

مقایسه پاسخ ایمنی و شاخص بورس فابریسیوس در بلدرچین‌های ژاپنی واکسینه و غیرواکسینه پس از ایجاد عفونت تجربی با یک جدایه حاد ایرانی از ویروس بیماری نیوکاسل

امید بهروزی نسب^۱، رمضانعلی جعفری^۲، زهرا برومند*^۳، آناهیتا رضایی^۴، منصور میاحی^۲

۱- دانشجوی مقطع دکترای تخصصی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۲- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۳- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

۴- دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۲/۱۲

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۷/۰۳

چکیده

بیماری نیوکاسل یکی از مسری‌ترین و کشنده‌ترین بیماری‌های ویروسی بوده که در گونه‌های زیادی از پرندگان، از جمله بلدرچین ژاپنی به صورت طبیعی و تجربی ایجاد عفونت و تلفات می‌کند.

هدف از انجام این مطالعه، بررسی اثر عفونت تجربی با ویروس حاد بیماری نیوکاسل در بلدرچین ژاپنی واکسینه و غیرواکسینه بر عیار پادتن علیه این بیماری به وسیله آزمایش HI و همچنین وزن نسبی بورس فابریسیوس بود. تعداد ۱۶۰ قطعه بلدرچین یک روزه در قالب ۴ گروه شامل واکسینه چالش (۱)، غیرواکسینه چالش (۲)، واکسینه غیرچالش (۳)، و غیرواکسینه غیرچالش به عنوان کنترل (۴) در شرایط یکسان پرورش یافتند. واکسیناسیون با واکسن زنده نیوکاسل سویه BI (موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، ایران) به روش قطره چشمی در سن ۲۰ روزگی و چالش با ویروس نیوکاسل (NDa:KP347437) به روش قطره چشمی در سن ۳۴ روزگی انجام گردید. نمونه‌گیری خون برای بررسی سرولوژی و همچنین وزن کشتی بورس فابریسیوس پس از کالبدگشایی در مقاطع مختلف زمانی انجام و نتایج حاصله به روش واریانس یک طرفه مقایسه شد.

اولین تغییر سرمی پس از واکسن در گروه ۳ و ۲۱ روز بعد از واکسیناسیون مشاهده شد، اما اولین تغییر سرمی متعاقب چالش با ویروس، در گروه ۱ و ۲ و یک هفته بعد از چالش مشاهده شد، که این مقادیر در نمونه‌گیری‌های هفتگی بعدی در این سه گروه به طور معنی‌داری افزایش یافت. عیار پادتن در گروه ۴ تا پایان آزمایش صفر بود. نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن فقط در وزن کشتی روز پنجم در گروه ۲ به طور معنی‌داری با روزهای ۹ و ۱۴ پس از چالش همان گروه اختلاف داشت و نتایج حاصل از وزن کشتی از سایر گروه‌ها در روزهای مختلف، اختلاف معنی‌داری با هم نداشتند.

نتایج نشان داد که در صورت نبود پادتن‌های مادری، یک نوبت واکسیناسیون بلدرچین‌ها با سویه BI می‌تواند آن‌ها را در برابر ویروس حاد بیماری نیوکاسل محافظت کند. بنا بر این، با توجه به بومی شدن این بیماری در ایران، حداقل یک نوبت واکسیناسیون در دوره پرورش بلدرچین‌های گوشتی توصیه می‌گردد.

