

## برهمکنش واکسن نیوکاسل با پاسخ سرمی ناشی از واکسن بیماری لارنگوتراکئیت عفونی پرندگان

• اسداله ارژنگ پور

دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

• آرش قلیانچی لنگرودی

گروه میکروبیولوژی و ایمنولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

• حسین حسینی

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

• کاوه پروندار اسدالهی (نویسنده مسئول)

گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات،

تهران، ایران



تاریخ دریافت: ۱۲-۱۲-۱۳۹۹ تاریخ پذیرش: ۰۳-۰۳-۱۴۰۰

Emali: kaveh\_parvandar@yahoo.com

### چکیده

بیماری لارنگوتراکئیت عفونی (Infectious Laryngotracheitis) یک بیماری مهم اقتصادی دستگاه تنفس در میان ماکیان می‌باشد. این بیماری به شدت واگیردار بوده و بوسیله آلفا هرپس ویروس تیپ یک طیور (GaHV-1) ایجاد می‌شود. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات واکسن نیوکاسل بر روی واکسن لارنگوتراکئیت بوده است. بر این اساس تعداد ۱۲۵ عدد پالت تخم‌گذار LSL ۲۷ روزه را بصورت کاملا تصادفی به پنج گروه تقسیم و در اتاق‌های جداگانه در دمای استاندارد نگهداری و طبق یک برنامه خاص با واکسن نیوکاسل و لارنگوتراکئیت عفونی واکسینه گردیدند، سه هفته بعد از واکسیناسیون، سرم‌ها با استفاده از آزمون ممانعت از هم‌آگلوتیناسیون (HI) جهت بررسی تیتراژ نیوکاسل و الیزا جهت بررسی تیتراژ لارنگوتراکئیت مورد آزمایش قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد تیتراژ لارنگوتراکئیت عفونی (۱۹۹۰±۶۳۱) در گروهی (G4) که ابتدا واکسن نیوکاسل و سه روز بعد واکسن لارنگوتراکئیت عفونی دریافت نمود، بیشتر از سایر گروه‌ها و بصورت معنی‌دار بود (P<۰/۰۵) و تیتراژ نیوکاسل (۵/۱±۱/۴۵) در این گروه بطور غیرمعنی‌داری از سایر گروه‌ها کمتر بود (P>۰/۰۵). همچنین تیتراژ نیوکاسل در گروهی (G2) که ابتدا واکسن لارنگوتراکئیت عفونی دریافت کرده بود، بطور غیرمعنی‌داری بالاتر قرار داشت (P>۰/۰۵). نتایج این مطالعه اثر مثبت واکسن نیوکاسل را قبل از واکسن لارنگوتراکئیت نشان داد. همچنین در نتایج حاصل از این مطالعه مشاهده شد که این دو واکسن بهتر است با یکدیگر مصرف نگردند و برای دریافت تیتراژ بالاتر قبل از واکسن لارنگوتراکئیت بهتر است یک واکسن نیوکاسل استفاده شود. پیشنهاد می‌شود در ادامه کار بر روی سایر واکسن‌های زنده و تداخلات، مطالعه صورت پذیرد.

کلمات کلیدی: لارنگوتراکئیت عفونی، نیوکاسل، واکسیناسیون

- Veterinary Researches & Biological Products No 134 pp: 66-71

### Interaction of Newcastle disease vaccine on serum response induced by avian infectious laryngotracheitis vaccine

By: Arjangpour, A., Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. Ghalyanchilangeroudi, A., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Hosseini, H., Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. and Parvandar Asadollahi, K., (Corresponding Author) Department of Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

