JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره دوازدهم، شماره اول، ۱۳۹۵، پیاپی ۳۲: ۱۹-۱۱

بررسی میزان ایمنی‌زایی واکسن دوگانه زنده نیوکاسل (La-Sota) و برونشیت عفونی (H-120) ساخت و تولید موسسه رازی

شهین مسعودی[1*]، محمد مجید ابراهیمی[1]، شهلا شاهسوندی[1]

۱- استادیار بخش تحقیق و تولید واکسن های ویروسی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

تاریخ دریافت: ۲۵ اردیبهشت ۱۳۹۴ تاریخ پذیرش: ۱۵ تیر ۱۳۹۴

چکیده: *بیماری‌های نیوکاسل و برونشیت عفونی عامل خسارت اقتصادی قابل توجهی به صنعت مرغداری هستند. کنترل این دو بیماری مهم طیور شامل رعایت موارد ایمنی زیستی و واکسیناسیون است. هدف از این تحقیق ارزیابی اثربخشی واکسن دوگانه زنده نیوکاسل (سویه لاسوتا) + برونشیت عفونی (سویه H-120) در مقایسه با واکسن‌های تک گانه آن‌ها در جوجه‌های گوشتی تجاری است. تعداد ۵۰۰ قطعه جوجه گوشتی تجاری به چهار گروه شامل سه گروه تحت آزمایش ۱۵۰ قطعه ای و یک گروه ۵۰ قطعه ای (شاهد) تقسیم شدند. گروه A واکسن‌های تک گانه نیوکاسل سویه لاسوتا و برونشیت عفونی سویه H-120، جوجه‌های گروه B واکسن دو گانه نیوکاسل (سویه لاسوتا) + برونشیت عفونی (سویه H-120) و گروه D واکسن دوگانه تجاری را دریافت کردند. میزان آنتی بادی علیه ویروس‌های نیوکاسل و برونشیت عفونی در جوجه‌های واکسیناسیون شده به ترتیب با آزمایش‌های ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) و خنثی‌سازی سرم (SN) روی نمونه‌های سرم اخذ شده در فواصل زمانی معین ارزیابی شد. پرندگان گروه‌های A و B آنتی بادی اختصاصی علیه هر دو ویروس را در سطح قابل قبول نشان دادند. تفاوت معنی داری در عیار آنتی بادی بین واکسن‌های تک گانه و دو گانه موسسه رازی و نیز واکسن دوگانه تجاری دیده نشد. در میانگین وزن و مصرف دان بین گروه‌های تیمار و کنترل تفاوت معنی داری دیده نشد. واکسن دو گانه نیوکاسل (سویه لاسوتا) + برونشیت عفونی (سویه H-120) تولید شده در موسسه رازی می تواند سطوح بالای آنتی بادی اختصاصی علیه این ویروس‌ها را با یک بار تجویز ایجاد نماید.*

کلمات کلیدی: *برونشیت عفونی طیور، نیوکاسل، واکسن دوگانه، توانمندی*

* نویسنده مسئول: شهین مسعودی

آدرس: بخش تحقیق و تولید واکسن های ویروسی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران. تلفن: ۴۶-۳۴۵۷۰۰۳۸ -۰۲۶ نمابر: ۳۴۵۵۲۱۹۴ -۰۲۶

پست الکترونیک : s.masoudi@rvsri.ac.ir

مقدمه

دو بیماری نیوکاسل و برونشیت عفونی طیور از بیماری‌های مهم در صنعت مرغداری بوده و عامل خسارت اقتصادی قابل توجهی به این صنعت پر درآمد هستند. بیماری نیوکاسل عفونت حاد و بسیار مسری پرندگان اهلی و وحشی در سراسر جهان است که توسط ویروس نیوکاسل ایجاد می‌شود. ماهیت متنوع سویه‌های ویروس عامل این بیماری سبب ایجاد بیماری با درجات متغیر می‌شود. ویروس عامل بیماری به خانواده پارامیکسوویریده تعلق دارد که ویروس‌های RNA دار تک رشته‌ای پوشش‌دار با قطبیت منفی و کپسید مارپیچی هستند. ژنوم ویروس از ۶ ژن در راستای 3′-NP-P-M-F-HN-L- 5′ تشکیل شده است که پروتئین‌های ساختاری L، گلیکو پروتین HN، گلیکوپروتئین F، و پروتئین‌های M، NP و P را رمزدهی می‌کنند. دو پروتئین HN و F در ساختمان دو لایه‌ای چربی پوشینه قرار دارند (۱۷و۱۹). پلی پپتید F از پیش ساز F0 در نتیجه برش پروتئولیتیک ساخته می‌شود. حساسیت این پیش‌ساز به شکسته شدن به‌وسیله آنزیم های سلولی توانایی ویروس برای انتشار در میزبان و گرایش بافتی را مشخص می‌کند (۲۰). اولین رخداد بیماری نیوکاسل از ماکیان منطقه جاوه اندونزی در سال ۱۹۲۶ گزارش شد. در اواخر همان سال بیماری در پرندگان سواحل اطراف شهر نیوکاسل انگلستان مشاهده شد (۱۷). با توسعه صنعت مرغداری در سال ۱۳۳۰ و ورود نژادهای خارجی به ایران، بیماری نیوکاسل در بین آن‌ها پدیدار شده و در مدت کوتاهی در سراسر ایران گسترش یافت. ویروس بیماری نیوکاسل با سویه‌های مختلف در بیش‌تر کشورهای جهان وجود داشته و محدود کردن انتشار آن به تلاش های انجام شده برای ریشه‌کنی و کنترل بیماری بستگی دارد.

