

# تأثیر انتخاب زمان واکسیناسیون با واکسن Avinew به روش قطره چشمی بر تحریک ایمنی خونی با آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)

عبدالمجید شیخی<sup>۱</sup>، هادی حق بین نظریاک<sup>۲\*</sup>، نریمان شیخی<sup>۳</sup>

۱- دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار-ایران.

۲- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار-ایران.

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

\* نویسنده مسئول: [haghbinnazarpak@iau-garmsar.ac.ir](mailto:haghbinnazarpak@iau-garmsar.ac.ir)

دریافت مقاله: ۱۷ مرداد ۸۸ پذیرش نهایی: ۲۵ آذر ۸۸

## The effect of eye drop route vaccination scheduling with Newcastle Avinew vaccine on stimulating of humoral immunity by Hemagglutination Inhibition test

Sheikhi, A. M.<sup>1</sup>, Haghbin Nazarpak, H.<sup>2\*</sup>, Sheikhi, N.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar-Iran.

<sup>2</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar-Iran.

<sup>3</sup>Assistant Professor of Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Sciences and Researches Branch, Tehran-Iran.

### Abstract

Newcastle disease is one of the infectious diseases in birds. Doing an accurate vaccination in a proper time is an approach to prevent the disease. This study clarified the effect of eye drop route vaccination scheduling with Newcastle Avinew vaccine on stimulating of humoral immunity in broilers by Hemagglutination Inhibition test in order to find a better vaccination protocol. So, 150 one-day-old broiler chicks were divided into 3 separated groups. Treatment groups were consisted of A1 (eye drop vaccination at 1st, 14th day old regardless of maternal antibody), A2 (eye drop vaccination at 7th, 17th day old with considering maternal antibody) and control group (without vaccination). Results showed the decreasing trend at 1st, 7th, 14th days old in all groups and increasing trend after 21th day in groups A1 and A2. Control group had the decreasing trend in all bleeding stages and reached to the lowest level at 35 th days old. Statistical analysis revealed no significant difference between A1 and A2 groups ( $p < 0.05$ ). Also, there was no significant difference between control group and the other groups up to 14th day old. However, considering the results of this study, eye drop vaccination at 1st day of life in high risk regions should be implemented in order to prevent Newcastle disease, regardless of maternal antibody. *Vet. Res. Bull.* 6,1:81-84, 2010.

**Keywords:** Newcastle; Maternal antibody; Titer; Vaccine; Eye drop route.

## چکیده

نیوکاسل یکی از بیماری‌های عفونی در پرندگان می‌باشد. عامل این بیماری پارامیکسوویروس است. امروزه به خوبی روشن گردیده که این بیماری در اکثر نقاط جهان شایع بوده و همه ساله خسارت زیادی به صنعت طیور وارد می‌کند. برای پیشگیری از این بیماری یکی از روش‌ها، انجام واکسیناسیون به روش صحیح و در زمان مناسب می‌باشد. هدف از این تحقیق بررسی تأثیر زمان‌های مختلف واکسیناسیون با واکسن Avinew به روش قطره چشمی بر میزان تیتر HI در جوجه‌های گوشتی می‌باشد تا زمان مناسب‌تر برای انجام عمل واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل مشخص گردد. به این منظور ۱۵۰ قطعه حلپور گوشتی در سه گروه مجزا از همدیگر گروه بندی شدند. تیمارها شامل A1 (واکسیناسیون به روش قطره چشمی بدون توجه به تیتر مادری در ۱ و ۱۴ روزگی)، A2 (واکسیناسیون به روش قطره چشمی با توجه به تیتر مادری در ۷ و ۱۷ روزگی) و گروه شاهد (بدون دریافت واکسن) بودند. نتایج بیانگر روند کاهش تیتر در روزهای ۱، ۷ و ۱۴ در هر دو گروه A1 و A2 بود و از روز ۲۱ میزان تیتر در هر دو گروه A1 و A2 افزایش یافت. گروه شاهد نیز روند کاهش تیتر را در همه مراحل خونگیری نشان داد و در ۳۵ روزگی تیتراژ به حداقل میزان تیتر رسید. از نظر آماری در هیچ یک از روزها بین گروه‌های A1 و A2 تفاوت معنی داری وجود نداشت ( $p < 0.05$ ). همچنین بین گروه‌های شاهد و سایر گروه‌ها نیز در ۱۴ روزگی تفاوت معنی داری وجود نداشت. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق برای دست‌یابی به نتیجه مطلوب در مناطق پرخطر به منظور پیشگیری از بروز بیماری نیوکاسل می‌توان بدون توجه به آنتی بادی مادری، واکسیناسیون را به روش قطره چشمی در یک روزگی اجرا نمود. پژوهشنامه دامپزشکی، دوره ۶، شماره ۱، ۸۴-۸۱. واژه‌های کلیدی: نیوکاسل؛ آنتی بادی مادری؛ تیتر HI؛ واکسن؛ روش قطره چشمی.



