در یک زمان مشخص، آزمون HI بر روی تمامی نمونه‌های سرمی، با توجه به دستورالعمل استاندارد سازمان دامپزشکی کل کشور انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Office Excel و Graphpad



شکل ۲- میزان تیتر HI در گروه‌های مختلف در دو هفته بعد از چالش در سن ۴۹ روزگی.

جدول ۳ - میزان تیتر HI در گروه‌های مختلف در دو هفته بعد از چالش در سن ۴۹ روزگی.

واکسن	کنترل	V4	Ulster 2c	Lasota	G7 (Adj-A)	G7 (Adj-B)	Lasota + Lasota (Live)
تیتر HI	۹/۵	۹/۱۰	۸/۹۰	۹/۵۶	۸/۷۰	۸/۹۰	۸/۹۰
انحراف معیار	۰/۶۵	۰/۷۰	۰/۷۰	۰/۸۳	۰/۹۰	۰/۷۰	۰/۷۰
CV٪	۱۰/۲۳	۷/۶۹	۷/۸۷	۸/۷۰	۱۰/۳۴	۷/۸۷	۷/۸۷

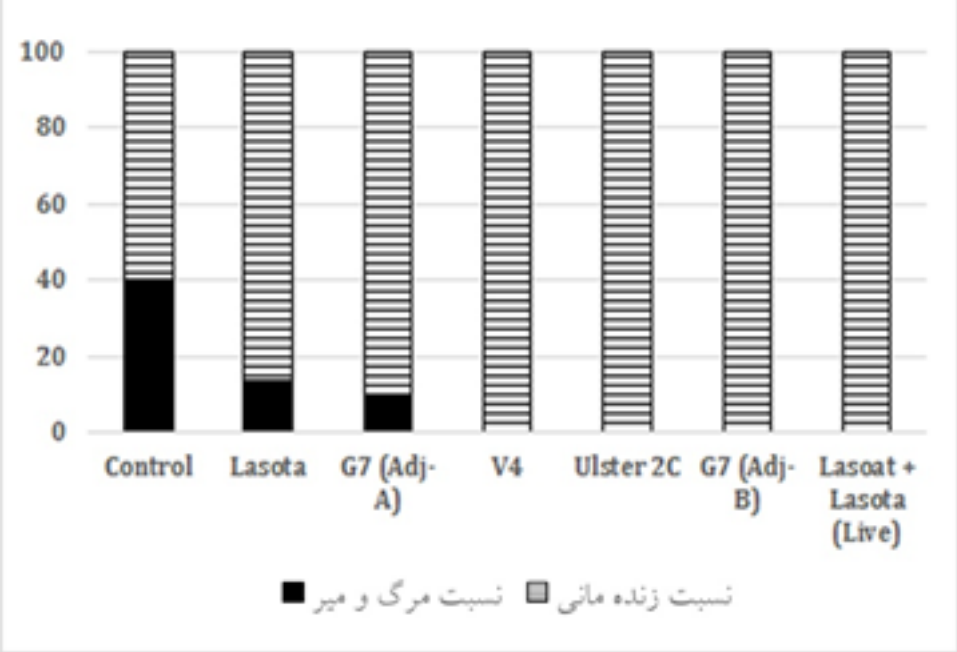
۶ با استفاده از آزمون‌های توصیفی و آزمون ANOVA (میزان سطح معنی داری P<۰،۰۵) مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

نتایج نشان داد، میزان تیترآنتی بادی علیه بیماری نیوکاسل در سه هفته بعد از تزریق در گروهی که واکسن حاوی سویه Uslter 2C دریافت کرده بود، نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر (۷ ± ۱/۲۶) بود (غیرمعنی‌دار، ۰/۰۵ <p). اطلاعات تیتر تمامی گروه‌های واکسن در شکل ۱ و جدول ۲ آورده شده است. کمترین میزان تیتر آنتی‌بادی (۵/۲ ± ۱/۶۶) توسط واکسن حاوی سویه V4 ایجاد شد (غیرمعنی‌دار، ۰/۰۵<p) (شکل۲ و جدول ۳). در گروه دریافت‌کننده واکسن حاوی سویه‌های لاسوتا و ژنوتیپ ۷ با ادجوانت شرکت A مرگ و میر به ترتیب ۱۳/۳ و ۱۰ درصد بود و در گروه کنترل میزان مرگ و میر ۴۰ درصد ثبت شد (شکل ۳ و جدول ۳).

