DOI: 10.22055/IVJ.2020.229463.2256
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.2.8.8

ارزیابی واکسن‌های پنوموتروپ و ویسروتروپ بر میزان تکثیر و دفع یک جدایه‌ی ویروس حاد بیماری نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی

حمزه نبوی[۱]، منصور میاحی[۲*]، عبدالحمید شوشتری[۳] و زهرا برومند[۴]

[۱] دانشجوی دکترای تخصصی بهداشت و بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۲] استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۳] دانشیار، گروه بیماری‌های طیور، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج، ایران
[۴] دانشیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۲/۱۸ پذیرش: ۱۳۹۹/۶/۳۰

چکیده

هدف مطالعه، ارزیابی واکسن‌های پنوموتروپ و ویسروتروپ بر میزان تکثیر و دفع یک جدایه‌ی ویروس حاد بیماری نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی است. یکصد و چهل جوجه‌ی یک‌روزه‌ی گوشتی سویه‌ی راس خریداری و در روز اول جهت تعیین زمان واکسیناسیون از ۲۰ قطعه خون‌گیری و بقیه به طور تصادفی به ۶ گروه مساوی ۲۰ قطعه‌ای تقسیم شدند. جوجه‌های گروه اول، دوم، سوم و چهارم در سن ۸ روزگی به ترتیب با واکسن‌های B1، کلون، ویتاپست و اوینیو به روش قطره چشمی واکسینه شدند، جوجه‌های گروه پنجم و ششم نیز به عنوان کنترل مثبت و منفی با آب مقطر استریل تلقیح شدند. در سن ۳۵ روزگی، جوجه‌های گروه‌های ۱ تا ۵ با یک دهم میلی‌لیتر از مایع آلانتوئیک حاوی 10^5EID50 ویروس حاد نیوکاسل به روش چشمی- بینی و جوجه‌های گروه ششم با PBS استریل تلقیح شدند و روزانه ۲ بار جهت نشانه‌های درمانگاهی مشاهده شدند. در روزهای ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ پس از تلقیح، ۳ جوجه از همه‌ی گروه‌ها به روش تصادفی انتخاب و پس از تهیه‌ی سوآب استریل از کلواک و نای به روش انسانی کشتار و نمونه‌های بافتی از نای، ریه، کلیه، کبد و طحال و مغز جمع‌آوری شد و آزمایش Real time PCR انجام شد. نتایج نشان داد در روزهای ۲ و ۵ بعد از چالش ویروس در سواب نای و کلواک و بافت‌های نای، ریه، کلیه، کبد و طحال تمام گروه‌های واکسینه به میزان معنی‌داری کمتر از گروه کنترل مثبت بود. مطالعه‌ی حاضر نشان داد واکسن‌های پنوموتروپ و ویسروتروپ بیماری نیوکاسل پادتن محافظت کننده در ماکیان ایجاد می‌نمایند و هر دو نوع واکسن گله گوشتی را به خوبی در مقابل بروز نشانه‌های بالینی و تلفات در برابر ویروس حاد بیماری نیوکاسل محافظت می‌کنند و میزان دفع ویروس را از دستگاه تنفس و دستگاه گوارش به مقدار زیادی کاهش می‌دهند.

کلمات کلیدی: ویروس بیماری نیوکاسل، پلی مراز زمان حقیقی، تکثیر، دفع، واکسن، پنوموتروپیک، ویسروتروپیک

مقدمه

بیماری نیوکاسل یکی از شایع‌ترین بیماری‌های ویروسی است که تقریباً همه گونه‌های پرندگان در سنین مختلف را مبتلا می‌کند. بیماری در بسیاری از کشورهای جهان به عنوان یک بیماری محدودکننده‌ی توسعه صنعت طیور مطرح است و در مواردی بدون نشانه‌های بالینی موجب تلفات تا ۱۰۰ درصد در گله‌ها می‌شود. این بیماری به

*نویسنده مسئول: منصور میاحی، استاد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
E-mail: m_mayahi@yahoo.com

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

وسیله‌ی ویروس‌های سویه‌ی پارامیکسوویروس تیپ ۱ (APMV-1)، جنس ارتوآوولاویروس و گونه ارتوآوولاویروس پرندگان ۱ ایجاد می‌شود (Miller and Koch 2020). نشانه‌های بیماری که به دنبال عفونت با ویروس نیوکاسل ایجاد می‌شود، بسته به پاتوتیپ ویروس ممکن است تا حد قابل ملاحظه‌ای متنوع باشد. علاوه بر این، گونه‌های پرندگان، ساختار ایمنی، سن و شرایطی که پرنده در آن پرورش می‌یابد و دیگر عفونت‌های موجود ممکن است تا حد زیادی حتی خفیف‌ترین اشکال بیماری را تشدید کند. بنابراین هیچ یک از نشانه‌های بیماری را نمی‌توان به عنوان علامت شاخص بیماری در نظر گرفت (Mayahi 2013). برای جلوگیری از ابتلا و گسترش بیماری تنها رعایت اصول بهداشتی کافی نیست، بلکه واکسیناسیون مناسب و به موقع پرندگان نیز ضرورت دارد (Jordan 1990). واکسیناسیون ایده‌آل باید در کنار مدیریت خوب و اعمال شیوه‌های قرنطینه مناسب انجام گیرد. در مناطقی از جهان که vNDV اندمیک بوده استفاده از واکسن ND برای طیور ضروری است. نقش واکسیناسیون در کنترل بیماری نیوکاسل به صورت پیش‌گیری از ابتلا و مرگ و میر می‌باشد، واکسن به طور کامل نمی‌تواند مانع از عفونت پرندگان واکسینه با vNDV شود، اما منجر به کاهش تعداد پرندگان عفونی و کاهش میزان دفع ویروس vNDV در محیط می‌شود. واکسن‌های زنده و غیرفعال (کشته) نیوکاسل با سویه‌های کم حدت مانند B_1 و لاسوتا تهیه می‌شوند. واکسن زنده‌ی B_1 و لاسوتا در دهه ۱۹۴۰ مورد استفاده قرار گرفت و مصرف آن در سرتاسر جهان گسترش یافت. سویه‌هایی که اخیراً مورد استفاده قرار می‌گیرند شامل Qv4، Ulster و VG/GA می‌باشند. سویه‌های Qv4 و I-2 در برابر گرما مقاوم‌ترند و اغلب در مناطقی که زنجیره سرد قابل‌اعتمادی وجود ندارد، مورد استفاده قرار می‌گیرند (Wambura 2006). در واکسیناسیون دسته جمعی با واکسن‌های زنده با دشواری می‌توان درصد بالایی از گله را ایمن نمود. بهترین پاسخ در روش قطره چشمی (۹۳ درصد) است، ولی در روش‌های آشامیدنی یا اسپری ممکن است آنتی‌بادی‌های محافظت‌کننده تنها در ۵۳ تا ۶۰ درصد پرندگان ایجاد گردد (Degefa et al. 2004). واکسیناسیون ضد نیوکاسل به وسیله‌ی واکسن‌های زنده‌ی لنتوژنیک و مزوژنیک و یا واکسن‌های غیرفعال انجام می‌شود (Alexander 1998). بررسی منابع نشان می‌دهد در خصوص تفاوت تأثیر واکسن‌های پنوموتروپ و ویسروتروپ بر میزان تکثیر و دفع ویروس بیماری نیوکاسل در ماکیان مطالعه منتشر شده‌ای در دسترس نمی‌باشد. بر این اساس به منظور ارزیابی توانایی واکسن‌های پنوموتروپ و ویسروتروپ در کاهش تکثیر و دفع ویروس حاد نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی این مطالعه انجام گرفت.

مواد و روش کار

ویروس

در این تحقیق از ویروس حاد جدا شده از یک همه‌گیری بیماری نیوکاسل در ماکیان گوشتی اهواز با تلفات سنگین در سال ۱۳۹۲ استفاده شد و بر اساس ترتیب توالی نوکلئوتیدی ژن F این ویروس در ژنوتیپ VII و تحت ژنوتیپ VIId قرار دارد (Boroomand et al. 2016).