برونشیت عفونی بیماری ویروسی حاّد و بسیار مسری ماکیان است و توسط یک کوروناویروس ایجاد می‌شود. ویروس عامل، چندشکلی و دارای پوشش بوده و در سیتوپلاسم تکثیر می‌شود. ژنوم این ویروس مولکول خطی RNA با قطبیت مثبت به اندازه ۲۷/۶ کیلو باز است که سه پروتئین اصلی شامل گلیکوپروتئین S، گلیکوپروتئین ماتریکس یا M، و نوکلئوکپسید داخلی N را رمزدهی می‌کند. پروتئین چهارم (E) عنوان عامل تشکیل دهنده پوشش ویروس شناخته شده است (۲۵). تفاوت‌های آنتی‌ژنی زیادی بین سویه‌های ویروس برونشیت عفونی وجود دارد و سروتیپ‌های زیادی از آن شناسایی شده‌اند (۱۲ و ۱۸). اولین مورد ابتلا جوجه‌ها به بیماری برونشیت عفونی مربوط به سال ۱۹۳۰ در آمریکا است و پس از آن از تمام نقاط جهان به کرات گزارش شد. این بیماری در همه سنین دیده می‌شود اما در جوجه‌های جوان شدیدتر بوده و تلفات زیادی به‌بار می‌آورد. سرعت انتشار عفونت بسیار بالاست و تقریبا تمام پرندگان یک گله مبتلا می‌شوند. حدت سروتیپ ویروس، سن و وضعیت ایمنی میزبان، و وجود عفونت‌های باکتریایی ثانویه بر میزان تلفات اثر می‌گذارند (۲، ۶ و ۱۸).

کنترل و پیشگیری از این دو بیماری مهم صنعت طیور شامل رعایت موارد ایمنی زیستی و واکسیناسیون به موقع و فراگیر است. در حال حاضر برای کنترل بیماری نیوکاسل چهار نوع واکسن تجاری وجود دارد واکسن زنده از پاتوتیپ غیربیماریزای روده‌ای، واکسن زنده لنتوژن مانند B1 و لاسوتا (دو واکسنی که به‌طور گسترده استفاده می‌شوند)، واکسن زنده مزوژن و واکسن کشته. سویه‌های تخفیف حدت یافته ویروس

برونشیت عفونی مانند H-120 و Ma5 نیز در جلوگیری از بیماری موثر بوده‌اند (۷، ۱۸ و ۱۹). واکسن‌هایی که برای پیشگیری از بیماری برونشیت در ماکیان جوان مورد استفاده قرار می‌گیرند هنگامی موثرند که حاوی همان سروتیپ (های) ویروسی موجود در منطقه واکسیناسیون باشند. برای کاهش هزینه‌های پرورش صنعتی طیور، واکسیناسیون همزمان با دو یا سه واکسن مانند واکسن توام نیوکاسل و برونشیت به یک عملکرد متداول تبدیل شده است (۳،۵و۲۴).

پیش از این ایمن سازی جوجه‌های Specific Pathogens Free (SPF) با واکسن دوگانه زنده لاسوتا + H-120 ساخت موسسه رازی در شرایط کنترل شده نتایج قابل قبول و مناسبی را در برداشته است. هدف این پژوهش ارزیابی بی ضرری و توانمندی این واکسن در جوجه‌های تجاری با بررسی میزان عیار سرمی پس از واکسیناسیون است.