کلمات کلیدی: نیوکاسل، عیار پادتن، بلدرچین ژاپنی، بورس فابریسیوس

*نویسنده مسئول: زهرا برومند

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

پست الکترونیک: z.boroomand@scu.ac.ir

مقدمه

بیماری نیوکاسل یکی از مسری‌ترین و کشنده‌ترین بیماری‌های ویروسی است که حداقل ۲۴۱ گونه پرنده اهلی و وحشی از هر سن و جنسی را مبتلا می‌کند. این بیماری در اثر سویه‌های حاد از سروتیپ ۱ پارامیکسوویروس پرندگان در جنس Avulavirus از خانواده پارامیکسوویریده ایجاد می‌شود. در میان پرندگان اهلی، ماکیان بیش‌ترین حساسیت و اردک‌ها بیش‌ترین مقاومت را دارند (۲۳). بعد از اولین گزارش آن در ماکیان در سال ۱۹۲۶، همه‌گیری‌های متعدد در بوقلمون (۸، ۱۰)، قرقاول و کبک (۳، ۶) دیده شده‌اند. این بیماری به علت تلفات زیاد، کاهش عملکرد، حذف کشتارگاهی لاشه و هزینه‌های درمان زیان‌سنگینی به صنعت طیور کشور وارد می‌کند. در سال‌های اخیر، همه‌گیری‌های متعددی از آن در ماکیان (۲، ۲۲)، شتر مرغ (۱۱ و ۳۳) و پرندگان آگزوتیک در قفس (۲۱) دیده شده‌اند.

امروزه، بلدرچین همانند دیگر پرندگان شکاری (gaming) مثل قرقاول و کبک در کشورهای مختلف دنیا به عنوان پرنده تفریحی یا برای مصارف انسانی به طور گسترده پرورش داده می‌شود. در سال‌های اخیر، پرورش بلدرچین به صورت صنعتی، نیمه صنعتی و بومی (حتی در مجاورت گونه‌های حساس مثل ماکیان و بوقلمون‌ها) در مناطق مختلف کشور مروج یافته است (۲۶). بلدرچین‌های ژاپنی در مقایسه با ماکیان و بوقلمون‌ها حساسیت کم‌تری نسبت به بیماری‌های متداول پرندگان از جمله بیماری نیوکاسل دارند ولی مواردی از آلودگی تجربی و طبیعی آن‌ها با ویروس‌های حاد نیوکاسل گزارش گردیده است (۱، ۵، ۱۳، ۲۰، ۲۶ و ۲۷). در مطالعه‌ی Susta و همکاران (۲۰۱۸)، بلدرچین‌های ۲ هفته‌ای که با یکی از ۴ جدایه مختلف

ویروس نیوکاسل چالش شده بودند نشانه‌های عصبی مثل لرزش سر و عدم تعادل را نشان دادند. میزان تلفات از کمتر از ۱۰ درصد تا ۲۸ درصد متغیر بود. بلدرچین‌های حساس که در مجاورت آن‌ها قرار داده شدند نشانه‌هایی از بیماری نداشتند ولی تکثیر ویروس را به صورت محدود داشتند (۳۲). Abdel Azeim و همکاران (۲۰۲۰) در آلودگی تجربی جوجه ماکیان و بلدرچین‌ها با ژنوتیپ VIIId ویروس نیوکاسل جدا شده از ماکیان، نشانه‌های تنفسی و عصبی و نیز جراحات ماکروسکوپی را با شدتی بیش‌تر در ماکیان مشاهده کردند و میزان ابتلا در ماکیان (۱۰۰٪) بیش‌تر از بلدرچین‌ها (۳۳٪) بود (۱). در یک مورد، پرورش چند گونه پرنده به طور همزمان در مزرعه‌ای در شمال هند موجب انتقال ویروس بیماری‌زای نیوکاسل از ماکیان به بوقلمون‌ها و بلدرچین‌های ۲۲ هفته همراه با ۳۰ درصد ابتلا و ۲۰ درصد تلفات در بلدرچین‌ها گردید (۱۳). در یک مطالعه، بلدرچین‌هایی که به صورت تجربی با ویروس حاد نیوکاسل چالش شدند هیچ نشانه‌ای از بیماری بروز ندادند ولی در روزهای ۵ تا ۱۴ بعد از تلقیح ویروس را از طریق مدفوع دفع می‌کردند. همچنین تمامی جوجه ماکیان حساس در اثر تماس با بلدرچین‌های آلوده نشانه‌های بیماری را بروز داده و تلف گردیدند که می‌تواند نشان‌دهنده‌ی نقش این گونه‌ی مقاوم به عنوان ناقل ویروس و انتشار آن به گونه‌های حساس‌تر باشد (۲۰). در ایران، Momayez و همکاران (۲۰۰۷) اولین بار بیماری نیوکاسل را در یک گله بلدرچین چند سنی بدون سابقه واکسیناسیون گزارش کردند که موجب ابتلا ۱۰ درصد و تلفات ۵ درصد شد. پرندگان بیمار نشانه‌هایی مثل بی‌اشتهایی، ضعف، اسهال، فلجی بال و پا، لرزش سر و گردن و کاهش تولید تخم داشتند (۲۶). ردیابی پادتن مخصوص