بحث

بیماری نیوکاسل یکی از بیماری‌های شایع در صنعت طیور بوده و خسارات اقتصادی جدی را به این صنعت وارد می‌کند. بعد از بروز بیماری نیوکاسل در انگستان در سال ۱۹۳۳، واکسن H از سویه بیماری‌زا، بعنوان اولین واکسن تهیه گردید. به دنبال آن سویه Hitchner B۱ و لاسوتا از ویروس‌های غیر بیماری‌زای مزرعه بعنوان واکسن معرفی و مصرف شدند (۳). واکسن‌های مختلفی با گرایش تنفسی (B۱ و لاسوتا و کلون لاسوتا) و گرایش گوارشی (ND6/10, VG/GA68, PHY.LMV.42 و I2) در کشور مصرف می‌گردد که دارای ICPI متفاوتی هستند (۷). سال‌هاست که واکسن‌های زنده نیوکاسل تهیه شده از سویه‌های نسبتاً



شکل ۳- میزان مرگ و میر و زنده مانی در گروه‌های مختلف در سن ۴۲ روزگی.

جدول ۴- میزان مرگ و میر و زنده مانی در گروه‌های مختلف در سن ۴۲ روزگی.

گروه‌ها	Control	Lasota	G7 (Adj-A)	V4	Ulster 2C	G7 (Adj-B)	Lasota + Lasota (Live)
نسبت مرگ و میر	۴۰	۱۳/۳	۱۰	۰	۰	۰	۰
نسبت زنده مانی	۶۰	۸۶/۷	۹۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰

غیربیماری‌زا یا لنتوژن به دلیل راحتی در استفاده و قابلیت مصرف بصورت گروهی، بیشتر از واکسن‌های غیرفعال مورد توجه بوده‌اند. با این حال، پیشرفت‌های اخیر در تهیه واکسن‌های غیرفعال از طریق فرآیند غیرفعال‌سازی، به کار بردن ادجوانت‌های مختلف، بهینه کردن روش‌های فرمولاسیون و روند ایجاد امولسیون که منجر به افزایش برانگیختگی در سیستم ایمنی هومورال شده‌اند، مصرف پرهزینه و دشوار آن را توجیه‌پذیر ساخته‌اند (۱۷). در حوزه واکسن‌های کشته، واکسن‌ها بصورت تک‌گانه نیوکاسل، دوگانه نیوکاسل + آنفلوانزا و سه گانه و چهارگانه در فرمول‌های مختلف در گله‌های گوشتی، پولت، تخم‌گذار، مادر و اجداد استفاده می‌شوند. از معایب واکسن‌های غیرفعال نیوکاسل می‌توان به دوره‌ی منع مصرف چند روزه قبل از کشتار طیور و به مصرف رسیدن آن توسط انسان اشاره کرد و همچنین این نوع واکسن نیازمند تجویز انفرادی به صورت تزریق زیر جلدی یا داخل عضلانی هستند. این دسته از واکسن‌ها هرچند میزان آنتی‌بادی هومورال بالایی را ایجاد می‌کنند، ولی پاسخ‌های قدرتمند وابسته به سلول را ایجاد نکرده و پرنده‌های تزریق شده، مقادیر بیشتری از ویروس چالش را در مقایسه با پرنده‌هایی که واکسن زنده‌ی نیوکاسل را دریافت کرده‌اند دفع می‌کنند. با این حال، بطور کلی بیشتر واکسن‌ها میزان دفع ویروس در بزاق و مدفوع را در مقایسه با پرندگان غیر واکسینه کاهش می‌دهند (۱۴). میزان دفع ویروس به میزان ایمنی میزبان، گونه میزبان آلوده شده، مقدار و حدت ویروس چالش، دز دریافتی، نوع واکسن و زمان بین واکسیناسیون و چالش بستگی دارد (۱۵).