تعیین EID50

رقت‌های ده‌گانه متوالی (ضریب ۱/۱۰) از مایع آلانتوئیک حاوی ویروس نیوکاسل تهیه شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر از هر رقت به درون حفره آلانتوئیک ۵ تخم‌مرغ جنین‌دار ۱۰- ۹ روزه ماکیان تلقیح گردید. تخم‌مرغ‌ها برای ۵ روز دیگر انکوبه شده و روزانه حداقل یک بار از نظر تلفات بررسی شدند. در پایان، میزان EID50 ویروس بر اساس فرمول رید و مانچ محاسبه شد (Villegas et al. 2008).

طرح آزمایش

مطالعه بر اساس مجوز (EE/98.24.3.38674/scu.ac.ir.) کمیته‌ی اخلاق دانشکده‌ی دامپزشکی اهواز انجام شد. سالن پرورش بر اساس اصول و روش‌های استاندارد آماده

شد. یک صد و چهل جوجه یک روزه‌ی گوشتی سویه‌ی راس خریداری و ۲۰ قطعه در روز اول جهت تعیین زمان واکسیناسیون به روش انسانی کشتار و سرم خون پس از سانتریفیوژ، به میکروتیوب منتقل و تا هنگام آزمایش در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد. بقیه‌ی جوجه‌ها به طور تصادفی به ۶ گروه مساوی ۲۰ قطعه‌ای تقسیم و تحت شرایط بهداشتی تا پایان دوره‌ی آزمایش در مکان‌های مجزا تحت شرایط یکسان و دسترسی آزاد به آب و دان نگهداری شدند. بر اساس عیار پادتن مادری، جوجه-های گروه اول با واکسن B1، گروه دوم با واکسن کلون نیوکاسل، گروه سوم با واکسن ویتاپست، گروه چهارم با واکسن اوینیو، گروه پنجم و ششم به جای واکسن با محلول فسفات بافر (PBS) استریل، در سن ۸ روزگی به روش قطره‌ی چشمی واکسینه شدند. در سن ۳۵ روزگی، جوجه-های گروه‌های ۱ تا ۵ با ۰/۱ میلی‌لیتر از مایع آلانتوئیک حاوی 10^5EID50 ویروس حاد نیوکاسل به روش چشمی-بینی مورد تلقیح قرار گرفتند (Table 1). جوجه‌های گروه ششم PBS استریل به همان شیوه دریافت کردند (Table 1). جوجه‌ها بعد از تلقیح، روزانه ۲ بار از نظر ثبت نشانه-های درمانگاهی تحت نظر قرار گرفتند.

Table 1: Vaccination and challenge time in chicks

Group	B1	Clone	PHY.LUV.42	VG/GA	vNDV
1	+	-	-	-	+
2	-	+	-	-	+
3	-	-	+	-	+
4	-	-	-	+	+
5	-	-	-	-	+
6	-	-	-	-	-

PHY.LUV.42: thermostable Vaccination time: 8 days
VG/GA-Intestine/lentogenic Challenge time: 35 days

نمونه‌برداری

سرولوژی

قبل از واکسیناسیون و یک هفته بعد از واکسیناسیون و قبل از چالش و ۷ و ۱۴ روز بعد از چالش، ۱۰ جوجه از هر گروه، خون‌گیری شد (Thayer and Beard 2008) و بعد از جداسازی سرم تا هنگام سنجش پادتن ضد بیماری نیوکاسل در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

نمونه‌برداری جهت ردیابی ویروس

در روزهای ۲، ۵، ۱۰ و ۱۵ پس از تلقیح ویروس، ۳ جوجه از همه‌ی گروه‌ها به روش تصادفی انتخاب و با سوآب استریل از کلواک و نای آن‌ها نمونه تهیه شد و در یک میلی‌لیتر محیط گلیسرول بافره قرار گرفت و تا زمان آزمایش در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری گردید. سپس جوجه‌ها آسان‌کشی شدند؛ و به همراه جوجه‌هایی که در طول آزمایش تلف می‌شدند کالبدگشایی شدند و جراحات ماکروسکوپی در کاربرگ مخصوص ثبت گردید. همچنین نمونه‌های بافتی از مغز، نای، طحال، ریه، کلیه و کبد به منظور ردیابی ویروس جمع‌آوری شد و نمونه‌ها تا زمان انجام آزمایش در دمای ۷۰- سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج RNA

جهت استخراج RNA ویروس، ۵۰ تا ۱۰۰ میلی‌گرم نمونه‌ی بافتی و ۲۰۰ میکرولیتر از مایع آلانتوئیک به صورت جداگانه برداشته شد و با استفاده از کیت استخراج RNA،

High Pure Viral Nucleic Acid Kit (Roche,Germany) طبق دستورالعمل شرکت سازنده‌ی کیت انجام گردید. بر روی RNA استخراج شده ۵۰ میکرولیتر آب DEPC اضافه شد و در فریزر ۷۰- نگهداری شد.

پرایمروپروب

در این پژوهش برای طراحی پرایمر و پروب از نرم‌افزار Oligo (version 5) بر پایه‌ی سکانس حفاظت شده ژن F انجام شد (Table 2).

Table 2: Primers and prob used to synthesis Newcastle virus F gene for RRT-PCR

Target	Primer/Probe	Sequence (5′ to 3′)
	NDF(For)	AGTGATGTGCTCGGACCTTC
NDV(F)	NDF(Rev)	CCTGAGGAGAGGCATTTGCTA
	NDF-Probe	TTCTCTAGCAGTGGGACAGCCTGC

ردیابی ویروس

در این مطالعه، از دستگاه Real-time RT- PCR (Rotor gene 3000- Corbett, Australia) و با استفاده از one step kit شرکت QIAGEN,Germany با عنوان (Quanti Tect probe RT-PCR Kit) استفاده شد و حاوی مواد زیر بود.

- 2x QuantiTect Probe RT-PCR Master Mix
- QuantiTect RT Mix, containing: 100 µl
- RNase-free water

تشخیص ویروس نیوکاسل، با دستگاه ترموسایکلر با برنامه‌ی دمایی مناسب انجام شد (Table 4). محصولات در ژل آگارز یک درصد الکتروفورز مورد انجام قرار گرفت. نمونه‌های مثبت، با واکنش پلی مراز حقیقی (real time PCR) از نظر کمی مورد بررسی قرار گرفتند. داده‌های جمع‌آوری شده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ به طور توصیفی و تحلیلی مورد بررسی قرار گرفتند. مواد استفاده شده برای یک واکنش و برنامه‌ی دمایی به ترتیب در Tables 3 & 4 آمده است.

Table 3: Compound and Quantity to synthesis Newcastle virus F gene for RRT-PCR

Reagent	Volume
2x QuantiTect Probe RT-PCR Master Mix	12/5 µl
Primer F	0.8 µl
Primer R	0.8 µl
Probe	0.4 µl
QuantiTect RT Mix	0.2µl
RNase-free water	5.3µl
RNA	5 µl
Total volume	25 µl

Table4: Thermal programe for RRT-PCR to synthesis Newcastle virus F gene

Stage	Time&temperature
RT-STAGE	30 min 50°C
PCR initial heat activation	15 min 95°C
2step cycling (40 cycles):	
Denaturation	45 sec 95°C
Combined Annealing/ Extension	45 sec 54°C

روش آماری

داده‌ها با آزمون One-Way ANOVA و آزمون تکمیلی دانکن با نرم‌افزار SPSS 23 و سطح معنی‌داری ۵ درصد آنالیز آماری شدند.