میزان EID50 ویروس بر اساس فرمول رید و مانچ محاسبه گردید (۳۵).

ب- طرح آزمایش

تعداد ۲۰۰ قطعه جوجه بلدرچین یکروزه خریداری و تحت شرایط بهداشتی تا پایان دوره آزمایش درون قفس با دسترسی آزاد به آب و دان نگهداری شدند. خاموشی از ۵ روزگی با یک ساعت شروع گردید و با افزایش تدریجی در سن ۱۰ روزگی به ۶ ساعت در روز (دو مرحله ۳ ساعته) رسید. در سن ۲۰ روزگی، با هدف تعیین عیار پادتن مادری ممانعت کننده از هماگلوتیناسیون (HI) ۱۶ قطعه جوجه بلدرچین از طریق سیاهرگ گردنی خونگیری شدند. سپس در همان روز ۱۶۰ قطعه از بهترین جوجه‌های باقیمانده به صورت تصادفی و بر اساس فاکتوریل ۲×۲ به ۴ گروه تقسیم گردیده و در فضایی مجزا نگهداری شدند (جدول ۱). پرندگان در سن ۲۰ روزگی در گروه‌های ۱ و ۳ با یک دز واکسن زنده نیوکاسل سویه B1 (موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، ایران) به روش قطره چشمی واکسینه گردیدند ولی پرندگان در گروه‌های ۲ و ۴ حجم مساوی از PBS استریل را به همان شیوه دریافت نمودند. دو هفته بعد (۳۴ روزگی)، هر جوجه بلدرچین در تیمارهای ۱ و ۲ با ۱۰۰ میکرولیتر (۵۰ میکرولیتر در هر چشم) از مایع آلتوتوئیک دارای EID₅₀ ۱۰^۵ ویروس حاد نیوکاسل به صورت قطره چشمی چالش گردید، ولی جوجه‌ها در دو تیمار دیگر به عنوان شاهد حجم مساوی از PBS استریل را دریافت کردند. تمامی گروه‌ها به مدت ۳ هفته پس از چالش به صورت روزانه زیر نظر بودند.

ویروس نیوکاسل از طریق تعیین عیار سرمی یکی از روش‌های ساده، ارزان و در عین حال قابل قبول برای ارزیابی میزان پاسخ سیستم ایمنی به ویروس واکسن و نیز تشخیص عفونت‌های طبیعی استفاده می‌شود. در میان شیوه‌های بهداشتی گله، واکسیناسیون پرندگان وحشی موضوعی است که به ندرت مورد توجه قرار گرفته است (۱۲).

بررسی منابع نشان می‌دهد که تاکنون هیچ مطالعه‌ای در خصوص پاسخ ایمنی بلدرچین‌های ژاپنی به سویه‌های حاد موجود در کشور صورت نگرفته است. از این رو، این تحقیق قصد دارد با ایجاد عفونت تجربی در بلدرچین‌های جوان ژاپنی با ویروس حاد جدا شده از یک همه‌گیری بیماری نیوکاسل در ماکیان، ضمن بررسی نشانه‌های بالینی و بیماری‌زایی این ویروس در بلدرچین‌ها، به بررسی تغییرات ایمنی و بورس فابریسیوس آن نیز پردازد.