سویه‌های واکسن کشته بیماری نیوکاسل در ایران از سویه‌های مختلف مانند V4، Ulster 2C و لاسوتا بوده و میزان تیترآنتی‌بادی متفاوتی در اثر تزریق در تخم مرغ ایجاد می‌کنند.

وینترفیلد و همکاران (۱۹۸۰) ایمنی‌زایی دو واکسن کشته تولید شده از سویه لاسوتا، از دو برند تجاری مختلف را بررسی کردند و نشان دادند که تیتر HI حاصل از یک نوع واکسن به طور معنی‌دار از دیگری بیشتر بود (۱۶). تجربه میلر و همکاران در سال ۲۰۱۳ حاکی از ایجاد تیترهای HI بین ۶ و ۷ (log۲) برای هر دو واکسن کشته حاصل از ویروس‌های لاسوتا و ژنوتیپ ۷ حاد و با استفاده از آنتی‌ژن سویه لاسوتا برای انجام تست بود که با جایگزین کردن آنتی‌ژن ژنوتیپ ۷، تیتر گروه دریافت کننده واکسن کشته هومولوگ، افزایش و دیگری کاهش داشتند (۱۲). نتایج این مطالعه همانند مطالعه میلر و همکاران، نشان داد که پاسخ ایمنی حاصل از واکسن‌های تجاری مختلف و واکسن‌های تهیه شده از ویروس حاد ژنوتیپ ۷ علی‌رغم دارا بودن آنتی‌ژنیسیته و ایمونوژنیسیته متفاوت بذر، در محدوده بین پنج تا هفت بوده و اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند. شاید تفاوت‌های تیتر ایجاد شده را حتی بتوان به کیفیت ساخت ارتباط داد. با بررسی پرونده ثبت این واکسن‌ها مشخص شد که ادجوانت استفاده شده در همه آنها نیز ثابت و از ادجوانت ISA-70 شرکت Seppic فرانسه استفاده شده بود.

همچنین این تجربه نشان داد که تزریق واکسن زنده لاسوتا اگر چه سبب تغییر معنی‌داری در افزایش تیتر نمی‌شود، اما میزان پراکندگی را در مقایسه به گروهی که تنها واکسن کشته دریافت کرده بودند، کاهش داد که شاید تزریق این واکسن زنده در جوجه‌کشی همراه با سایر واکسن‌های زنده مانند (بورس عفونی پرندگان) بتواند مشکلات پراکندگی تیتر را تا حد زیادی برطرف سازد.

در مطالعه ی وینترفیلد و همکاران (۱۹۸۰)، چالش گروه‌های واکسینه با ویروس حاد استاندارد GB-Texas (متعلق به ژنوتیپ۲) انجام گرفت که هر دو واکسن تجاری مورد استفاده که از سویه لاسوتا تهیه شده بودند توانستند ۱۰۰ درصد محافظت در برابر تلفات ایجاد کنند (۱۷). میلر و همکاران (۲۰۱۳) نشان دادند جوجه‌های واکسینه با واکسن کشته تهیه شده از سویه لاسوتا و ویروس حاد ژنوتیپ۷، هر دو در مقابل چالش با ویروس حاد به کار رفته در واکسن، ایمنی ۱۰۰درصد ایجاد می‌کنند (۱۲). در مطالعه‌ی حاضر ویروس مورد چالش متعلق به ژنوتیپ ۷ بود که نسبت به ویروس به کار رفته در واکسن‌های تجاری، هترولوگ، و نسبت به واکسن‌های تهیه شده با ویروس حاد، هومولوگ در نظر گرفته شد. در این مطالعه محافظت واکسن کشته حاوی سویه لاسوتا و ژنوتیپ ۷ با ادجوانت A به‌ترتیب ۸۶/۷ و ۹۰ درصد بود (۱۲). با توجه به اهمیت زمان در ارتقای پاسخ ایمنی، نکته مهم دیگر مطالعه حاضر این بود که، حتی واکسن‌های غیرفعال هترولوگ نیز همانند انواع هومولوگ می‌توانند در صورت به تعویق افتادن چالش از ایجاد بیماری جلوگیری کنند و بدین ترتیب اهمیت کاربرد اصول امنیت زیستی در سطح مزرعه با توجه به نتایج کارهای آزمایشگاهی بیش از پیش مورد تاکید است.