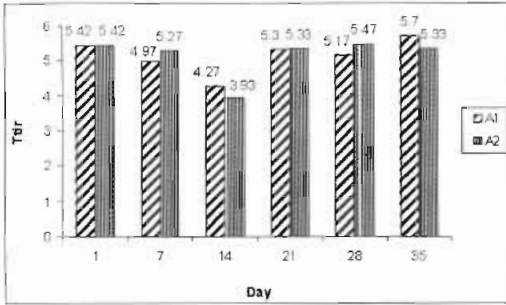
## مقدمه

نیوکاسل یکی از بیماری‌های عفونی در پرندگان می‌باشد. عامل این بیماری پارامیکسو ویروس است. امروزه به خوبی مشخص شده است که این بیماری در اکثر نقاط جهان شایع بوده (۷) و همه ساله خسارت فراوانی به صنعت طیور وارد می‌کند. این بیماری به شکل حاد می‌تواند تلفات ۱۰۰٪ نیز ایجاد کند (۳). بنابراین کنترل و پیشگیری این بیماری در صنعت طیور حائز اهمیت می‌باشد. برای پیشگیری از این بیماری و بررسی روش‌های مختلفی وجود دارد که یکی از این روش‌ها انجام واکسیناسیون صحیح در زمان مناسب می‌باشد. واکسیناسیون به منظور پیشگیری از بیماری نیوکاسل به صورت آشامیدنی، اسپری، قطره چشمی و تزریق قابل اجرا می‌باشد. از آنجا که بیماری نیوکاسل در تمامی سنین مشاهده می‌شود، بنابراین استفاده از روش مناسب در پیشگیری این بیماری ضروری می‌باشد. از روش آشامیدنی در هفته اول پرورش پرنده نمی‌توان استفاده کرد زیرا تیتراژ مادری با عملکرد واکسن تداخل داشته و منجر به عدم دسترسی به تیتراژ مناسب می‌گردد (۱۲، ۵، ۱)، اما روش اسپری و قطره چشمی رامی‌توان از یک روزگی استفاده کرد (۴، ۱۴). یکی از عوامل موثر در کارایی واکسن و موفقیت برنامه واکسیناسیون، انتخاب روش مناسب به منظور واکسیناسیون بر اساس شرایط مزرعه پرورشی و سپس تعیین زمان صحیح مصرف واکسن در پرنده با توجه به روش انتخاب شده به منظور واکسیناسیون می‌باشد.

هدف از این تحقیق بررسی میزان تیتراژ ممانعت از هم‌اگلوتیناسیون (HI) حاصل از استفاده ی واکسن Avinew به روش قطره چشمی در زمان‌های مختلف واکسیناسیون می‌باشد تا زمان مناسب برای انجام عمل واکسیناسیون علیه بیماری نیوکاسل با این روش مشخص گردد.

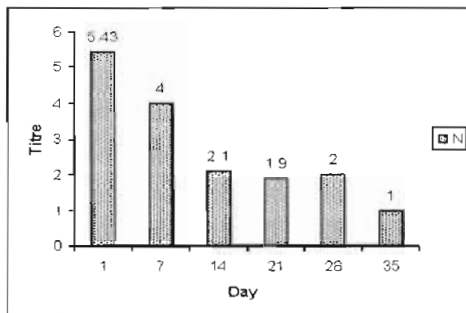
## مواد و روش کار

این تحقیق در سال ۱۳۸۷ در مرغداری‌های گرگان صورت پذیرفت. سه گروه ۵۰ قطعه‌ای از جوجه‌های یک روزه را به صورت تصادفی انتخاب کردیم. گروه اول (A1)، بدون توجه به تیتراژ ممانعت از هم‌اگلوتیناسیون (HI) مادری در یک روزگی و ۱۴ روز بعد (تکرار واکسن با توجه به توصیه شرکت سازنده) به صورت قطره چشمی، واکسیناسیون انجام پذیرفت. گروه دوم (A2)، با توجه به تیتراژ ممانعت از هم‌اگلوتیناسیون (HI) مادری (۵.۴۲) در روز ۷ و سپس در روز ۱۷ به صورت قطره چشمی واکسینه شدند. گروه سوم