Received: 2021-03-02 Accepted: 2021-05-24

Emali: kaveh\_parvandar@yahoo.com

Infectious Laryngotracheitis (ILT) is an important economic disease of the respiratory tract in chickens. The highly contagious disease is caused by Gallid alphaherpesvirus 1 (GaHV-1). This study aimed to investigate the effects of Newcastle disease vaccine on the laryngotracheitis vaccine. Therefore a total number of 125 twenty-seven days old LSL commercial pullet randomly divided into five groups and kept in the separate rooms at standard temperature. Then according to a special program, they were vaccinated with Newcastle disease and infectious laryngotracheitis vaccines. Three weeks after vaccination, the serums were tested by hemagglutination inhibition (HI) test for Newcastle disease and ELISA for infectious laryngotracheitis. The results of this study showed that the titer of infectious laryngotracheitis ( $1990 \pm 631$ ) in a group (G4) that received the Newcastle disease vaccine first and the infectious laryngotracheitis vaccine three days later was more significant than other groups ( $P > 0.05$ ). Newcastle titer ( $5.1 \pm 1.45$ ) was non significantly lower in this group than in other groups. Also, Newcastle disease titer was non significantly higher in the group (G2) that first received the ILT vaccine ( $P > 0.05$ ). The results of this study showed a positive effect of Newcastle disease vaccine if used before the laryngotracheitis vaccine. The results of this study showed that it is better not to use these two vaccines together and to get a higher titer, it is better to use a Newcastle vaccine before the laryngotracheitis vaccine. It is recommended that to study other live vaccines and their interactions.

**Keywords:** infectious laryngotracheitis, Newcastle, Vaccination

ایجاد کرده و کاهش جزئی تولید تخم مرغ در گله مشاهده می‌گردد (V). تشخیص آزمایشگاهی شامل شناسایی ضایعات میکروسکوپی، شناسایی DNA یا آنتی‌ژن ویروس از قسمت فوقانی بافت‌های تنفسی و در نهایت جداسازی ویروس می‌باشد. جدایه‌های وحشی و سویه‌های واکسینال ویروس لارنگوتراکئیت بوسیله تکنیک PCR در قطعه‌ای از ژنوم یا چند قطعه از آن، با توالی‌یابی محصولات PCR و تجزیه و تحلیل اطلاعات آنها تفکیک می‌شوند. اخیراً، جدایه‌های وحشی و سویه‌های واکسینال با توالی‌یابی کامل ژنومی دقیق‌تر از همدیگر قابل تفکیک می‌باشند. تجزیه تحلیل ژنوتیپی مشخص می‌کند که آیا ویروس از واکسن‌های زنده منشا گرفته و یا مربوط به ژنوتیپ‌های همه‌گیری‌های قبلی است (۱۳)، (۱۴). تکنیک‌های سرولوژی که برای شناسایی GaHV-1 بکار می‌روند شامل آگار ژل ایمونودیفیوژن، خنثی‌سازی ویروس، فلوروسنت آنتی‌بادی غیر مستقیم و الیزا می‌باشند. متأسفانه این روش‌ها، ابزار تشخیصی مناسبی نمی‌باشند، ولی به عنوان ابزاری برای اندازه‌گیری تغییرات سرمی که توسط واکسن ایجاد شده است بکار می‌روند. در این بین، آگار ژل ایمونودیفیوژن کم‌ترین حساسیت را داشته، در حالی که الیزا، فلوروسنت آنتی‌بادی غیرمستقیم و آزمون خنثی‌سازی ویروس حساسیت برابری

### مقدمه

لارنگوتراکئیت عفونی (ILT) یک بیماری مهم اقتصادی مربوط به دستگاه تنفس در بین ماکیان می‌باشد. این بیماری به شدت واگیردار، بوسیله آلفا هرپس ویروس تیپ یک طیور (1-GaHV) ایجاد شده و به عنوان ویروس لارنگوتراکئیت به طور رایج شناخته می‌شود (ILT). این ویروس به راحتی به ماکیان از طریق سایر پرنده‌های عفونی و اشیای آلوده منتقل می‌گردد. ضعف در امنیت زیستی، انتقال پرندگان آلوده و پخش زباله‌های آلوده در محیط، گسترش ویروس را تسهیل می‌کند. در فرم حاد بیماری لارنگوتراکئیت علائم بلع هوا، سرفه با آگزودای خونی، لرزش و کشیدگی گردن هنگام تنفس در پنج تا ۱۲ روز بعد مواجهه طبیعی، دیده می‌شود و میزان کاهش تولید در مرغان تخمگذار متفاوت است. پرندگان آلوده، بی‌اشتها، کز کرده و غیرفعالند. کشندگی بیماری متفاوت بوده و ممکن است تا ۵۰٪ در مرغان بالغ دیده شود که معمولاً بعلت انسداد نای با خونریزی و یا آگزودا می‌باشد. علائم معمولاً بعد از دو هفته فروکش می‌کند، اگرچه برخی از پرندگان ممکن است علائم را مدت بیشتری نشان دهند. سویه‌های با حدت کمتر یا باعث مرگ پرنده نمی‌شوند و یا تلفات کمتری را سبب می‌شوند که علائم تنفسی ملایمی

با واکسن‌های نیوکاسل و لارنگوتراکتیت عفونی واکسینه شدند. جهت واکسیناسیون، واکسن لاسوتا نیوکاسل و واکسن لارنگوتراکتیت (یک دز و با روش چشمی) تجویز گردید. ۲۱ روز بعد از آخرین واکسن خون‌گیری از ورید بالی از ۲۰ قطعه جوجه جهت بدست آوردن نمونه‌های سری بر طبق روش استاندارد انجام پذیرفت.