مواد وروش کار

گروه‌های جوجه‌های مورد آزمایش

برای بررسی بی ضرری و توانمندی واکسن دوگانه زنده لاسوتا + H-120، تعداد پانصد قطعه جوجه گوشتی یک روزه نژاد Ross تهیه شدند. جوجه‌ها به سه گروه ۱۵۰ قطعه‌ای تیمار (A، B، و D) و یک گروه ۵۰ قطعه‌ای شاهد (C) تقسیم شده و هر گروه در محل جدا گانه‌ای قرار داده شدند. همه جوجه‌ها به روش بستر و در شرایط یکسان مدیریتی و تغذیه ای پرورش یافتند. جوجه‌ها در ۲۴ ساعت اول از آرد ذرت تغذیه شده سپس پیش دان (Starter) جایگزین آن گردید. در سن ۱۶-۱۴ روزگی با افزایش انرژی و کاهش پروتئین جیره، میان دان (Grower) و در سن ۴۲-۴۰ روزگی دان پایانی (Finisher) به گله داده شد.

واکسن

در این پژوهش از واکسن‌های تک گانه برونشیت عفونی سویه H-120، نیوکاسل سویه لاسوتا، واکسن دوگانه زنده نیوکاسل (سویه لاسوتا) + برونشیت عفونی (سویه H-120) ساخت موسسه رازی و مشابه تجاری آن استفاده شد. در هر دز واکسن دوگانه موسسه رازی، عیار ویروس نیوکاسل 10^6 EID_{50} (Egg Infectious Dose) و عیار ویروس برونشیت عفونی 10^3 EID_{50} (Embryo Infectious Dose) بود.

واکسیناسیون

جوجه‌های گروه Aدر ۱۸ روزگی با واکسن تک گانه نیوکاسل سویه لاسوتا و در ۲۱ روزگی با واکسن برونشیت عفونی از طریق قطره چشمی واکسینه شدند. جوجه‌های گروه B فقط در سن ۲۱ روزگی واکسن دوگانه، نیوکاسل (سویه لاسوتا) + برونشیت عفونی (سویه H-120) رازی و گروه D واکسن مشابه وارداتی (شرکتBronhopest با شماره سری ساخت 5039012) را دریافت کردند. گروه شاهد هیچ واکسنی دریافت نکرد. برای اندازه‌گیری عیار آنتی بادی اختصاصی، نمونه‌های خون دو هفته پس از واکسیناسیون، سپس با فواصل ۱۰ روز و در هر نوبت از ده قطعه جوجه از همه گروه‌ها جمع‌آوری شد. سرم نمونه‌های خون جدا شده و تا زمان آزمایش در ۲۰°C- نگه داری شد. موارد اخلاقی نگه‌داری جوجه‌ها در دوره آزمایش شامل دریافت کافی و مناسب آب و غذا، عدم ایجاد تنش به‌هنگام خون‌گیری و واکسیناسیون به‌طور کامل رعایت شد.

آزمایش‌های سرولوژی

ارزیابی میزان آنتی بادی ویروس‌های نیوکاسل و برونشیت عفونی در جوجه‌های واکسیناسیون شده به

ترتیب با آزمایش‌های ممانعت از هماگلوتیناسیون Haemagglutination Inhibition (HI) و خنثی‌سازی سرم Serum Neutralization (SN) طبق روش‌های استاندارد انجام شد (۸ و ۱۰). در آزمایش HI، رقت‌های سری بر مبنای لگاریتم ۲ (Log_2) از سرم‌ها تهیه شد. سپس ۴ واحد از آنتی ژن نیوکاسل به رقت‌های سرم افزوده شده و پس از ۳۰ دقیقه به هر گوده گلبول قرمز شسته شدهٔ ۱٪ اضافه گردید. عیار آنتی بادی بر اساس آخرین رقتی از سرم که از هماگلوتیناسیون جلوگیری نماید تعیین شد.

میزان آنتی بادی علیه ویروس برونشیت عفونی و تعیین شاخص سرمی خنثی‌سازی Neutralization Index (NI) با آزمایش خنثی سازی سرم (روش آلفا) در تخم مرغ جنین دار SPF ده روزه ارزیابی شد. برای این منظور دو سری رقت بر مبنای لگاریتم ۱۰ (Log_{10}) از ویروس بودت (سروتیپ ماساچوست) تهیه شده و از هر رقت سری اول به ۵ عدد تخم مرغ تلقیح شد. هم حجم هر یک از رقت‌های سری دوم ویروس بودت (سروتیپ ماساچوست)، سرم جوجه‌های واکسینه که قبلا به مدت ۴۵ دقیقه در دمای ۵۶°C قرار داده شده بودند، افزوده شد. مخلوط ویروس و سرم به مدت نیم ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شده سپس از هر رقت مقدار ۰/۲ میلی لیتر در حفره آلانتوئیک ۵ عدد تخم مرغ تلقیح گردید. تخم مرغ‌های تلقیح شده با ویروس خالص و مخلوط سرم+ ویروس در انکوباتور ۳۷°C قرار داده شده و ۲۴ ساعت بعد تخم مرغ‌های با جنین مرده حذف شدند. تخم مرغ‌ها تا ۷ روز کنترل شده و نتایج ثبت می شد. در پایان روز هفتم عیار ویروس در هر دو سری باروش کربر محاسبه و NI با کسر عیار مخلوط سرم+ ویروس از عیار ویروس خالص محاسبه شد.