در این مطالعه اثرات دو ادجوانت مختلف در ساخت یک واکسن اتوژن بررسی شد. جعفری و همکاران در سال ۲۰۱۷ ایمنی حاصل از واکسن نیوکاسل غیرفعال فرموله شده با ادجوانت روغنی و دو غلظت متفاوت از آلومینیوم هیدروکساید را در جوجه‌های SPF بررسی و با مقایسه نتایج گزارش کردند که، پاسخ ایمنی در استفاده از ترکیبات روغن قوی‌تر از ترکیبات آلومینیوم هیدروکساید است (۱۲). نتایج این مطالعه در ساخت واکسن اتوژن نشان داد که انتخاب ادجوانت تجاری می‌تواند نقش موثر در ایجاد حفاظت و تیتر مناسب داشته باشد هرچند که تفاوت معنی‌داری در میزان تیتر آنتی‌بادی و حفاظت ایجاد شده مشاهده نشد.

مشاهدات وینترفیلد (۱۹۸۰) نشان داد با وجود محافظت ۱۰۰ درصد در برابر تلفات حاصل از چالش در گروه‌های واکسن‌های کشته و واکسن لاسوتا، فقط در گروه واکسن لاسوتا ویروس حاد از نای جدا نگردید و واکسن‌های کشته نتوانستند از دفع ویروس چالش از نای جلوگیری کنند (۱۲). میلر و همکاران (۲۰۱۳) نیز در پرنده‌های دریافت‌کننده واکسن کشته لاسوتا و نیز ژنوتیپ ۷، افزایش تیتر آنتی‌بادی را پس از چالش با ویروس ژنوتیپ ۷ گزارش کردند که اثبات کننده عدم پیشگیری کامل از تکثیر ویروس چالش شده بود. البته این افزایش در مورد واکسن لاسوتا حدود ۳ لوگ و برای واکسن هومولوگ حدود ۱ لوگ گزارش شد (۱۷).

در مورد استفاده از هم‌خوانی آنتی‌ژن بین واکسن و سویه در حال چرخش نظرات متفاوتی وجود دارد. برخی شباهت بیشتر را سبب افزایش ایمنی، حفاظت بیشتر و کاهش دفع ویروس می‌دانند (۶, ۱۰) و برخی آن را بدلیل وجود تنها یک سروتیپ برای ویروس نیوکاسل، مفید نمی‌دانند (۱۳). همچنین نقش ادجوانت‌های متفاوت و کیفیت آن‌ها در ایمنی و محافظت جوجه در برابر چالش با نیوکاسل حاد تایید شده است (۵)، که در این مطالعه نیز شواهدی از تفاوت ادجوانت در ایجاد تیتر آنتی‌بادی و محافظت، مشاهده شد.

نتیجه گیری نهایی

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد این واکسن‌ها دارای تفاوت معنی‌داری درایجاد تیتر آنتی‌بادی علیه بیماری نیوکاسل و زنده مانی در جوجه‌های مورد آزمایش نمی‌باشند. شایسته است مطالعات بعدی در مورد واکسیناسیون به جز استفاده از آنتی‌ژن‌های همولوگ، بر روی راه‌های سرعت بخشیدن به پاسخ ایمنی نیز متمرکز گردند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از دکتر کسایی جهت تامین جوجه و دان مورد نیاز این مطالعه تقدیر و تشکر می‌گردد. از کلیه کارشناسان آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و آزمایشگاه دامپزشکی PCR در انجام این آزمایش سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

1- Al-Garib, S., A. Gielkens, E. Gruys and G. Kochi. 2003. Review of Newcastle disease virus with particular references to immunity and vaccination. *World's Poultry Science Journal* 59: 185-200.