نتایج

نشانه‌های بالینی

تمامی پرندگان قبل از چالش با ویروس حاد بیماری نیوکاسل سالم بودند. پرندگان گروه‌های واکسینه – چالش شده علائم بالینی را با شدت کمتری نسبت به گروه کنترل مثبت (چالش شده) نشان دادند (Figure 1 & 2 & 3). هیچ گونه علائم بالینی در گروه کنترل منفی مشاهده نشد. در همه‌ی گروه‌های چالش شده، نشانه‌های بالینی در روز دوم بعد از آلودگی به شکل کاهش شدید اشتها، بلع هوا، التهاب ملتحمه و نشانه‌های تنفسی مشاهده شد. در گروه کنترل منفی هیچ گونه تلفاتی مشاهده نشد، ولی در پرندگان گروه کنترل مثبت از روز سوم بعد از چالش تلفات شروع و ۵ روز بعد از چالش همگی تلف شدند (Table 5). میزان تلفات در روزهای ۱، ۲ و ۳ بعد از چالش با ویروس حاد نیوکاسل در بین گروه‌های مختلف معنی‌دار نبود (P≥۰/۰۵). در روز ۴ بعد از چالش مقدار تلفات در گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌داری بالاتر از گروه‌های دریافت‌کننده‌ی واکسن و کنترل منفی بود (P≤۰/۰۵). در روز ۵ بعد از چالش میزان تلفات در گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌داری بالاتر از گروه‌های دریافت‌کننده‌ی واکسن و کنترل منفی بود (P≤۰/۰۵). همچنین در طول روزهای بعد از چالش در بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی واکسن اختلاف معنی‌داری از نظر تلفات مشاهده نشد (P≥۰/۰۵). همچنین از روز ۶ تا روز ۱۴ بعد از چالش تلفات در بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی واکسن و گروه کنترل منفی صفر بود.

Figure 1: Listless and depressed in challenged control

Figure 2: listless, Conjunctivitis in challenged control

Figure 3: Mouth foamy excretion in challenged control

نشانه‌های کالبدگشایی

در گروه کنترل منفی هیچ گونه جراحات در کالبدگشایی مشاهده نشد. بیشتر پرندگان گروه کنترل مثبت نشانه‌های مشخصی از جراحات را در کالبدگشایی از روز ۳ بعد از چالش داشتند، التهاب و خونریزی ملتحمه (Figure 4)، لاشه پرندگان پرخون(Figure 5)، ، پرخونی در پیش‌معده (Figure 7) و روده‌ها (Figure 8) و لوزه‌سکومی (Figure 9) نشان دادند. جراحات در دستگاه تنفس، به شکل پرخونی، خون‌ریزی و احتقان نای مشاهده شد (تصویر ۶) و این نشانه‌ها در سایر گروه‌ها به جز گروه کنترل منفی دیده شد. همچنین شدیدترین جراحات کالبدگشایی، در گروه کنترل مثبت و از روز ۳ تا ۵ بعد از چالش مشاهده شد. بیشترین جراحات در پیش معده، لوزه سکومی، روده و نای دیده شد. در گروه‌های مورد چالش قرارگرفته به شکل التهاب نای، لوزه سکومی، روده‌ها و خونریزی در پیش معده مشاهده شد.

Figure 4: Conjectivitis and haemorrage in challenged control

Figure 5: Hemorrhage in breast muscle in challenged control

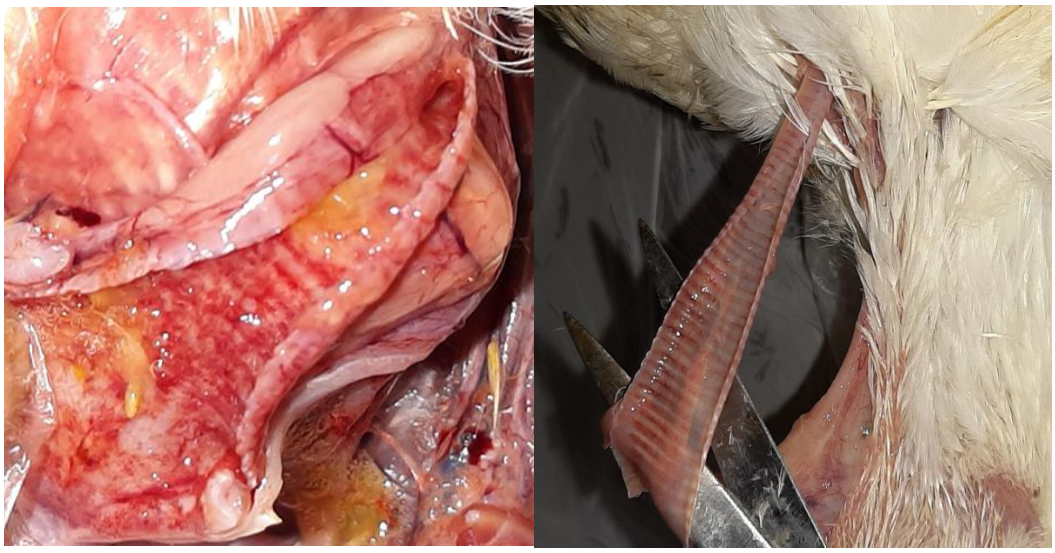

Fig 6: Hemorrage in trachea in challenged control

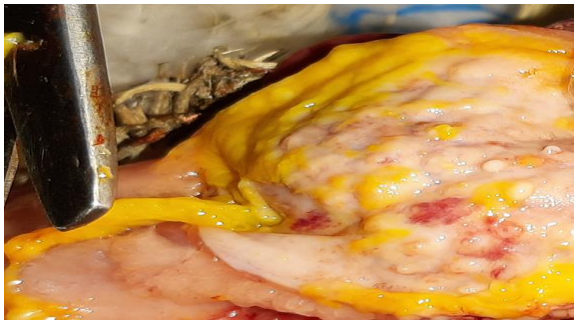

Figure 7: Hemorrage in proventiculous in challenged control

Figure 8: Hemorrage in small intestine in challenged control

Figure 9: Hemorrage in cecal tonsils in challenged control

نتایج آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)

نتایج حاصل از عیارسنجی پادتن ضدویروس نیوکاسل، در تمام روزهای پرورش در Table 6 آمده است. عیار HI پادتن مادری در روز اول پرورش در تمام گروه‌ها ۶,۷ بود. میانگین تیتر HI در بین گروه‌های مختلف مورد مطالعه در روزهای ۱، ۸ و ۱۵ از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P≥۰/۰۵). مقدار تیتر HI در روز ۳۵ پرورش (روز چالش)، در بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی واکسن به صورت معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل مثبت و منفی بود (P≤۰/۰۵). در بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده‌ی واکسن از لحاظ تیتر HI اختلاف معنی‌داری در روز ۳۵ مشاهده نشد (P≥۰/۰۵). مقدار تیتر HI در روزهای ۴۲ و ۴۹ پرورش در بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده‌ی واکسن، به صورت معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل منفی بود (P≤۰/۰۵). همچنین در روز ۴۲ و ۴۹ پرورش در بین گروه‌های دریافت‌کننده واکسن از لحاظ HI اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P≥۰/۰۵). در روز ۴۰ تمام پرندگان گروه کنترل مثبت تلف شدند.