آنالیز آماری

با روش Students test داده‌ها پردازش شدند. نتایج با انحراف معیار کم تر از ۰/۰۵ ($P< 0.05$) معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در آغاز بررسی همه جوجه‌ها از سلامت کامل برخوردار بودند و میزان تلفات طی دوره آزمایش ۱۷ قطعه (۳/۴ درصد) بود. در هیچ یک از پرندگان واکسینه، عوارض بیماری نیوکاسل و یا برونشیت (به ویژه علایم تنفسی) مشاهده نشد. کل دان مصرفی در ۵۰ روز ۲۴۰۰ کیلوگرم بود که با میانگین گله طی دوره ۴۲۶ قطعه و میانگین وزن در سن ۵۰ روزگی (۲ کیلو گرم) ضریب تبدیل به شرح زیر محاسبه شد:

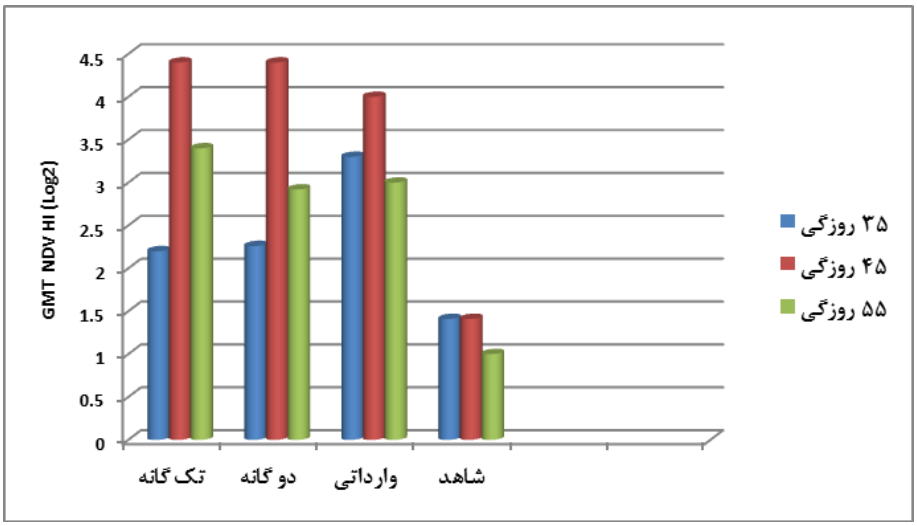
به ازاء هر قطعه ۲۴۰۰ ÷ ۴۲۶ = ۵/۶ Kg

ضریب تبدیل ۵/۶ ÷ ۲ = ۲/۸

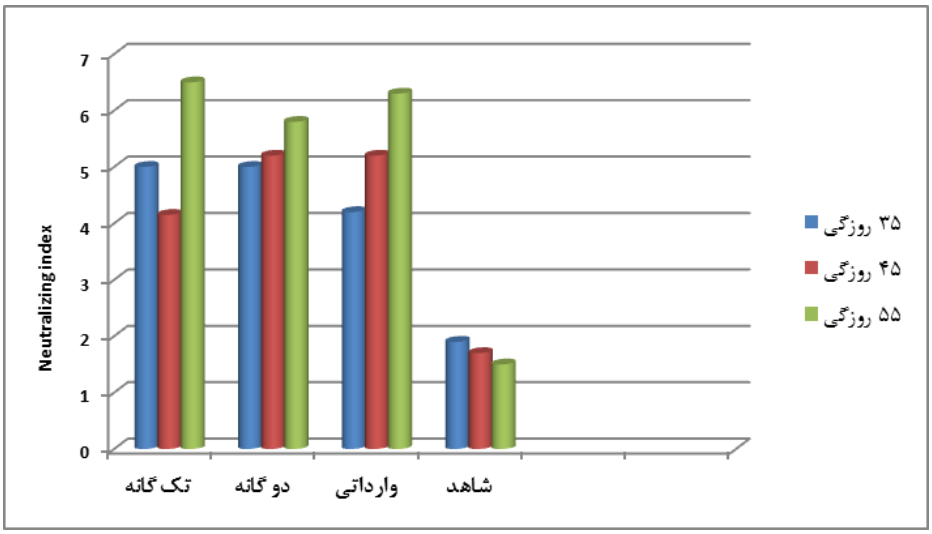
توانمندی واکسن دوگانه تهیه شده علیه ویروس نیوکاسل و برونشیت عفونی با اندازه گیری سطوح آنتی بادی ارزیابی شد. نمودارهای ۱ و ۲ سطح پاسخ ایمنی القا شده توسط واکسن دوگانه نیوکاسل و برونشیت عفونی در پرندگان واکسینه در مقایسه با واکسن‌های تک گانه آن‌ها و نیز واکسن مشابه تجاری را نشان می دهند. همان طور که در جدول ۱ آورده شده است عیار HI نیوکاسل در هردو گروه A و B در هفته دوم پس از واکسیناسیون مشابه و به ترتیب برابر ۲/۲ و ۲/۲۶ بود. ۲۴ و ۳۴ روز پس از واکسیناسیون با واکسن دو گانه یعنی در سن ۴۵ و ۵۵ روزگی، در گروه B که واکسن دوگانه را در سن ۲۱ روزگی دریافت