مواد و روش کار:

الف- ویروس

ویروس مورد استفاده در این تحقیق (NDA:KP347437) از یک همه‌گیری بیماری نیوکاسل در ماکیان گوشتی در اهواز همراه با تلفات سنگین در سال ۱۳۹۲ جدا گردید و بر اساس توالی نوکلئوتیدی ژن F در ژنوتیپ VII و تحت ژنوتیپ VIId و جزء سویه‌های حاد قرار گرفت (۷). برای تهیه‌ی ماده تلقیحی، نخست رقت‌های ده‌گانه متوالی (ضریب ۱/۱۰) از مایع آلتوتوئیک حاوی ویروس حاد نیوکاسل تهیه شد و ۰/۲ میلی لیتر از هر رقت به درون حفره آلتوتوئیک ۵ تخم مرغ جنین‌دار ۱۰-۹ روزه ماکیان تلقیح گردید. تخم مرغ‌ها مجدداً برای ۵ روز دیگر انکوبه شده و روزانه از نظر تلفات مورد بررسی قرار گرفتند. سپس

جدول ۱ - توزیع جوجه بلدرچین‌ها در گروه‌های آزمایشی مختلف

| گروه آزمایشی | تعداد جوجه | واکسینه ^۱ | چالش ^۲ |
|--------------|------------|----------------------|-------------------|
| ۱ | ۴۵ | + | + |
| ۲ | ۴۵ | - | + |
| ۳ | ۳۵ | + | - |
| ۴ | ۳۵ | - | - |

^۱ هر جوجه در ۲۰ روزگی یک دز واکسن B1 را به صورت قطره چشمی دریافت کرد.

^۲ هر جوجه در ۳۴ روزگی با EID₅₀ ۱۰^۵ و ویروس حد نیوکاسل به روش قطره چشمی چالش شد.

ج- نمونه گیری

در این مطالعه بورس فابریسیوس به عنوان اندام لنفاوی اولیه انتخاب و نمونه‌گیری شد. در روزهای ۲، ۵، ۹ و ۱۴ پس از چالش، ۳ جوجه از هر گروه انتخاب و با تزریق تیوپنتال سدیم آسان‌کشی شدند (۳۱). سپس وزن لاشه (قبل از کالبدگشایی) و پس از کالبدگشایی بورس فابریسیوس با ترازوی حساس (شرکت نانو پژوهان راگا، مدل DLS100) اندازه‌گیری و ثبت گردیدند.

به منظور بررسی تغییرات سرولوژیک، ۱۰ پرنده از هر تیمار به صورت تصادفی در زمان واکسیناسیون و نیز در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۲۱ بعد از چالش از طریق سیاهرگ گردنی خونگیری شدند. سرم‌های حاصله برای خنثی‌سازی عوامل کمپلمان به مدت ۳۰ دقیقه در بن ماری ۵۶ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و سپس از نظر پادتن ویژه ویروس نیوکاسل به وسیله آزمایش HI و با استفاده از ۴ واحد هماگلوتیناسیون (HAU) آنتی ژن تجارتهی (شرکت پسونک، ایران) مطابق با روش استاندارد Thayer and Beard (۲۰۰۸) مورد ارزیابی قرار گرفتند (۳۴). در پایان، نتایج عیار سرمی بر مبنای لگاریتم ۲ بیان شدند.