نتایج Real Time PCR

نتایج شناسایی ویروس نیوکاسل در بافت‌های مختلف جوجه‌های مورد مطالعه در Tables 7 & 8 & 9 نشان داده شده است. از روز دوم پس از چالش ویروس در تمام گروه‌ها (به جز گروه کنترل منفی) شناسایی شد. مقدار ویروس در روزهای ۲ و ۵ بعد از چالش در بافت‌های نای، ریه و طحال جوجه‌های گروه‌های دریافت‌کننده‌ی واکسن به میزان معنی‌داری کمتر از گروه کنترل مثبت بود (P≤۰/۰۵). در بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده‌ی واکسن اختلاف معنی‌داری در مقدار ویروس در بافت‌های نای، ریه و طحال دیده نشد (P≥۰/۰۵). مقدار ویروس در بافت کبد، کلیه و مغز در بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده‌ی واکسن از لحاظ آماری معنی‌دار نبود (P≥۰/۰۵). در روزهای ۲ و ۵ بعد از چالش مقدار ویروس در بافت مغز در بین گروه‌های مختلف دریافت‌کننده‌ی واکسن قابل اندازه‌گیری نبود و از لحاظ آزمایش PCR منفی بود، ولی در گروه کنترل مثبت با استفاده از PCR ویروس شناسایی و مقدار ویروس برحسب CT و با استفاده از real time PCR محاسبه گردید و از لحاظ آماری در گروه کنترل مثبت به صورت معنی‌داری بیشتر از گروه‌های دریافت‌کننده‌ی واکسن بود (P≤۰/۰۵). در روز ۱۰ بعد از چالش مقدار ویروس دربافت‌های نای، ریه، کبد، کلیه، طحال و مغز در بین گروه‌های مختلف واکسینه به روش PCR منفی بود. همچنین در روز ۵ بعد از چالش تمام پرندگان گروه کنترل مثبت با ویروس حاد بیماری نیوکاسل

تلف شدند. در روز ۱۵ بعد از چالش مقدار ویروس با استفاده از روش PCR در تمامی گروه‌های اندام‌های مورد مطالعه منفی بود.

دفع ویروس

دفع ویروس در سوآب نای و کلواک در تمام گروه‌های واکسینه و گروه کنترل مثبت از روز ۲ پس از چالش شروع و تا ۱۰ روز پس از چالش ادامه داشت. مقدار ویروس در روزهای ۲ و ۵ بعد از چالش در بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی واکسن در سوآب نای و کلواک به صورت معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل مثبت بود (P≤۰/۰۵). همچنین مقدار ویروس در سوآب نای و کلواک در روزهای ۲، ۵ و ۱۰ بعد از چالش در بین گروه‌های دریافت‌کننده‌ی واکسن، اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری مشاهده نشد (P≥۰/۰۵). همچنین ویروس در سوآب نای و کلواک در روز ۱۵ بعد از چالش، در بین گروه‌های واکسینه مشاهده نشد. در ضمن دفع ویروس از گروه کنترل منفی در کل دوره آزمایش منفی بود.

Table 5: Daily mortality after challenged with Newcastle disease virus

Days after challenge	1	2	3	4	5 positive control)	6 Negative control	Mean standard error	P value
1	0	0	0	0	0	0	-	
2	0	0	0	0	0	0	-	
3	0	0	0	0	1	0	0.235	0.391
4	1^{a}*	1^{a}*	1^{a}*	1^{a}*	14^{b}*	0^{a}*	0.08	0.00
5	0	0^{a}*	1^{a}*	0^{a}*	5^{b}*	0^{a}*	0.03	0.00
6	0	0	0	0	0	0	-	-

* Different superscript letters in each row indicate significant difference between mean virus amount (p<0.05).

Table6: Mean antibody titer against Newcastle diseases virus by log2 HI test

Days /Group	1	8	15	35	42	49
1	6.7	5.2	4.5	3.2^{a}*	5.3^{a}	6.5^{a}
2	6.7	5.2	4.7	3.4^{a}	5.5^{a}	6.3^{a}
3	6.7	5.2	4.3	3.1^{a}	5.1^{a}	6.1^{a}
4	6.7	5.2	4.4	3.3^{a}	5.5^{a}	6.3
Control Positive	6.7	5.2	4.1	1.9^{b}	dead	dead
Control negative	6.7	5.2	4	1.7^{b}	1.2^{b}	-
Mean Standard error	0.1	0.1	0.1	0.1	0.5	0.4
P value	0.459	0.379	0.09	0.02	0.00	0.00

* Different superscript letters in each row indicate significant difference between mean virus amount (p<0.05).

Table7: Amount of Newcastle virus detected in different samples two days after challenged determined by Real time PCR (Ct basis)

samples	Groups							
	1	2	3	4	5 positive control	6 negative control	Standard mean error	P value
Trachea swab	33.7[a]	33.4[a]	34.5 [a]	33.2 [a]	22.1[b]	-	1.99	0.010
Cloacal swab	34.6[a]	34.4[a]	34.9[a]	34.3[a]	23.1[b]	-	1.70	0.013
Trachea	35.5[a]	35.7[a]	35.5[a]	35.1[a]	24.9[b]	-	1.38	0.00
Lungs	35.9[a]	35.4[a]	35.8[a]	35.5 [a]	25.6[b]	-	1.83	0.02
Kidney	37.9 [a]	37.4[a]	37.4[a]	37.1[a]	28.4[a]	-	2.72	0.43
Spleen	37.1[a]	36.3 [a]	36.5 [a]	36.2[a]	19.6[b]	-	1.59	0.03
Liver	39.1[a]	38.9 [a]	39.4 [a]	38.2[a]	20.1[a]	-	1.01	0.23
brain	0 [b]	0 [b]	0 [b]	0 [b]	21.2[b]	-	3.37	0.00

*Group1 (B1), Group 2 (Clone), Group 3 (Vitapest) and Group 4 (Avenue) vaccines.
**Different superscript letters in each row indicate significant difference between mean virus amount ($p<0.05$).

Table 8: Amount of Newcastle virus detected in different samples 5 days after challenged determined by Real time PCR (Ct basis)

samples	Groups							
	1	2	3	4	5 positive control	6 negative control	Standard mean error	P value
Trachea swab	33.3[a]	32.5[a]	33.8 [a]	33.3 [a]	23.8[b]	-	1.90	0.001
Cloacal swab	35.2[a]	36.1[a]	35.1[a]	34.7[a]	24.5[b]	-	1.70	0.04
Trachea	35.3[a]	34.4[a]	34.7[a]	34.5[a]	23.2[b]	-	1.87	0.018
Lungs	34.9[a]	34.7[a]	35.1[a]	34.9 [a]	26.9[b]	-	1.83	0.032
Kidney	38.9 [a]	38.1[a]	38.2[a]	38.7[a]	31.2[a]	-	2.64	0.782
Spleen	36..9[a]	36.5 [a]	37.7 [a]	35.4[a]	17[b]	-	1.83	0.001
Liver	39.8[a]	38.3 [a]	39.7[a]	38.4[a]	22.4[a]	-	1.58	0.240
brain	0 [b]	0 [b]	0 [b]	0 [b]	22.8[a]	-	3.41	0.000

*Group1 (B1), Group 2 (Clone), Group 3 (Vitapest) and Group 4 (Avenue) vaccines.
**Different superscript letters in each row indicate significant difference between mean virus amount ($p<0.05$).

Table 9: Amount of Newcastle virus detected 10 days after challenged by Real-time PCR in different groups (Ct basis)

SAMPLES	Groups				Mean standard error	P value
	1	2	3	4		
Trachea swab	39.5[a]	39.9[a]	39.1[a]	39.6[a]	1.01	0.70
Cloaca swab	39.9[a]	39.4[a]	39.7[a]	39.6[a]	1.68	0.390

* Different superscript letters in each row indicate significant difference between mean virus amount ($p < 0.05$).