2- Alexander, D. J., E. W. Aldous and C. M. Fuller. 2012. The long view: a selective review of 40 years of Newcastle disease research. *Avian Pathology* 41: 329-335.

3- Alexander, D. J., J. G. Bell and R. G. Alders. 2004. A technology review: Newcastle disease, with special emphasis on its effect on village chickens. Available online at: http://www.fao.org/3/y5162e/y5162e00.htm . Accessed 2004.

4- Awan, M. A., M. Otte and A. James. 1994. The epidemiology of Newcastle disease in rural poultry: a review. *Avian Pathology* 23: 405-423.

5- Brugh, M., H. Stone and H. Lupton. 1983. Comparison of inactivated Newcastle disease viral vaccines containing different emulsion adjuvants. *American Journal of Veterinary Research* 44: 72-75.

6- Dimitrov, K. M., C. L. Afonso, Q. Yu and P. J. Miller. 2017. Newcastle disease vaccines—A solved problem or a continuous challenge? *Veterinary Microbiology* 206: 126-136.

7- Fallah Mehrabadi, M. H., S. A. Ghafouri, A. Shoushtari, F. Tehrani, S. Masoudi, M. Abdoshah, S. Amir Hajloo and M. Shabani. 2020. Effectiveness of Thermostable Vaccine for Newcastle Disease Produced by the Razi Institute on Backyard Poultry in Iran during 2015. *Archives of Razi Institute*. 75: 1-7.

8- Ghalyanchilangeroudi, A., H. Hosseini, M. Jabbarifakhr, M. H. Fallah Mehrabadi, H. Najafi, S. A. Ghafouri, F. S. Mousavi, Z. Ziafati and A. Modiri. 2018. Emergence of a virulent genotype VIIi of Newcastle disease virus in Iran. *Avian Pathology* 47: 509-519.

9- Hosseini, H., A. G. Langeroudi and R. Torabi. 2014. Molecular characterization and phylogenetic study of Newcastle disease viruses isolated in Iran, 2010–2012. *Avian Diseases* 58: 373-376.

10- Hu, S., H. Ma, Y. Wu, W. Liu, X. Wang, Y. Liu and X. Liu. 2009. A vaccine candidate of attenuated genotype VII Newcastle disease virus generated by reverse genetics. *Vaccine* 27: 904-910.

11- ICTV. (2019). International committee on taxonomy of viruses. Available online at: https://talk.ictvonline.org/taxonomy/. Accessed 1 July 2019.

12- Miller, P. J., C. L. Afonso, J. El Attrache, K. M. Dorsey, S. C. Courtney, Z. Guo and D. R. Kapczynski. 2013. Effects of Newcastle disease virus vaccine antibodies on the shedding and transmission of challenge viruses. *Developmental & Comparative Immunology* 41: 505-513.

13- Miller, P. J., E. L. Decanini and C. L. Afonso. 2010. Newcastle disease: evolution of genotypes and the related diagnostic challenges. *Infection, Genetics and Evolution* 10: 26-35.

14- Miller, P. J., C. Estevez, Q. Yu, D. L. Suarez and D. J. King. 2009. Comparison of viral shedding following vaccination with inactivated and live Newcastle disease vaccines formulated with wild-type and recombinant viruses. *Avian Diseases* 53: 39-49.

15- Miller, P. J. and G. Koch. Section. 2013. Newcastle disease. pp. 89-138. In: DE Swayne(13th). Diseases of Poultry. Wiley-Blackwell. New Jersey.

16- Motamed, N., A. Shoushtari and M. H. Fallah Mehrabadi. 2020. Investigation of Avian Influenza Viruses (H9N2-H5nx) in Pigeons during Highly Pathogenic Avian Influenza Outbreaks in Iran, in 2016. *Archives of Razi Institute.* 75: 197-203.

17- Winterfield, R., A. Dhillon and L. Alby. 1980. Vaccination of chickens against Newcastle disease with live and inactivated Newcastle disease virus. *Poultry Science* 59: 240-246.