کرده بودند عیار سرمی HI به ترتیب ۴/۴ و ۲/۹۲ بود و در گروه A که واکسن‌های تک گانه را دریافت کرده بودند عیار ۴/۴ و ۳/۴ برآورد شد. بین دو گروه در نتایج اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در گروه D که

واکسن وارداتی دو گانه را دریافت کرده بودند عیار سرمی در ۳۵، ۴۵ و ۵۵ روزگی به ترتیب ۳/۳، ۴ و ۳ بود.

در گروه A که واکسن‌های تک گانه برونشیت و نیوکاسل را دریافت کرده بودند میانگین عیار سرمی برونشیت عفونی در هفته دوم پس از واکسیناسیون برابر ۵ و مشابه با گروه B بود (جدول ۲). در گروه A در سنین ۴۵ و ۵۵ روزگی جوجه‌ها، NI به ترتیب ۴/۱۵ و ۶/۵ برآورد شد. میانگین عیار آنتی بادی علیه ویروس برونشیت در این دو نوبت در گروهی که واکسن دوگانه را دریافت کرده بودند به ترتیب ۵/۲ و ۵/۸ بود. در این مورد نیز بین دو گروه اختلاف معنی داری مشاهده نشد. در گروه D شاخص سرمی در روزهای فوق به ترتیب ۴/۲، ۵/۲ و ۶/۲ ارزیابی شد. نتایج آزمایش‌های سرمی بیانگر توانمندی واکسن دو گانه نیوکاسل (سویه لاسوتا) + برونشیت عفونی (سویه H-120) موسسه رازی در ایجاد پاسخ آنتی بادی در جوجه‌ها است.



نمودار ۱: عیار آنتی بادی HI علیه ویروس نیوکاسل در گروه‌های واکسینه شده و گروه شاهد در ۳۵، ۴۵ و ۵۵ روزگی سن جوجه



نمودار ۲: میزان شاخص سرمی (NI) علیه ویروس برونشیت در گروه‌های واکسینه شده و گروه شاهد در ۳۵، ۴۵ و ۵۵ روزگی سن جوجه