بحث

در کشورمان، علی‌رغم اعمال برنامه‌های واکسیناسیون، ویروس حاد بیماری نیوکاسل برای سال‌ها در پرندگان تجاری به صورت انزئوتیک است و ضررهای سالیانه ناشی از بیماری و افزایش هزینه‌های پیش‌گیری، نیاز به ارزیابی دقیق‌تر اثربخشی واکسن‌ها در برابر ویروس بیماری نیوکاسل در حال گردش می‌باشد. بر این اساس مطالعه‌ی

حاضر به منظور مقایسه‌ی توانایی واکسن‌های پنوموتروپ و ویسروتروپ بر میزان تکثیر و دفع یک جدایه‌ی ویروس حاد بیماری نیوکاسل در جوجه‌های گوشتی انجام گرفت. King در سال ۱۹۹۶ تأثیر نژاد ماکیان بر پاتوژنیسیتی ویروس بیماری نیوکاسل نوروتروپ جدا شده از بوقلمون و قره غاز را ارزیابی و نتیجه گرفتند نژاد پرنده بر پاتوژنیسیتی ویروس نیوکاسل نروتروپ تأثیر ندارد. Alexander و همکاران در سال ۱۹۹۹ ویروس‌های بیماری نیوکاسل جدا شده از بوقلمون و ماکیان در سال ۱۹۹۷ در انگلستان را در پرندگان واکسینه شده مطالعه نمودند و نتیجه گرفتند واکسیناسیون از عفونت و دفع ویروس نیوکاسل جلوگیری نمی‌کند ولی میزان دفع ویروس را به میزان معنی-داری کم می‌کند. میزان دوز عفونی ویروس نیوکاسل معادل EID50 10^3 تا 10^4 از ویروس است بنابراین کاهش میزان دفع ویروس بیماری‌زا از پرندگان واکسینه به کمتر از دوز عفونی، می‌تواند مانع از انتشار بیماری در سطح گله شود، در مطالعه‌ی حاضر پرندگان با 10^5EID50 ویروس حاد نیوکاسل مورد چالش قرار گرفتند. پرندگان گروه کنترل مثبت از روز دوم علائم بالینی و از روز سوم تلفات و نشانه‌های کالبدگشایی را نشان دادند ولی هیچ علائم بالینی و دفع ویروس در گروه‌های کنترل منفی مشاهده نشد. در مطالعه‌ی حاضر آزمون Real time PCR توانست دفع ویروس را در تمام گروه‌ها به استثنای کنترل منفی را ۲ روز پس از چالش و قبل از شروع تلفات در گله نشان دهد، این نتایج نشان می‌دهد این آزمون می‌تواند، به عنوان یک هدف‌گذاری سریع و موفق در جهت شناسایی به موقع ویروس عمل کند؛ و تمام پرندگان گروه کنترل مثبت تا روز ۵ پس از چالش (۱۰۰ درصد تلفات) تلف شدند. پایین‌ترین عیار آنتی‌بادی مادری (کمتر از ۲ بر مبنای لوگ ۲) در روز چالش، قادر نبود پرندگان حساس در این گروه (کنترل مثبت) را از مرگ محافظت کنند. واضح است با گذشت زمان، عیار آنتی‌بادی مادری کاهش می‌یابد و در نهایت نمی‌تواند در برابر عفونت با ویروس‌های وحشی پرنده را محافظت کند. نتایج ما با یافته‌های (Fentie et al. 2014) و (Kapczynski and King 2005) مطابقت دارد. سویه‌های ویروس بیماری نیوکاسل در گردش قادر هستند که تلفات بالایی را در گله‌های حساس غیرواکسینه ایجاد کنند که با پیشنهادهای (Alexander et al. 2004) و (Alders and Spradbrow 2001) مطابقت دارد. انتظار می-رود یک هفته پس از چالش میانگین عیار آنتی‌بادی افزایش یابد که یافته‌های ما مطابق با یافته‌های Fentie et al. 2014، Alexander et al. 2004 و Sarcheshmei et al. 2016 می‌باشد و عیار پادتن در گروه‌های واکسینه روند افزایش را نشان داد. متأسفانه به علت تلف شدن تمام پرنده‌های گروه کنترل مثبت بعد از چالش (تلف شدن تمام پرنده‌های این گروه ۵ روز پس از چالش)، نتوانستیم روند تغییرات در عیار پادتن این گروه را ثبت نماییم. میزان تلفات در گروه‌های واکسینه شده بسیار کم و به میزان معنی‌داری کم‌تر از گروه‌های غیر واکسینه_چالش شده بود. محافظت کامل (۱۰۰ درصد) در برابر تلفات در گروه‌های واکسینه مشاهده نشد و بین گروه‌های واکسینه شده میزان تلفات اختلاف معنی‌داری نشان نداد ($P\geq ۰/۰۵$) که با مطالعات Sarcheshmei et al. 2016 مطابقت دارد. در مطالعه‌ی آن‌ها نیز میزان تلفات در غالب گروه‌های واکسینه مشابه هم بودند و محافظت کامل را در برابر ویروس نیوکاسل نداشتند. تمام گروه‌های واکسینه_چالش شده، علائم بالینی را دیرتر (از روز ۳ پس از چالش) و با شدت کم‌تر از گروه غیر واکسینه_چالش شده (کنترل مثبت) نشان دادند. در مطالعه‌ی حاضر، آغاز مثبت شدن ردیابی ویروس در گروه کنترل مثبت (روز ۲ پس از تلقیح) زودتر از شروع تلفات (روز ۳ پس از تلقیح) بود. این نتیجه با یافته‌ی (Wakamatsu et al. 2006) مطابقت دارد. در مطالعه‌ی آن‌ها شروع جداسازی ویروس از نمونه‌های سوآب نای وکلواک از روز ۲ بعد از تلقیح انجام شد ولی شروع علائم بالینی از روز ۶ پس از تلقیح آغاز گردید. علاوه بر این، یافته‌های کالبدگشایی نشان داد ضایعات با شدت کمتری در تمام گروه‌های واکسینه در مقایسه با گروه کنترل مثبت وجود دارد. محافظت در برابر علایم بالینی و مرگ و میر

به دنبال آلودگی با ویروس بیماری نیوکاسل حاد در پرندگان واکسینه توسط سایر محققین گزارش شده است (Degefa et al. 2004)، (Kapczynski and King 2005)، (Boven et al. 2008)، (Fentie et al. 2014)، (Sarcheshmei et al. 2016). در بین گروه‌های واکسینه، از لحاظ علائم بالینی و ضایعات کالبدگشایی تفاوتی مشاهده نگردید. در مطالعه‌ی حاضر بیشترین مقدار ردیابی ویروس در بافت‌های نای، ریه، کبد، کلیه و طحال، در روزهای ۲ و ۵ پس از چالش صورت گرفت که با نتایج Daniela و همکاران در سال ۲۰۰۰ مطابقت دارد. آن‌ها جهت بررسی حضور ویروس بیماری نیوکاسل در بافت‌های مختلف در جوجه‌های عاری از بیماری از آزمون RT-PCR استفاده کردند که بیشترین فراوانی حضور ویروس در بافت‌ها در جوجه‌های آلوده را، در روزهای ۴ تا ۶ بعد از تلقیح ویروس نشان دادند. در مطالعه‌ی حاضر مقدار ویروس در سوآب نای وکلواک اختلاف معنی‌داری نداشت که با یافته‌های Haque و همکاران در سال ۲۰۱۰ مطابقت ندارد آن‌ها در مطالعه‌ی خود احتمال دادند، علت جداسازی بالاتر ویروس نیوکاسل از سوآب نای در مقایسه با سوآب کلوآک، مدت زمان بیشتر حضور ویروس نیوکاسل در بافت نای در طی عفونت است. در مطالعه‌ی حاضر ردیابی ویروس در بافت طحال گروه‌های واکسینه_چالش شده تنها در روزهای ۲ و ۵ مورد ردیابی قرار گرفت که با نتایج مطالعه‌ی Wakamatsu و همکاران در سال ۲۰۰۶ که در مورد جداسازی ویروس نیوکاسل از اندام‌های مختلف بعد از چالش بود مطابقت دارد. آن‌ها حضور آنتی‌ژن ویروس نیوکاسل در طحال توسط آزمون ایمونوهیستوشیمی را در روزهای ۳ تا ۵ پس از تلقیح مورد ردیابی قراردادند. واکسیناسیون عیار بالایی ازآنتی‌بادی HI را در گروه‌های واکسینه فراهم می‌سازد که یافته‌های ما با تحقیقات Kapczynski and King 2005، Boven et al. 2008 و Sarcheshmei et al. 2016 مطابقت دارد. نتایج مطالعه‌ی Feizi و Nazeri در سال ۲۰۱۱ نشان داد که واکسن‌های لاسوتا، کلون ۳۰ و اوینیو عیار مشابه ایجاد نمودند، که ازلحاظ آماری تفاوت‌های موجود بین تیتر حاصل از این سه واکسن در آزمایش HI معنی‌دار نبود که با تحقیقات ما همخوانی دارد و هیچ‌گونه اختلاف معنی‌داری در عیار HI بعد از واکسیناسیون در گروه‌های واکسینه مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$). با توجه به نتایج این تحقیق افت معنی‌دار عیارآنتی بادی مادری در گروه کنترل منفی و عدم افت عیار آنتی‌بادی در گروه‌های واکسینه، ایجاد ایمنی فعال توسط واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل را نشان می‌دهد. جهت انجام واکسیناسیون انتخاب زمان مناسب با توجه به عیار مادری ضروری است تا سویه‌های واکسن با پادتن مادری تداخل پیدا نکنند که در مطالعه‌ی حاضر واکسیناسیون در گروه‌های مورد مطالعه بر اساس تعیین عیار پادتن مادری در سن ۸ روزگی انجام گردید.