### آزمون الایزا (ELISA) لارنگوتراکتیت عفونی

بر روی نمونه‌ها (۱۰ عدد از هر گروه) آزمون الایزا (ELISA) با استفاده از کیت تجاری بیوپک طبق دستورالعمل سازنده کیت انجام و تیتراهای بدست آمده جهت بررسی‌های بیشتر استخراج گردید.

### آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)

بر روی همه نمونه‌های سرم در یک زمان خاص، آزمون HI با توجه به دستورالعمل استاندارد سازمان دامپزشکی کل کشور و سازمان بهداشت جهانی حیوانات (OIE) و با استفاده از آنتی‌ژن لاسوتا انجام پذیرفت (۲۰).

### تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Office Excel، Graphpad و ANOVA مورد بررسی قرار گرفت.

### نتایج

نتایج این مطالعه نشان داد میزان تیتراکتیو آنتی‌بادی علیه لارنگوتراکتیت عفونی (۶۳۱ ± ۱۹۹۰) در گروه (G4) که ابتدا واکسن نیوکاسل و سه روز بعد واکسن لارنگوتراکتیت عفونی دریافت کرده بود، بصورت معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها می‌باشد ( $P < 0.05$ ) (شکل ۱ و جدول ۲). میزان تیتراکتیو آنتی‌بادی علیه نیوکاسل (۵/۱ ± ۱/۴۵) در این گروه همچنین بطور غیرمعنی‌داری از سایر گروه‌ها کمتر بود ( $P > 0.05$ ). میزان تیتراکتیو آنتی‌بادی علیه نیوکاسل در گروهی (G2) که ابتدا واکسن لارنگوتراکتیت عفونی دریافت کرد، بطور غیرمعنی‌داری بالاتر بود ( $P > 0.05$ ) (شکل ۲ و جدول ۳).

دارند. الایزا علاوه بر حساسیت بالا، تست راحت و مناسبی برای تعداد زیادی از نمونه‌ها بدون نیاز به تست فلورسنت آنتی‌بادی غیرمستقیم می‌باشد. علاوه بر این، الایزا برای شناسایی و اندازه‌گیری آنتی‌بادی علیه GaHV-1 ترجیح داده می‌شود (۱۸). واکسیناسیون علیه این بیماری، بوسیله واکسن‌های زنده تخفیف حدت یافته و یا واکسن‌های وکتور نوترکیب انجام می‌شود. واکسن‌های زنده از جدایه‌های با حدت بالا که بوسیله پاساژهای متوالی در جنین یا کشت سلول، تخفیف حدت داده شده اند، منشا می‌گیرند. این واکسن‌ها از طریق قطره چشمی و یا واکسیناسیون همگانی با آب آشامیدنی و اسپری تجویز می‌گردند. وکتور نوترکیب واکسن آبله مرغی و هرپس ویروس بوقلمون، بصورت تجاری طراحی شده است که پروتئین‌های ایمنی‌ساز ویروس لارنگوتراکتیت را بیان می‌کند، که بصورت انفرادی برای یک پرنده واکسیناسیون می‌تواند داخل تخم مرغ، زیر جلد و یا شبکه‌ی عروق زیر بال انجام شود (۱۲). در ایران نیز واکسیناسیون در برخی از مناطق با استفاده از واکسن‌های تولید شده با تخم مرغ انجام می‌شود و متأسفانه گزارشی از بیماری در کشور وجود دارد (۳). در صنعت طیور واکسن‌های زنده مختلفی به علت محدودیت زمانی و یا راحت‌تر بودن تجویز همگانی و همچنین کاهش استرس واکسن، همزمان با یکدیگر مصرف می‌شوند. همواره برهمکنش واکسن‌ها بر روی یکدیگر یکی از موضوعات مهم کاربردی و تحقیقاتی در زمینه طیور بوده است. گزارشات حاصل از فیلد و برخی از منابع، به برهم کنش اثر واکسن لارنگوتراکتیت و نیوکاسل اشاره دارد (۹، ۱۸). هدف از انجام این مطالعه بررسی اثرات واکسن نیوکاسل بر روی واکسن لارنگوتراکتیت و یا به اصلاح برهمکنش این دو واکسن با یکدیگر بوده است.