نمودار ۱. مقایسه تیتراژ واکسن A1 و A2 در طی دوره خونگیری

نمودار ۱. مقایسه تیتراژ واکسن A1 و A2 در طی دوره خونگیری



نمودار ۲. میزان تیتراژ گروه شاهد در طی دوره خونگیری

نمودار ۲. میزان تیتراژ گروه شاهد در طی دوره خونگیری

گروه شاهد بدون دریافت واکسن بود. در این تحقیق در روزهای ۷، ۱۴، ۲۱، ۲۸، ۳۵، ۴۲ و ۴۹ از ورید و داج جوجه‌ها خونگیری انجام پذیرفت. سرنگ‌های خونگیری شده را به صورت مورب در دمای اتاق قرار داده و پس از لخته شدن خون به همراه مشخصات آن در کنار یخ به آزمایشگاه ارسال گردید و در آزمایشگاه مورد سنجش میزان آنتی بادی ممانعت از هم‌اگلوتیناسیون نیوکاسل قرار گرفت.

## نتایج و بحث

در این تحقیق با توجه به نتایج نمودار ادربین گروه A1 و A2 از لحاظ میزان تیتراژ (HI) تفاوت معنی داری وجود نداشت  $(P < 0.05)$ . در هر دو گروه A1 و A2 تا خونگیری روز چهاردهم کاهش تیتراژ (HI) دیده شد. گروه شاهد در تمامی هفته‌ها کاهش تیتراژ را نشان داد که در روز ۳۵ به حداقل تیتراژ (HI) یک کاهش یافت. میزان تیتراژ حداقل، حداکثر و میزان پراکندگی گروه A1 و A2 در روزهای مختلف خونگیری جداول ۱ و ۲ ذکر شده است. همچنین بین



می توان واکسیناسیون را به روش آشامیدنی و بالحاظ نمودن نیمه عمر آنتی بادی مادری مورد اجرا قرار داد (۶،۱۳). در تحقیقات فرانسیسکو و همکاران میزان تحریک IgA با استفاده از واکسن Avinew در نای، ریه، دئودنوم و سگال تانسیل ها بعد از استفاده واکسن به روش قطره چشمی و در سن ۱۰ روزگی در حد مطلوب گزارش شده است. در روز ۱۵ هیچگونه آنتی بادی IgA در دستگاه تنفس یافت نشد (۶). اگر میزان تیتر مادری در حد بالایی باشد می توان از واکسیناسیون به روش اسپری استفاده کرد تا با ایمنی مادری تداخل ایجاد نکند (۶). در تحقیقات بیبرد و همکاران، بهترین نتایج از واکسیناسیون جوجه ها در یک روزگی و تکرار آن در ۱۷ روزگی به صورت قطره چشمی حاصل گردید (۴).

به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که برای دست یابی به نتیجه مطلوب در مناطق پر خطر، می توان بدون ترس از حضور آنتی بادی مادری به دلیل توانمندی در خنثی سازی آنتی ژن زنده موجود در واکسن، واکسیناسیون را می توان در یکروزگی باروش قطره چشمی انجام داد.

## References

- 1- Alexander, D.J. (1997) Newcastle disease and other paramyxovirus infections In: Calnek, B.W., Barnes, H.J., Beard, C.W., McDougal, L.R., Saif, Y.M. (Eds). Diseases of Poultry, 10th Ed. Iowa State Univ. Press, Ames, IA., 541-569.
- 2- Al-Garib, S.O., Gruys, E., Gielkens, A.L., Koch, G., (2003) Detection of antibody-forming cells directed against Newcastle disease virus and their immunoglobulin class by double immunoenzyme histochemistry. *Avian Dis*, **47**: 453-457.
- 3 Al-Garib, S.O. (2003) Review of newcastle disease virus with particular reference to immunity and vaccination. *Worl. Poult. Sci. J.*, **59**:185-200.
- 4- Beard, C.W., Villegas, P., Glisson, J.R. (1993) Comparative efficacy of the B-1 and VG/GA vaccine strains against velogenic viscerotropic Newcastle disease virus in chickens. *Avian Dis.*, **37**:222-225.
- 5- El-yuguda, A.D., Baba, S.S. (2007) Antibody responses of village chickens to single or combined viral vaccines: Effects of maternal antibodies and vaccine intractions. Proceedings of the 12th International conference of the Association of

جدول ۱- میزان حداقل و حداکثر تیتر و درصد پراکندگی در گروه A1 در سنین مختلف

سن	۱	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵
حداقل تیتر	۳	۳	۲	۴	۳	۴
حداکثر تیتر	۷	۷	۷	۸	۸	۸
درصد پراکندگی	۲۴/۴۰	۲۳/۳۴	۲۳/۱۱	۲۲/۱۶	۲۷/۴۱	۲۳/۱۱

جدول ۲- میزان حداقل و حداکثر تیتر و درصد پراکندگی در گروه A2 در سنین مختلف

سن	۱	۷	۱۴	۲۱	۲۸	۳۵
حداقل تیتر	۳	۴	۲	۴	۳	۴
حداکثر تیتر	۷	۷	۷	۸	۸	۸
درصد پراکندگی	۲۴/۴۰	۲۰/۳۸	۳۷/۷۳	۱۹/۲۸	۲۷/۰۶	۲۴/۲۹

گروه ها اختلاف معنی داری ( $p < 0.05$ ) مشاهده نشده است.