ارزیابی عیار پادتن HI در گروه‌های واکسینه_چالش شده در طول دوره‌ی آزمایش نشان داد که تمام برنامه‌های واکسیناسیون قادر به القای سطوح کافی پادتن برای محافظت در برابر ویروس در حال گردش می‌باشند و تمام گروه‌های واکسینه اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری، در برابر ویروس بیماری نیوکاسل، پس از چالش نداشتند ($P\geq ۰/۰۵$). در روز چالش، میانگین عیار HI در تمام گروه‌های واکسینه بیشتر از $۳\log^2$ بود و تا پایان آزمایش بالاتر از $۳\log^2$ باقی ماند که برای محافظت پرندگان در برابر علایم بالینی آشکار، به نظر کافی است. همان طور که قبلاً بیان شد، میانگین عیار آنتی‌بادی HI بالاتر از $۳\log^2$ نقش محافظتی را در برابر ویروس بیماری نیوکاسل دارند که مطالعه‌ی حاضر نیز با یافته‌های Kapczynski and King 2005، Boven et al. 2008 و Sarcheshmei et al. 2016 مطابقت دارد. در حالی که برخی از پرندگان در گروه‌های واکسینه_چالش شده در برابر بیماری بالینی و مرگ و میر محافظت می‌شوند، اما نمی‌توانند در برابر عفونت محافظت شوند، زیرا ویروس چالش شده را در نمونه‌های نای و مدفوع دفع می‌کنند؛ که یافته‌های ما با گزارش‌های Kapczynski and King 2005، Boven et al. 2008، Fentie et al. 2014 و Sarcheshmei et al. 2016 مطابقت

دارد. پرندگان در گروه‌های واکسینه_چالش شده، ویروس را از روز ۲ پس از چالش دفع می‌کنند. عدم تفاوت در تشخیص و دفع ویروس در بین گروه‌های واکسینه و کنترل مثبت نشان می‌دهد که برنامه‌های واکسیناسیون مختلف و نوع واکسن استفاده شده قادر به محافظت پرندگان در برابر عفونت و تکثیر ویروس نمی‌باشند که مطالعه‌ی حاضر با نتایج Sarcheshmei et al. 2016 مطابقت دارد با این وجود در آن مطالعه شیوع و مدت زمان دفع ویروس در گروه‌های واکسینه متفاوت بود که در مطالعه‌ی حاضر اختلافی در دفع ویروس در بین گروه‌های واکسینه مشاهده نشد ($P\geq ۰/۰۵$) که امکان دارد مرتبط با نوع واکسن، سن واکسیناسیون و یا زمان نمونه‌گیری باشد. در مطالعه‌ی Sarcheshmeiو همکاران در سال ۲۰۱۶، کمترین مدت‌زمان دفع ویروس تا روز ۶ پس از چالش بود دررحالی که در مطالعه‌ی حاضر مدت زمان دفع ویروس تا روز ۱۰ پس از چالش بود. همچنین در پایان آزمایش (۱۴ روز پس از چالش)، اغلب پرندگان میانگین عیار آنتی‌بادی HI بالاتر از $۸\log^2$ را داشتند ولی در مطالعه‌ی حاضر در پایان دوره‌ی آزمایش (۱۴ روز پس از چالش)، میانگین عیار پادتن HI بالاتر از $۵\log^2$ می‌باشد. افزایش میانگین عیار HI در گروه‌های واکسینه_چالش شده، ممکن است با پاسخ سیستم ایمنی به دنبال تکثیر ویروس در ارتباط باشد؛ و همچنین سطوح بالای عیار پادتن در گروه‌های واکسینه_چالش شده ممکن است باعث کاهش دفع ویروس نیوکاسل شود؛ اما علی‌رغم واکسیناسیون، در شرایط مزرعه ویروس بیماری نیوکاسل دوباره باعث عفونت در پرندگان حساس با ایمنی پایین در گله می‌شود که این امر لزوم واکسیناسیون مجدد را در طول دوره پرورش را نشان می‌دهد. این یافته‌ها نشان می‌دهد که اگر چه برنامه‌های واکسیناسیون مورد استفاده در کشور می‌تواند جوجه‌های گوشتی را در برابر بیماری و تلفات بالا به دنبال چالش با ویروس بیماری نیوکاسل حاد محافظت کند، اما پرندگان محافظت کاملی را در برابر ویروس حاد در گردش ندارند و به عنوان مخزن ویروس عمل می‌کنند. در مطالعه‌ی Mayahi و همکاران در سال ۱۳۹۶، نتایج نشان داد جوجه‌های آلوده به ویروس بیماری گامبورو برای مدت طولانی‌تری ویروس نیوکاسل را از نای و کلواک دفع کردند و عیار پادتن پایین‌تری در برابر ویروس نیوکاسل داشتند. این مطالعه نشان داد آلودگی قبلی با ویروس بیماری گامبورو و ضعف ایمنی در جوجه‌های مادر بومی حساسیت بیش‌تر آن‌ها به ویروس بیماری نیوکاسل و در نتیجه تشدید بیماری‌زایی و دفع ویروس نیوکاسل می‌شود. در مطالعه‌ی Sarcheshmei و همکاران در سال ۲۰۱۶ نتیجه‌گیری آن‌ها نشان داد که کارایی واکسن‌های زنده و غیرفعال، قابل قبول بوده و کاربرد صحیح واکسن‌ها و برنامه‌های واکسیناسیون می‌تواند ضمن محافظت ماکیان در مقابل بیماری، از ایجاد خسارات سنگین در مناطق اندمیک بیماری نیز جلوگیری کند و درصد مرگ و میر در گروه واکسینه شده به طور معنی‌داری کمتر از گروه‌های کنترل مثبت بود. با این حال، جوجه‌های واکسینه شده در نمونه‌های مدفوع ویروس چالش داده شده را دفع می‌کردند. Fentie و همکاران در سال ۲۰۱۴، Silva و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز نشان دادند که پروتکل‌های واکسیناسیون آزمایش شده نمی‌توانند به طور کامل پرندگان را از عفونت، تکثیر و دفع ویروس محافظت کنند اما واکسیناسیون باعث کاهش دفع ویروس از دستگاه گوارش و تنفسی در پرندگان چالش شده با ویروس بیماری نیوکاسل ولوژنیک می‌شود و پرندگان واکسینه_چالش شده می‌توانند به عنوان منبع عفونت برای گله‌های حساس عمل کنند و باعث انتقال ویروس شوند. مرگ و میر بالا در پرندگان غیر واکسینه مشاهده شد و همچنین نشان دادند که در مزرعه سویه‌های ویروس می‌تواند به راحتی در یک جمعیت پرورش طیور غیر واکسینه به راحتی گسترش و انتقال یابد و موجب شیوع بیماری‌های عمده شود. در مطالعه‌ی Miller و همکاران در سال ۲۰۰۷، Miller و همکاران در سال ۲۰۰۹، Mohamed و همکاران در سال ۲۰۱۶ و Liu و همکاران در سال ۲۰۱۷ نشان دادند که به طور کلی، چالش‌های هومولوگ (شباهت ژنو تیپی وآنتی ژنی ویروس با واکسن) باعث می‌شود که ویروس دفع کمتری در مقایسه با سویه هترولوگ ویروس