### مواد و روش کار طراحی مطالعه

تعداد ۱۲۵ قطعه پولت تخم‌گذار نژاد LSL، ۲۷ روزه بصورت کاملاً تصادفی انتخاب، به پنج گروه تقسیم و در اتاق‌های جداگانه در دمای استاندارد نگهداری شدند. دان مورد نیاز بر اساس نیاز تغذیه‌ای این سویه تجاری تا پایان آزمایش برای همه گروه‌ها بصورت یکسان تامین گردید. گروه‌های مورد مطالعه براساس برنامه واکسیناسیون جدول یک

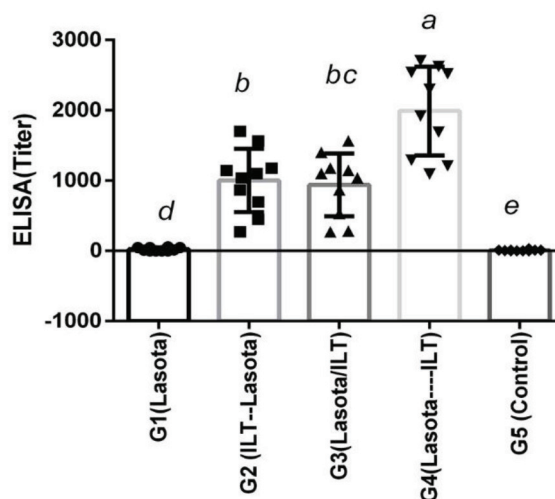
جدول ۱- برنامه واکسیناسیون جهت بررسی برهمکنش واکسن‌های لارنگوتراکتیت و نیوکاسل.

سن ۵۴ روزگی	سن ۳۳ روزگی	سن ۳۰ روزگی	سن ۲۷ روزگی	
نمونه‌گیری	-----	لاسوتا	-----	گروه ۱ G (لاسوتا)
نمونه‌گیری	-----	لاسوتا	ILT	(لاسوتا-ILT) گروه G2
نمونه‌گیری	-----	لاسوتا + ILT	-----	(لاسوتا / ILT) گروه G3
نمونه‌گیری	ILT	لاسوتا	-----	(لاسوتا-ILT) گروه G4
نمونه‌گیری	-----	-----	-----	گروه G2 (کنترل)