بحث و نتیجه‌گیری

پیشگیری و کنترل بیماری‌های بسیار مسری برونشیت عفونی و نیوکاسل با استفاده از واکسن و بر اساس تحریک و تقویت سیستم دفاعی انجام می شود. برای دستیابی به بازده بیشتر، توصیه می‌شود پرندگان در کمترین سن واکسینه شوند (۴ و ۲۸). سال‌هاست که موثر بودن و بی ضرری واکسن‌های نیوکاسل و برونشیت عفونی ثابت شده است. در حال حاضر برای تولید واکسن نیوکاسل از سویه‌های لنتوژن مانند B1، لاسوتا و غیر بیماری‌زا مانند I-2 استفاده می شود. سویه‌های تخفیف حدت یافته ویروس برونشیت عفونی مانند H-120 و Ma5 نیز در جلوگیری از بیماری موثر بوده‌اند (۷، ۱۸و۱۹). مصرف واکسن‌های زنده متعدد به علت در برداشتن هزینه‌های اقتصادی زیاد، پرورش دهندگان طیور را به استفاده از واکسن‌های دو ویا چندگانه ترغیب نموده است. حذف تنش ناشی از واکسیناسیون مکرر، کاهش رخداد مرگ و میر گله، صرف وقت و هزینه کمتر، و حذف عوامل زیان آور دیگر از مزایای این واکسن‌ها هستند که به روش‌های مختلف تجویز و استفاده می شوند (۱،۲،۱۳،۱۸،۱۹و ۲۷). از دهه ۱۹۵۰ توانمندی واکسن توام نیوکاسل و برونشیت عفونی در مقایسه با واکسن‌های تک گانه این دو ویروس مورد مطالعه قرار گرفته است. گزارش شده است مخلوط کردن واکسن‌های نیوکاسل و برونشیت عفونی با هم و تجویز آن، سطح ایمنی پایین تری نسبت به واکسن‌های توام که بصورت تجاری ساخته شده‌اند القا می کند. بنابراین توصیه شده واکسن‌های تک گانه با یکدیگر مخلوط و استفاده نشوند (۲۳ و ۲۶). چنانچه واکسیناسیون به طور مجزا و با هر واکسن تک گانه انجام شود احتمال اینکه هر کدام نتوانند محافظت مطلوب در زمان مناسب را اعمال نمایند وجود دارد. مخلوط نمودن دو واکسن تک گانه نیوکاسل و برونشیت بدون در نظر گرفتن عیار ویروس‌ها و تلقیح آن به جوجه، سبب بروز انترفرانس یا تعارض بین دو ویروس می‌شود (۱۴،۱۵،۲۱و۲۲). تهاجم به سلول‌های اپی تلیال دستگاه تنفسی ماکیان در بدو ورود و هم چنین تکثیر هر دو ویروس در سیتوپلاسم سلول و یا در تخم مرغ جنین دار، دلایل بالقوه تعارض بین این ویروس‌ها هستند. در نتیجه علاوه بر این که ایمنی موثری به وجود نمی آید در برابر چالش با ویروس حاد مقاومت مناسبی در پرندگان دیده نخواهد شد (۶). از طرف دیگر نشان داده شده است که تعارض دو ویروس نیوکاسل و برونشیت بستگی به عیار ویروس‌ها دارد و گاه مطلوب نبودن عیار به طور اشتباه به تعارض بین دو ویروس نسبت داده می شود (۹ و۱۱). در این مطالعه پاسخ سرمی بین دو گروه A و B مشابه بود. یکسانی عیار آنتی بادی گروه B که با واکسن دوگانه واکسینه شده بودند با گروه A نشان می دهد که هیچ گونه تعارضی بین پاسخ‌های ایمنی در برابر دو ویروس برونشیت و نیوکاسل روی نداده است. استفاده از واکسن‌های دوگانه یک انتخاب قابل دوام است زیرا تعارض ویروسی در گله‌های واکسینه شده مشاهده نمی شود.

مشکل شناخته شده در مورد واکسن‌های زنده دو گانه تاثیر متقابل اجزاء آنتی ژنی دو ویروس بوده که ممکن است سبب کاهش توانمندی یک یا همه اجزاء واکسن شود. تفاوت در نوع سویه‌های ویروس‌ها نیز ممکن است روی نتایج ایمن سازی اثر بگذارد و باید سویه‌های واکسن با توجه به حدت، دز مطلوب و قدرت ایمنی‌زایی انتخاب شوند (۶ و۲۴). بنابراین در فرآیند تولید واکسن‌های توام با بهره گیری از فرمولاسیون مناسب و دزهای معین هر ویروس، از

پدیده تعارض جلوگیری می‌شود زیرا خصوصیات هر جزء واکسن (ایمنی‌زایی و عیار ویروس) حفظ خواهد شد. نتایج این تحقیق نشان می دهد واکسن دوگانه زنده نیوکاسل (سویه لاسوتا) + برونشیت عفونی (سویه H-120) ساخت موسسه رازی توانایی تحریک سطح بالایی از ایمنی و تولید پاسخ آنتی بادی‌های خنثی‌کننده هر دو ویروس را مشابه با واکسن‌های تک گانه آن‌ها و واکسن دوگانه تجاری داراست.

تقدیر و تشکر

این تحقیق با حمایت مالی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی ایران انجام شده است. نویسندگان از کلیه کسانی که در انجام این تحقیق همکاری نموده‌اند تشکر می‌نمایند.