بیماری نیوکاسل خیلی حاد داشته باشد و ممکن است انتقال را نیز کاهش دهد. توسعه و استفاده از واکسن‌های مشابه ژنوتیپ هنگامی‌که چالش میدانی مورد انتظار است، ممکن است که یک ابزار کارآمد را برای کنترل این پاتوژن مهم ماکیان فراهم کند. از آن جا که در مطالعه‌ی حاضر تنها قسمتی از محافظت بالای واکسن‌ها و برنامه‌های مختلف واکسیناسیون علیه جدایه‌ی فیلدی از ویروس بیماری نیوکاسل حاد مورد بررسی قرار گرفت و همچنین مطالعات نشان می‌دهد که به احتمال زیاد این عدم محافظت از گله‌های گوشتی تجاری در برابر چرخش ویروس بیماری نیوکاسل حاد در فیلد و چرخش ویروس در گله‌های گوشتی تجاری ممکن است به دلیل موارد مختلف از جمله، وجود عوامل سرکوب‌کننده سیستم ایمنی بدن (Mayahi et al. 2016)، پروتکل‌های واکسیناسیون ناموفق (Fentie et al. 2014)، مدیریت و نحوه‌ی غیرصحیح مصرف واکسن‌ها (Sarcheshmei et al. 2016)، اختلاف ژنوتیپی ویروس و واکسن (Miller et al. 2013)، (Mohamed et al.2016)، (Liu et al. 2017) و روش‌های مدیریت ضعیف در گله‌های طیور و غیره باشد. علاوه بر این، تغییرات در خصوصیات فیلدی ویروس‌ها ممکن است در کارایی محافظتی جزئی برنامه‌های واکسیناسیون نقش ایفا کنند. مطالعات Miller و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان داد که واکسن‌های مشابه با جدایه‌های فیلدی پتانسیل آن را دارند تا محافظت بالاتری در برابر انتقال با کاهش شدت دفع ویروس را فراهم کند. در فیلد، عوامل متعدد ممکن است اثربخشی واکسیناسیون را کاهش دهد. Asl Najjari و همکاران در سال ۲۰۱۷ اثربخشی واکسن مقاوم در برابر حرارت I-2 نیوکاسل نسبت به واکسن تجاری B1 در مرغ جوجه‌های گوشتی را مورد مطالعه قرار دادند. نتایج نشان داد که واکسیناسیون می‌تواند پرندگان را در مقابل مرگ و میر محافظت کند و همچنین دفع ویروس را کاهش دهد، ولی بین واکسیناسیون واکسن‌های I-2 و B1 تفاوت معنی‌داری در دفع ویروس وجود نداشت. تحقیقات بیشتر به عنوان، بهترین واکسن برای موقعیت‌های خاص، متمرکز می‌شود که نه تنها بر پیش‌گیری از بیماری بالینی و مرگ و میر، بلکه بر روی کاهش مقدار ویروس دفع شده از پرندگان واکسینه شده در کشورهایی که با ویروس بیماری نیوکاسل اندمیک شده‌اند از اهمیت زیادی برخوردار است. نتایج تحقیقات صورت گرفته نشان‌گر این امر است که حتی در صورت وجود تنوع ژنتیکی بین ویروس واکسن و سویه‌ی بیماری‌زا، ایجاد فاصله‌ی زمانی کافی بین انجام واکسیناسیون تا چالش با ویروس بیماری‌زا به ایجاد ایمنی کارآمد در گله منجر شده و میزان دفع ویروس چالش به حد چشمگیر و معنی‌داری کاهش می‌یابد. در آن مطالعه بهترین فاصله‌ی زمانی چالش تا ویروس حاد را که منجر به سطوحی از ایمنی توسط واکسن شود و دفع ویروس چالش را به حد ناچیزی رساند را بیشتر از ۲۱ روز نتیجه‌گیری کردند که در مطالعه‌ی حاضر نیز فاصله‌ی زمانی بین واکسن تا چالش ۲۷ روز بود؛ بنابراین با توجه به طول در حال کاهش دوره پرورش گله‌های گوشتی که ۳۵-۴۲ روز می‌باشد بر اهمیت واکسیناسیون زودهنگام، استفاده از راه‌های تسریع برانگیختن پاسخ ایمنی و پرهیز از بروز هرگونه خطا در طراحی برنامه و اجرای واکسیناسیون باید تأکید داشت تا باعث کاهش دفع ویروس و در نتیجه موفقیت در واکسیناسیون شود. در خصوص پیشگیری و کنترل بیماری نیوکاسل واکسیناسیون، از ابزارهای مهم و ارزشمند تلقی می‌شود. Allan و همکاران در سال ۱۹۷۸ اهمیت برنامه‌های واکسیناسیون در کنترل بیماری نیوکاسل را توصیف نمودند. با این وجود واکسیناسیون به تنهایی قادر به پیشگیری از این بیماری نیست و نمی‌تواند جایگزین مدیریت خوب و برنامه‌های امنیت زیستی در فارم گردد (Leslie 2000). مطالعه‌ی حاضر نشان داد واکسن‌های پنوموتروپ و ویسروتروپ بیماری نیوکاسل عیار پادتن مناسبی در ماکیان ایجاد می‌نمایند و هر دو نوع واکسن گله را به خوبی در مقابل بروز نشانه‌های بالینی و تلفات در برابر ویروس حاد بیماری نیوکاسل محافظت می‌کنند و میزان دفع ویروس را از دستگاه تنفس و دستگاه گوارش به مقدار زیادی کاهش می‌دهند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز در قالب پژوهانه (SCU.VC98.145) در انجام این تحقیق، تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

هزینه‌های این تحقیق توسط معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز و مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی کرج تأمین شده است.

منابع

Alders, R.G. and Spradbrow, P.B. (2001). Controlling Newcastle disease in village chickens a field manual. Australian Centre for International Agricultural Research, Pp: 112.

Alexander, D.J. (1998). Newcastle Disease. Klumer Academic Publishers, Boston, Pp: 147-160.

Alexander, D.J.; Manvell, R.J.; Banks, J.; Collins, M.S.; Parsons, G.; Cox, B.et al. (1999). Experimental assessment of the pathogenicity of the Newcastle disease viruses from outbreaks in Great Britian in 1997 for chickens and turkeys and the protection afforded by vaccination. Avian Pathol, 28: 501–512.

Alexander, D.J.; Bell, J.G. and Alders, R.G. (2004). A Technology review: Newcastle disease with special emphasis on its effect on village chickens. Rome, Fao,Pp: 161.

Allan, W.H.; Lancaster, J.E. and Toth, B. (1978). Newcastle Disease Vaccines Their Production and Use. FAO Animal Production and Health Series, 10: 100-110.

Asl Najjari,A.H.; Nili, H.; Asasi,K.; Mosleh, N.; Rohollahzadeh, H.and Mokhayeri,S. (2017). Efficacy of thermostable I-2 Newcastle disease vaccine compared to B1 commercial vaccine in broiler chicken. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 18(2): 103–107.

Boroomand, Z.; Jafari, R.A. and Mayahi, M. (2016). Molecular characterization and phylogenetic study of the fusion genes of Newcastle disease virus from the recent outbreaks in Ahvaz, Iran. Virus disease, 27: 102-105.

Boven, M.V.; Bouma, A.; Fabri, T.H.F.; Katsma, E.; Hartog, L.and Koch, G.(2008) Herd immunity to Newcastle disease virus in poultry by vaccination. Avian Pathology, 37(1):1-5.