بیماری افزایش یافته است (۱۶). برهمکنش بین واکسن‌های زنده همواره یکی از موضوعات مهم در تحقیقات بیماری‌های طیور بوده است. در این مطالعه تجویز همزمان دو واکسن نیوکاسل و لارنگوتراکئیت عفونی، اثری بر روی پاسخ سرمی لارنگوتراکئیت و نیوکاسل ایجاد نکرد بطوری که اگر واکسن نیوکاسل ابتدا تجویز شود، میزان پاسخ سرمی به واکسن لارنگوتراکئیت عفونی بطور معنی‌داری افزایش می‌یابد. در حالت دیگر اگر واکسن لارنگوتراکئیت پیش از واکسن نیوکاسل مصرف شود نیز، پاسخ آنتی‌بادی علیه لارنگوتراکئیت بیشتر خواهد بود. شاید علت این پدیده تحریک سیستم ایمنی میزبان توسط واکسن نیوکاسل باشد که سبب ایجاد آنتی‌بادی بالاتر علیه واکسن لارنگوتراکئیت می‌شود. زمانی که ابتدا لارنگوتراکئیت تجویز می‌شود، احتمالاً به دلیل التهاب در نای، نفوذ ویروس نیوکاسل بیشتر شده و ایمنی همورال مربوط به نیوکاسل افزایش می‌یابد. برخی از کارشناسان آزمایشگاهی و کلینیسین‌های طیور، به اثر ضایعات و التهاب نای (Tracheitis) در افزایش پاسخ سرمی علیه عوامل ویروسی که محل ورود و تکثیر اولیه آن‌ها نای می‌باشد، اشاره می‌کنند (۱۵). این ضایعات امکان تماس و نفوذ بیشتر ویروس واکسن در مکان‌های گیرنده را فراهم می‌کند (شکل یک و جدول ۲). این پدیده سبب افزایش پاسخ سرمی بیش از حد یک واکسن می‌گردد، بصورتی که شبیه پاسخ سرمی در یک بیماری فعال مشاهده می‌شود (۱۹). دو نوع واکسن زنده‌ی تخفیف حدت یافته در جهان برای کنترل لارنگوتراکئیت عفونی مورد استفاده قرار داده می‌شود: ۱- واکسن با منشا جنین جوجه (CEO)، ۲- واکسن با منشا کشت بافت (TCO). این بیماری‌های علیرغم واکسیناسیون در مناطق پرتراکم پرورش مرغان گوشتی بصورت دائمی دیده می‌شود. در این میان، فاکتورهایی هستند که ممکن است اثربخشی واکسن را تحت تاثیر قرار دهند. واکسن لارنگوتراکئیت زنده‌ی تخفیف حدت یافته ممکن است با واکسن بیماری نیوکاسل (NDV) و واکسن بیماری برونشیت عفونی (IBV) تداخل اثر داشته باشد. در مطالعه‌ی توسط واگنوزی و همکاران، واکسیناسیون لارنگوتراکئیت عفونی با منشا CEO و TCO در سن ۱۴ روزگی بصورت تنها و یا در ترکیب با هم، همچنین با استفاده از سویه B۱ هیچ‌چیز از ویروس نیوکاسل و نیز در ترکیب با سویه‌های واکسینال آرکانزاس و ماساچوست ویروس بیماری برونشیت عفونی انجام شد. دو هفته بعد از واکسیناسیون (سن ۲۸ روزگی) جوجه‌ها با سویه‌های حدت بالا از بیماری لارنگوتراکئیت عفونی (جدایه‌ی ۶۳۱۴۰، ژنوتیپ گروه ۷) چالش داده شدند. ایمنی‌زایی در پنج و هفت روز بعد چالش بوسیله‌ی امتیازدهی به علایم بالینی و

### بحث

لارنگوتراکئیت عفونی (Infectious Laryngotracheitis) از بیماری‌های ویروسی مجاری تنفسی طیور می‌باشد که بسته به شدت ویروس با نشانه‌هایی مانند تنگی نفس، سرفه، تنفس با دهان باز و دفع آگزودای خونی از دستگاه تنفس ظاهر می‌گردد. در مناطقی که بیماری بومی است جلوگیری از ورود ویروس به گله‌های حساس بخصوص در گله‌های چند سنی مشکل است. در مناطق پرخطر، واکسیناسیون در سن یک تا سه روزگی و در سایر مناطق بین سه تا ۱۸ هفتگی انجام می‌شود. همچنین پرندگان را می‌توان با فاصله دو تا سه هفته دوبار واکسینه نمود. واکسن بصورت اسپری یا قطره چشمی استفاده می‌گردد. معایب استفاده از واکسن زنده احتمال انتشار ویروس بخصوص در عرض هفت تا ۱۰ روز اول پس از واکسیناسیون می‌باشد. در ایران نیز واکسن‌های با منشا تخم‌مرغ، تولید داخلی و یا وارداتی فقط در استان‌هایی که بیماری لارنگوتراکئیت در آن‌ها گزارش شده است در گله‌های پولت مادر و تخم‌گذار در سن حدود ۱۰ هفتگی بصورت قطره چشمی مصرف می‌شود و در سایر استان‌ها مصرف این واکسن ممنوع می‌باشد. در ایران همه گیری‌های انفرادی به علت چرخش سویه واکسن یا حتی سویه وحشی سالانه گزارش می‌شود، اگرچه در سال‌های اخیر میزان بروز



شکل ۱- نمودار تیترا ELISA لارنگوتراکئیت عفونی پرندگان.

جدول ۲- مشخصات تیترا ELISA لارنگوتراکئیت عفونی پرندگان.