با توجه به نتایج حاصله از تحقیق فوق روند کاهش تیتر مادری در هر سه گروه مورد آزمایش تا روز چهاردهم اختلاف معنی داری ( $p < 0.05$ ) نداشت و از نمونه گیری روز بیست و یکم به بعد در بین گروه های دریافت کننده واکسن (A1، A2) و گروه شاهد (C) اختلاف معنی داری ( $p > 0.05$ ) مشاهده گردید. در هیچیک از موارد خونگیری روزهای مختلف در تیتر HI حاصل از گروه های دریافت کننده واکسن به لحاظ میزان آنتی بادی همورال (IgG) که قابلیت ردیابی با کمک آزمون HI را دارد، اختلاف معنی داری ( $p < 0.05$ ) وجود نداشت. لیکن نکته قابل توجه، آمادگی سریعتر گروه A1 در مقابله با بروز و گسترش بیماری به دلیل تحریک زود هنگام سیستم ایمنی موضعی - مخاطی است که به عنوان مزیت نسبی در مقایسه با گروه دریافت کننده واکسن در سنین بالاتر قابل تامل است. این مسئله در پیشگیری از بروز و گسترش بیماری در مناطقی که احتمال ابتلای پرندگان در سنین پایینتر دوره پرورش امکان پذیر باشد، از اهمیت فزاینده ای برخوردار است. از اینرو در مناطق پر خطر می توان در یکروزگی واکسیناسیون را به روش قطره چشمی انجام داد که این عمل باعث برانگیختن ایمنی موضعی و افزایش IgA در مخاط می شود (۶،۱۳). تحریک و برانگیختگی ایمنی موضعی با حضور آنتی بادی مادری تداخلی نداشته و می تواند پرنده را در برابر عفونت با ویروس وحشی فیلد تا حدودی ایمن نماید (۹). با افزایش سن پرنده به دلیل کاهش میزان آنتی بادی مادری و به دنبال آن اثرات متقابل آن بر روی ویروس موجود در واکسن،



## Institutions of Tropical Veterinary Medicine

- 6-Francisco, P., 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 Pathol*, **37**: 237-245.
- 7-Gallili, G.E., Ben-Nathan, D. (1998) Newcastle disease vaccines. *Biotechnol. Adv*, **16**: 343-366.
- 8-Kaletka, E.F., Bruckner, D., Goller, H. (1989) Acute fatalities following subcutaneous injection of paramyxovirus type 1 vaccination in pigeon. *Avian Pathol*, **18**:203-210.
- 9-Mahmud, M.S., Hossain, M.T., Monoura, P., Amin, M.M. (2007) Comparative efficacy of Avinew (VG/GA STRAIN) and BCRDV (F STRAIN) vaccines against Newcastle disease in broiler chickens. *Bangl. J. Vet. Med*, **5**: 19-23.
- 10-Malkinson, M., Small, P.A. (1997) Local immunity against Newcastle disease virus in the newly hatched chickens respiratory tract. *Infect Immun*, **16**:587-592.
- 11-Mansur-ud-Din, A., Mamoona, C., Muhammad Farooq, R., Hamad, B. R. (2007) Evaluation of two vaccination schemes using live vaccines against Newcastle disease in chickens. *Turk. J. Vet. Anim. Sci*, **31**: 165-169
- 12-Momayez, R., Khakpour, B., Pourbakhsh, S.A., Banani, M. (2007) Evaluation of maternal antibody levels for establishing the vaccination program against Newcastle disease in ostrich chicks. *Archives of Razi Institute*, **62**:155-159
- 13- Russel, P.H., Ezelfeka, G.O. (1995) The Hitchner B-1 Strain of Newcastle disease virus induces high level of IgA? IgG ?IgM in newly hatched chicks. *Vaccine*, **113**:61-68
- 14- Underwood, G., Jackson, C., Coleman, L., De Laney, D. (2004) Effect of maternal (passive) antibody on Newcastle disease virus (NDV) replication: could deviation from the national standard operating procedures (SOPs) contribute to evolution of virus virulence.