Daniela, S. G.; Barbara, T. and Hofmann, M. A. (2000). Detection of Newcastle disease virus in organs and faeces of experimentally infected chickens using RT-PCR. Avian Pathology, 29: 143– 152.

Degefa, T.; Dadl, L.; Yami, A. and Nassir, M. (2004). Technical and economic evaluation of different methods of Newcastle disease vaccine administration. Transboundary and Emerging Diseases, 51: 365-369.

Feizi, A. and Nazeri, M. (2011). Comparative Study of Antibody Titers Obtained from Avinew, LaSota, and Clone30 Vaccines in Broiler Chicks with HI Test. Australian Journal of Basic and Applied Sciences, 5: 554-558.

Fentie, T.; Dadi, K.; Kassa, T.; Sahle, M. and Cattoli, G. (2014). Effect of vaccination on transmission characteristics of highly virulent Newcastle disease virus in experimentally infected chickens. Avian Pathol, 43: 420-426.

Haque, M.; Hossain, M.; Islam, M.; Zinnah, M.; Khan, M. and Islam, M. (2010). Isolation and detection of Newcastle disease virus from field outbreaks in broiler and layer chickens by Reverse Transcription–Polymerase Chain Reaction. Bangladesh Journal of Veterinary Medicine, 8: 87-92.

Jordan, F.T.W. (1990). Poultry Diseases, 3th ed. Cambrig University Prees, London, PP: 121-146, 159-166.

Kapczynski, D.R.; King, D.J. (2005). Protection of chickens against overt clinical disease and determination of viral shedding following vaccination with commercially available Newcastle disease virus vaccines upon challenge with highly virulent virus from the California 2002 exotic Newcastle disease outbreak. Vaccine, 23: 3424–3433.

King, D.J. (1996). Influence of chicken breed on pathogenicity evaluation of velogenic neurotropic Newcastle disease virus isolates from cormorants and turkeys. Avian Dis, 40: 210–217.

Leslie, J. (2000). Newcastle Disease: Outbreak Losses and Control Policy Costs. Veterinary Record, 146: 603-606.

Liu, J.;Zhu,J.; Xu,H.; Li,J.; Hu,Z.; Hu,S. et al. (2017). Effects of the HN Antigenic Difference between the Vaccine Strain and the Challenge Strain of Newcastle Disease Virus on Virus Shedding and Transmission. Viruses journal, 9(8): 225.

Mayahi, M.(2013). poultry viral diseases.2th ed. Shahid Chamran university press, ahvaz, Pp: 1-26.(in persian).

Mayahi, M.; Boroomand, Z.; Jafari, R. and Zahabi, H. (2016). Study on experimental infection of Newcastle Disease virus in local breeder chicks infected with infectious bursal disease virus. Veterinary Researches & Biological Products, 117: 11-23.

Miller, P.J.; King, D.J.; Afonso, C.L. and Suarez, D.L. (2007). Antigenic differences among Newcastle disease virus strains of different genotypes used in vaccine formulation affect viral shedding after a virulent challenge.Vaccine, 25: 7238–7246.

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

Miller, P.J.; Afonso, C.L.; El Attrache, J.; Dorsey, K.M.; Courtney, S.C.; Guo, Z.et al. (2013). Effects of Newcastle disease virus vaccine antibodies on the shedding and transmission of challenge viruses. Developmental and Comparative Immunology, 41: 505-513.

Miller, P.J. and Koch, G. (2020). Newcastle disease In: Disease of poultry. 14th ed. John Wiley & Sons, Inc, Iowa, PP: 111-129.

Mohamed,M.H.A.;Abdelaziz,A.M.;Kumar,S.;Al-Habib,M.A.and Megahed,M.M. (2016). Effect of phylogenetic diversity of velogenic Newcastle disease virus challenge on virus shedding post homologous and heterologous DNA vaccination in chickens, Avian Pathology, 45(2): 228-234.

Sarcheshmei, M.; Dadras, H.; Mosleh, N.and Mehrabanpour,M. (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(3): 363-370.

Silva,M.S.;Susta,L.; Moresco,K. and Swayne, D. E. (2016). Vaccination of chickens decreased Newcastle disease virus contamination in eggs. Avian Pathology, 45(1): 38-45.

Thayer, S.G. and Beard, C.W.Serological procedures. In: Dofour-Zavala, L.; Swayne, D.E.; Glisson, J.R.; Pearson, J.E.; Reed, W.M.;Jackwood, M.W. and Woolcock, P.R. (2008). A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens. 5th edition. American Assosiation of Avian Pathologists, Athens, GA, PP: 222-229.

Villegas, P. Titration of biological suspensions. In: Dofour-Zavala, L.; Swayne, D.E.; Glisson, J.R.; Pearson, J.E.; Reed, W.M.;Jackwood, M.W. and Woolcock, P.R. (2008). A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens. 5th edition. American Assosiation of Avian Pathologists, Athens, GA, Pp: 217-221.

Wakamatsu, N.; King, D.; Kapczynski, D.; Seal, B. and Brown, C. (2006). Experimental pathogenesis for chickens, turkeys, and pigeons of exotic Newcastle disease virus from an outbreak in California during 2002-2003. Veterinary Pathology, 43: 925-933.

Wambura, P. (2006). Comparative propagation of shape Newcastle disease virus (strains I-2 and V4) on chicken embryo tracheal explants.Veterinary research communications, 30: 673-677.

Received: 07.05.2020
Accepted: 20.09.2020

Vol. 18, No. 2, Summer, 2022 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2020.229463.2256
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.2.8.8

Evaluation pneumotropic and viscerotropic Newcastle disease vaccines against replication and shedding Newcastle disease virus in broiler chickens

Hamzeh Nabavi[1], Mansour Mayahi[2*], Abdolhamid Shoshtari[3] and Zahra Boroomand[4]

[1] PhD candidate in Poultry Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2] Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz; Ahvaz, Iran
[3] Associate Professor, Department of Avian Diseases, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran
[4] Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz; Ahvaz, Iran

Received: 07.05.2020 Accepted: 20.09.2020

Abstract

Vaccination are the most important way to prevent viral diseases in the poultry industry. The aim of study was to evaluate pneumotropic and viscerotropic Newcastle disease vaccines against replication and shedding of Newcastle disease virus (vNDV) in broiler chickens. One hundred forty day-old Ross broiler chickens were purchased and after bleeding from 20 chicks remaining randomly divided into six equal groups, and groups 1,2,3 and 4 vaccinated by B1, colone, vitapest, avinew vaccines respectively via eye drop at 8 days of age and groups 5 and 6 were kept as positive and negatives control groups and inoculated same way by distelled water. All groups except group 6 were challenged via intra nasal-ocular route on day 35 with 0.1 mililiter allantoic suspension containing 10^5 EID_{50}/ml vNDV. Group 6 were inoculated same way by PBS. All groups were observed two times daily and blood samples was collected from all groups on days 1,8,15,35,42 and 49 for determining antibody titers against Newcastle vaccines by hemagglutination inhibition test (HI). On days 2, 5, 10 and 15 after inoculation, 3 chicks were randomly selected from each groups and cloaca and trachea swabs samples were collected from each bird. Then the chicks were euthanized, and trachea, lungs, spleen, kidney, and liver tissues samples were collected for Real time PCR. Results showed virus was detected in the trachea and cloaca swab and tracheal, lungs, kidneys, spleen and liver tissues all vaccinated groups at 2 and 5 days after vaccination was significantly less than unvaccinated challenged control group. It was concluded that pneumotropic and viscerotropic Newcastle disease vaccines produce protective antibody in vaccinated broiler and both vaccines protect broiler flock against clinical signs and mortality and reduce large amount virus shedding from respiratory and intestine tract.

Key words: Newcastle disease virus, Real time PCR, Replication, Shedding, Pneumotropic, Viscerotropic, vaccines

[*] **Corresponding Author**: Mansour Mayahi, Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz; Ahvaz, Iran
E-mail: m_mayahi@yahoo.com

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).