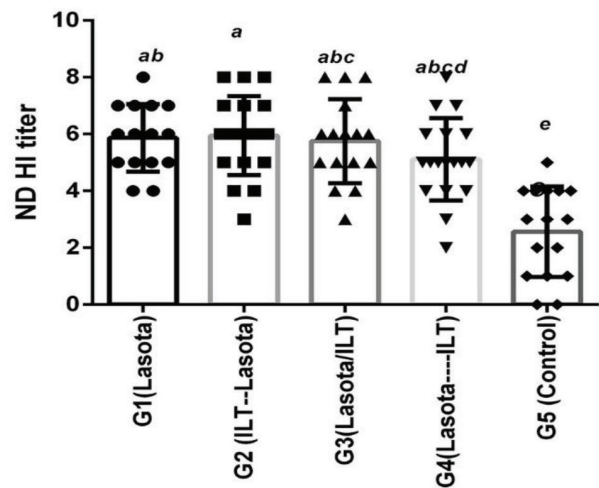
گروه G۵	گروه G۴	گروه G۳	گروه G۲	گروه G۱	میانگین
۸/۴	۱۹۹۰/۳	۹۳۸/۲	۱۰۰۱/۹	۲۳/۵	
۹/۰۴۵۵۶	۶۳۱/۵۵	۴۴۵/۹۴۶	۴۹۹/۰۲۹	۲۴/۶۴۰۸	درصد تغییرات پراکندگی تیترا

همزمان تجویز شوند، سبب کاهش تیتراژ نیوکاسل ناشی از سرعت رقابتی رشد بالای ویروس برونشیت عفونی می‌گردد و توصیه می‌شود (۱۱، ۱۷) که از واکسن‌های دوگانه نیوکاسل برونشیت کارخانه‌ای استفاده گردد. در مطالعه گاناپاتی و همکاران (۲۰۰۵) تلقیح همزمان واکسن زنده نیوکاسل و پنوویروس سبب شده بود که میزان تیتراژ واکسن پنوویروس در نای کاهش پیدا کند اما سبب افزایش پاسخ ایمنی همورال نیوکاسل در جوجه شود (۶). اگرچه در مطالعه آواد و همکاران (۲۰۱۵) استفاده همزمان از واکسن نیوکاسل، برونشیت عفونی و پنوویروس سبب کاهش تیتراژ نیوکاسل و برونشیت نگردیده اما سطح آنتی بادی علیه پنوویروس، بدون اثر روی عملکرد محافظتی کاهش داده بود. در این مطالعه میزان شاخص‌های ایمنی سلولی و مخاطی مانند  $CD4+$  و  $CD8+$  و  $Ig A$  در همه گروه‌ها یکسان بود (۱). همچنین نتایج مطالعه‌ای دیگر بیانگر کاهش تیتراژ آنتی بادی علیه سویه واکسن QX در استفاده از واکسن گامبورو زنده گردیده، اما بر روی تیتراژ نیوکاسل اثری نداشته بود. این اثرات تأثیری روی محافظت در مطالعات چالش نداشت (۸). در برخی مطالعات نیز به برهمکنش واکسن‌های زنده و سایر عوامل عفونی اشاره کرده‌اند. بطور مثال عفونت همزمان کم‌خونی عفونی جوجه نتوانست اثر ایمنی همورال ناشی از واکسن نیوکاسل را تحت اثر قرار دهد (۲). در مطالعه الاکانی و همکاران اثبات گردید که واکسن نیوکاسل سبب افزایش حدت بیماری آنفلوآنزای ناشی از H9N2 می‌گردد (۵). همچنین افزایش حدت و دفع ویروس H9N2 نای در تجویز همزمان واکسن برونشیت عفونی پرندگان اشاره شده است (۹). ابراهیمی و همکاران مطالعه‌ای را برای مقایسه واکسن ILT موسسه رازی در دو نژاد تخم‌گذار بونز سفید و های‌لین W36 انجام دادند که واکسن ILT به صورت قطره چشمی در سن هشت هفتگی و چالش با سویه vILT سه هفته بعد از واکسیناسیون انجام شده بود، همچنین در فواصل زمانی صفر، سه، شش، ۱۰، ۱۲ هفته بعد از واکسیناسیون خون‌گیری انجام شده و نتایج نشان داد که این واکسن نتایج یکسانی از نظر تیتراژ آنتی‌بادی و شاخص خنثی‌سازی ویروس در هر دو سویه داشت. روند افزایش تیتراژ نشان داد که سه هفته بعد از واکسیناسیون در هر دو گروه، حد آستانه حفاظتی را کسب می‌کنند و این واکسن می‌تواند در چالش با سویه حاد ویروس در هر دو گروه، محافظت علیه بیماری ایجاد نماید (۴).