منابع

۱. مقدم پور، م.، مسعودی، ش.، ابراهیمی، س.ر.، جنتی ع.ا. (۱۳۸۹). مطالعه کلینیکال ترایال واکسن دو گانه زنده برونشیت (H-120) / نیوکاسل (B1) . گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی. شماره سند: ۳۷۷۱۸.

۲. مقدم پور، م.، مسعودی، ش.، اخویزادگان، م.ع.، قدسیان، ن. (۱۳۸۲). بررسی توانمندی واکسن توام B1/H-120 ساخت موسسه رازی. گزارش نهایی طرح تحقیقاتی. موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی. شماره سند : ۳۵۴۳۴.

3. Awad, F., Forrester, A., Baylis, M., Lemiere, S., Jones, R., Ganapathy, K. (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**: 127-33.

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

5. Bracewell, C.C., Dawson, P.S., Allan, W.H. (1972). Antibody responses to a live *Newcastle disease* when combined with live *infectious bronchitis* vaccine. *Veterinary Record* **90**: 248-49.

6. Cardoso, W.M., Aguiar Filho, J.L.C., Romão, J.M., Oliveira, W.F., Salles. R.P.R., Teixeira, R.S.C., Sobral, M.H.R. (2005). Effect of associated vaccines on the interference between Newcastle disease viruses and Infectious Bronchitis. *Brazilian Journal of Poultry Science* **7**: 181-4.

7. Cook, J.K., Chesher, J., Baxendale, W., Greenwood, N., Huggins, M.B., Orbell, S.J. (2001). Protection of chickens against renal damage caused by a nephropathogenic infectious bronchitis virus. *Avian Pathoogy* **30**: 423-6.

8. Dennis, J., Alexander, D.J., Dennis, A.S. (2008). *Newcastle Disease Virus and other Avian Paramyxoviruses.* In: Swoyne, D.E., Glisson, J.R., Pearson, J.E., Reed, W.M., Jackwood, M.W., Woolcock, P.R. (Ed). *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*, 5th edition, American Association of Avian Pathologists, Kennett Square, Penn: 135-41.

9. Ge, S., Zheng, D., Zhao, Y., Liu, H., Liu, W., Sun, Q., Li, J., Yu, S., Zuo, Y., Han, X., Li, L., Lv, Y., Wang, Y., Liu, X., Wang, Z. (2012). Evaluating viral interference between Influenza virus and Newcastle disease virus using real-time reverse transcription-polymerase chain reaction in chicken eggs. *Virology Journal* **9**: 128.

10. Gelb, J.J., Jackwood, M.W. (2008). *Avian infectious bronchitis* In: Swoyne, D.E., Glisson, J.R., Pearson, J.E., Reed, W.M., Jackwood, M.W., Woolcock, P.R. (Ed) *A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens*, 5th edition, American Association of Avian Pathologists, Kennett Square, Penn: 217-21.

11. Gelb, J.J., Ladman, A.B.S., Licata, M.J., Shapiro, M.H., Campion, L.R. (2007). Evaluating viral interference between infectious bronchitis virus and Newcastle disease virus vaccine strains using quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction. *Avian diseases* **51**: 924-34.

12. Jackwood, M.W., Wit, S.D. (2003). *Infectious Bronchitis* In: Swayn, D.E., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Nolan, L.K., Suarez, D.L., Nair, V. (Ed). *Diseases*

of poultry, 13th edition, John Wiley & Sons, Inc 1A: 139-59.
13. Luginbuhl, R.E., Jungherr, E.L., Chomiak, T.W. (1955). Administration of Newcastle disease and infectious bronchitis vaccines through the drinking water. *Poultry Science* 34: 1399-403.
14. Markham, F.S., Hammar, A.H., Perry, E.B., Tesar, C. (1956). Combined Newcastle disease-infectious bronchitis vaccines and the absence of interference phenomena. *Cornell Veterinar*y **46**: 338-48.
15. Markham, F.S., Hammar, A.H., Ginghcr, P., Cox, H.R., Storie, J. (1955). Vaccination against Newcastle disease and infectious bronchitis. 1. Preliminary studies in mass vaccination with live virus dust vaccines. *Poultry Science* **34**: 442-8.
16. Matthijs, M.G., Bouma, A., Velkers, F.C., Van Eck, J.H., Stegeman, J.A. (2008). Transmissibility of infectious bronchitis virus H120 vaccine strain among broilers under experimental conditions. *Avian Disease* **52**: 461-6.
17. Miller, P.J., Koch, G. (2013). *Newcastle disease* In: Swayn, D.E., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Nolan, L.K., Suarez, D.L., Nair, V. (Ed). *Diseases of poultry*, 13th edition, John Wiley & Sons, Inc 1A: 89-107.
18. Office international des epizooties. Manual of standards for diagnostic tests and vaccine. (2012). *Avian infectious bronchitis*. 7th edition. Chapter 2.3.2: 414-26.
19. Office international des epizooties Manual of standards for Diagnostic tests and Vaccine. (2012). *Newcastle disease*.7th edition. Chapter, 2.3.14: 555-73.
20. Paldurai, A., Kim, S.H., Nayak, B., Xiao, S., Shive, H., Collins, P, L., Samal, S.K. (2014). Evaluation of the contributions of individual viral genes to Newcastle disease virus virulence and pathogenesis. *Journal of Virology* **88**: 8579-96.
21. Raggi, L.G., Lee, G.G. (1964). Infectious bronchitis virus interference with growth of Newcastle disease virus. II. Interference in chickens. *Avian Diseases* **8**: 471-80.
22. Raggi, L.G., Lee, G.G. (1963). Infectious bronchitis virus interference with growth of Newcastle disease virus. I. Study of interference in chicken embryos. *Avian Disease* **7**: 106-122.
23. Thornton, D.H., Muskett, J.C. (1975). Effect of Infectious bronchitis vaccination on the performance of live Newcastle disease vaccine. *Veterinary Record* **96**: 467-8.
24. Vagnozzi, A., García, M., Riblet, S.M., Zavala, G. (2010). Protection induced by infectious laryngotracheitis virus vaccines alone and combined with Newcastle disease virus and/or infectious bronchitis virus vaccines. *Avian Disease* **54**: 1210-9.
25. Wickramasinghe, I.N., Van Beurden S.J., Weerts, E.A.W.S., Verheije , M.H. (2014). The avian coronavirus spike protein. *Virus Research* **194**: 37-48.
26. Winterfield, R.W. (1984). Vaccination of chickens with Newcastle disease and infectious bronchitis vaccines administered singly and in combination. *Poultry Science* **63**: 182-4.
27. Winterfield, R.W., Goldman, C.L., Seadale, E.H. (1957). Newcastle disease immunization studies 4. Vaccination of chickens with B1, F, and La-Sota strains of Newcastle disease virus administered through the drinking water. *Poultry Science* **36**: 1076-88.
28. Xie, Q., Ji, J., Xie, J., Chen, F., Cai, M., Sun, B., Xue, C., Ma, J., Bi, Y. (2011). Epidemiology and immunoprotection of nephropathogenic *avian infectious bronchitis virus* in southern China .*Virilogy Journal* **8:** 484-8.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 12, Issue 1, 2016

Immunity Evaluation of Razi Newcastle (LaSota) and Infectious Bronchitis (H-120) Live Bivalent Vaccine

Masoudi, Sh.[1*], Ebrahimi. M.M.[1], Shahsavandi, S.[1]

1- Assistant Professor, Department of Research and Production of Poultry Viral Vaccine, Razi Vaccine and Serum Research institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran

Received Date:15 May 2015 *Accepted Date: 6 July 2015*

Abstract: *Newcastle and infectious bronchitis are causes severe economic losses in poultry industry. Control of these two important poultry disease is based on biosecurity procedures and vaccination. The objective of this study was to evaluate potency of live combine Newcastle (La-Sota) + infectious bronchitis (H-120) vaccine in commercial broilers, in compare with their monovalent vaccine. Five hundred commercial broiler chickens were divided into four groups including three 150 bird treatment groups and one 50 bird (control) group. Chickens in group A were vaccinated with each of Newcastle La-Sota and infectious bronchitis H-120 vaccine, group B was received live combine Newcastle (La-Sota) + infectious bronchitis (H-120) Razi vaccine. Chickens in group D were vaccinated with the commercial combine vaccine. Antibody titers against Newcastle and infectious bronchitis viruses were evaluated by haemagglutination inhibition (HI) and serum neutralization (SN) assay, respectively on collected sera at defined times. Chickens in groups A and B had sufficiently specific antibody levels against both viruses. There were no significant differences between body weight and feed consumption between treatment and control groups. Razi Newcastle (LaSota) + Infectious bronchitis (H-120) live combine vaccine induces high levels of specific antibody against both viruses by one-time administration.*

Keywords: *Avian infectious bronchitis; Newcastle disease; Combine vaccine; Potency*

**Corresponding author: Masoudi, Sh.*
Address: Department of Research and Production of Poultry Viral Vaccine, Razi Vaccine and Serum Research institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.
Tel: 026-34570038-46, Fax: 026-34552194
Email: s.masoudi@rvsri.ac.ir