### نتیجه‌گیری کلی

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد، بهتر است دو واکسن لارنگوتراکتیت عفونی و نیوکاسل با یکدیگر مصرف نشده و برای دریافت تیتراژ بالاتر بهتر

همچنین بررسی میزان ویروس در نای با استفاده از روش Real Time PCR (qPCR)، ارزیابی شد. به علاوه، میزان ویروس‌های واکسینال لارنگوتراکتیت و نیوکاسل و برونشیت عفونی سه و پنج روز بعد از واکسیناسیون با qPCR اندازه‌گیری شدند. نتایج این تحقیق نشان داد که واکسن B1 (NDV) و آرکانزاس (IBV) و واکسن‌های مولتی‌والان آنها تداخل اثری در ایمنی‌زایی با واکسن CEO بیماری لارنگوتراکتیت ندارند، که با نتایج مطالعه حاضر تا حدودی همخوانی دارد. در صورتیکه، B1 و واکسن‌های مولتی‌والان با ایمنی القا شده توسط واکسن TCO تداخل دارند ( $P < 0.05$ ). در این مطالعه چه بصورت انفرادی و چه ترکیبی، واکسن نیوکاسل و واکسن برونشیت عفونی تکثیر واکسن TCO را داخل نای کاهش دادند و متعاقب آن ایمنی کمتری القا شد و بطور جالبی گروهی که تلقیح CEO شدند، بعد از چالش، ضایعات شدیدتری نسبت به گروهی که فقط با واکسن TCO تلقیح شدند، نشان دادند و دارای ویروس بیشتری نیز در نای بودند ( $P < 0.05$ ). در حالی که، در مطالعه‌ی حاضر چالش ویروس برونشیت عفونی و یا ویروس نیوکاسل اعمال نشد و فقط چالش ویروس لارنگوتراکتیت عفونی اعمال گردید، پاسخ آنتی‌بادی علیه واکسن نیوکاسل و واکسن برونشیت عفونی افزایش یافته و پاسخ ایمنی برای TCO بصورت چشمگیری کاهش پیدا کرد (۱۸). قابل ذکر است که در تحقیق اشاره شده، اگر واکسن بیماری نیوکاسل و برونشیت عفونی پرندگان بطور



شکل ۲- تیتراژ HI نیوکاسل در گروه‌های مختلف، ۲۱ روز بعد از آخرین تلقیح.

جدول ۳- تیتراژ HI نیوکاسل در گروه‌های مختلف، ۲۱ روز بعد از آخرین تلقیح.

گروه G5	گروه G4	گروه G3	گروه G2	گروه G1	میانگین
۲/۵۶۲۵	۵/۱۱۱۱۱	۵/۷۵	۵/۹۶۷۳۷	۵/۸۶۶۶۷	
۱/۵۹۰۳۴	۱/۴۵۰۷۲	۱/۴۸۳۲۴	۱/۳۹۳۳۸	۱/۱۸۷۲۳	درصد تغییرات پراکندگی تیتراژ

9- 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.

10- Haghghat-Jahromi, M., K. Asasi, H. Nili, H. Dadras and A. Shooshtari. 2008. Coinfection of avian influenza virus (H9N2 subtype) with infectious bronchitis live vaccine. *Archives of virology* 153: 651-655.

11- Hanson, L., F. White and J. Alberts. 1956. Interference between Newcastle disease and infectious bronchitis viruses. *American journal of veterinary research* 17: 294-298.

12- Hidalgo, H. (2003). Infectious laryngotracheitis: a review. *Brazilian Journal of Poultry Science* 5: 157-168.

13- Kaffashi, A., M. Mahmoudzadeh and S. Ataei Kachooei. 2021. Development of TaqMan Real-Time Polymerase Chain Reaction Assay for Detection of Chicken Anemia Virus in Newcastle Disease Vaccines. *Archives of Razi Institute*. 76: 421-427.

14- Menendez, K. R., M. García, S. Spatz and N. L. Tablante. 2014. Molecular epidemiology of infectious laryngotracheitis: a review. *Avian Pathology* 43: 108-117.

15- Morrow, C. J and Whithear K. G. 2011. "Mycoplasma ts vaccines – 20 years field experience, pen trials and myths". *International Hatchery Practice*. 25.5: 13-15.

16- Razmyar, J., S. Shokrpour, A. Barin, J. Gheshlagh, P. Nakhaci, M. Khodayari, and S. M. Peighambari. 2021. Isolation of Infectious Laryngotracheitis Virus in broiler chicken in Iran: First Report. *Veterinary Research Forum*.

17- Thornton, D. H. and J. Muskett. 1975. Effect of infectious bronchitis vaccination on the performance of live Newcastle disease vaccine. *Veterinary Record* 96: 467-468.

18- Vagnozzi, A., M. García, S. M. Riblet and G. Zavala. (2010). Protection induced by infectious laryngotracheitis virus vaccines alone and combined with Newcastle disease virus and/or infectious bronchitis virus vaccines. *Avian diseases* 54: 1210-1219.

19- Van Leerdam, B.; Kuhne, P. 2009 Diagnosis of IBV Field Challenge—Poultry World. Available online at: <https://www.poultryworld.net/Home/General/2010/7/Diagnosis-of-IBV-field-challenge-WP007714W/>. Accessed 10 January 2021.

19. World Organisation for Animal Health (OIE). OIE MANUAL OF DIAGNOSTIC TESTS AND VACCINES FOR TERRESTRIAL ANIMALS. 1: OIE; 2004. Newcastle disease . p. 270-282.

است قبل از واکسن لارنگوتراکیت (حداقل سه روز) یک واکسن نیوکاسل استفاده گردد. در ادامه کار پیشنهاد می‌شود، بر روی سایر واکسن‌های زنده و تداخلات آن مطالعه شود.

### تشکر و قدردانی

از کلیه کارشناسان آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و آزمایشگاه دامپزشکی PCR و جناب آقای دکتر برین در انجام این کار سپاسگزاری می‌شود.

### منابع مورد استفاده

1- Awad, F., A. Forrester, M. Baylis, S. Lemiere, R. Jones, and K. Ganapathy. 2015. Immune responses and interactions following simultaneous application of live Newcastle disease, infectious bronchitis and avian metapneumovirus vaccines in specific-pathogen-free chicks. *Research in veterinary science* 98: 127-133.

2- De Boer, G., D. Van Roozelaar, R. Moormann, S. Jeurissen, J. Van Den Wijngaard, F. Hilbink and G. Koch. 1994. Interaction between chicken anaemia virus and live Newcastle disease vaccine. *Avian Pathology* 23: 263-275.

3- Ebrahimi, M., S. Pourbakhsh, S.S. SHAH, R. Momayez and M. Gholami. 2003. Isolation and Identification of Infectious Laryngotracheitis Virus From Commercial Flocks Of Iran Using Various Techniques. *Archives of Razi Institute* 56: 11-22.

4- Ebrahimi, M., S. Shamsavandi, R. Mashhadi and A. Yousefi. 2020. Evaluation of immunization with infectious laryngotracheitis vaccine in White Bovans and HyLine W36 pullets. *Veterinary Researches & Biological Products* 32: 20-28. (In Farsi).

5- Ellakany, H. F., A. R. Gado, A. R. Elbestawy, H. S. Abd El-Hamid, H. M. Hafez, M. E. Abd El-Hack, A. A. Swelum, A. Al-Owaimer and I. M. Saadeldin. 2018. Interaction between avian influenza subtype H9N2 and Newcastle disease virus vaccine strain (LaSota) in chickens. *BMC veterinary research* 14: 358.6- Ganapathy, K., P. Cargill, E. Montiel and R. Jones. 2005. Interaction between live avian pneumovirus and Newcastle disease virus vaccines in specific pathogen free chickens. *Avian Pathology* 34: 297-302.

7- García, M. and S. Spatz. 2020. Infectious laryngotracheitis. pp.189-209. In: D. E. Swayne, M. Boulianne, C. M. Logue, L. R. McDougald, V. Nair, D. L. Suarez, S. de Wit, T. Grimes, D. Johnson, M. Kromm, T. Y. Prajitno, I. Rubinoff, G. Zavala (ed.). Diseases of poultry. John Wiley & Sons, Inc. New Jersey.

8- Geerlig, H. J., E. Ons, G. J. Boelm and D. Vancraeynest. 2015. Efficacy, safety, and interactions of a live infectious bursal disease virus vaccine for chickens based on strain IBD V877. *Avian diseases* 59: 114-121.