د- تجزیه و تحلیل آماری

میانگین عیار سرولوژی و نیز نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن بین گروه‌های مختلف آزمایشی در مقاطع زمانی مختلف با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۰) و آزمون ANOVA یکطرفه انجام شد و

تفاوت مقادیر در سطح کم‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

نشانه‌های بالینی شامل بی‌اشنهایی، کز کردگی، پره‌های ژولیده و نشانه‌های عصبی (چرخش گردن، عدم تعادل و فلجی پاها) در هر دو گروه واکسینه‌چالش شده و غیر واکسینه‌چالش شده مشاهده شد، اما در گروه غیر واکسینه‌چالش واگیری بیشتر (۴۰٪ در مقابل ۲۰٪) و نشانه‌ها با شدت بالاتر (فلجی کامل پا، مصرف خوراک کمتر و اسهال شدیدتر) بود. تلفات متعاقب چالش نیز فقط یک قطعه در گروه غیر واکسینه‌چالش مشاهده گردید.

نتایج حاصل از تعیین عیار پادتن‌های ممانعت‌کننده از هماگلوتیناسیون علیه ویروس بیماری نیوکاسل در سرم بلدرچین‌های گروه‌های مختلف آزمایشی در جدول ۲ خلاصه شده است. نتایج نشان می‌دهد که عیار پادتن در زمان واکسیناسیون و تا دو هفته بعد از آن، یعنی قبل از چالش، در تمام گروه‌ها صفر بود. این وضعیت در جوجه‌های گروه غیر واکسینه تا پایان آزمایش ادامه داشت. اولین تغییر سرمی ۲۱ روز بعد از واکسیناسیون در جوجه‌های گروه ۳، و یک هفته بعد از چالش در جوجه بلدرچین‌های گروه‌های ۱ و ۲ مشاهده شد که در هفته‌های بعد به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.05$).

مقایسه پاسخ ایمنی و شاخص بورس فابریسیوس در بلدرچین‌های ژاپنی واکسینه و ... (بهروزی نسب و همکاران)..... ۲۷.

جدول ۲- عیار سرمی پادتن‌های ممانعت کننده از هم‌آگلوتیناسیون (تگاریتم ۲) به دنبال واکسیناسیون^۱ و یا چالش^۲ جوجه بلدرچین‌های ژاپنی با ویروس حاد نیوکاسل

| گروه آزمایشی | قبل از | | قبل از چالش (دو هفته بعد از واکسیناسیون) | | روزهای بعد از چالش | |
|-------------------------|------------------------|-------------|--|------|--------------------|--------|
| | واکسیناسیون (۲۰ روزگی) | واکسیناسیون | ۷ | ۱۴ | ۲۱ | ۲۸ |
| ۱ (واکسینه، چالش) | .A.a | .A.a | ۳/۳B.a | ۱/۷ | ۵/۸C.a | ۶/۳C.a |
| ۲ (غیرواکسینه، چالش) | .A.a | .A.a | ۲/۱B.b | ۰/۹۶ | ۴/۱C.b | ۶/۷D.a |
| ۳ (واکسینه، غیرچالش) | .A.a | .A.a | ۱/۶B.b | ۰/۹۹ | ۲/۵C.c | ۳/۳D.b |
| ۴ (غیرواکسینه، غیرچالش) | .A.a | .A.a | .A.c | . | .A.d | .A.c |

مقادیر نشان‌دهنده میانگین و انحراف از میانگین هر گروه در زمان‌های مختلف هستند که از ۳ قطعه جوجه محاسبه شدند.

^۱هر جوجه در گروه‌های ۱ و ۳ در سن ۲۰ روزگی یک دز واکسن BI را به صورت قطره چشمی دریافت کرد.

^۲هر جوجه در گروه‌های ۱ و ۲ در سن ۳۴ روزگی با EID50^{۱۰۵} ویروس حاد نیوکاسل به روش قطره چشمی چالش شد.

^{a-d}مقادیری که در هر ستون دارای حروف لاتین غیرمتشابه هستند تفاوت معنی‌دار دارند (p<0.05).

^{A-D}مقادیری که در هر ردیف دارای حروف لاتین غیرمتشابه هستند تفاوت معنی‌دار دارند (p<0.05).

اختلافی معنی‌دار داشت (p<0.05). گروه‌های آزمایشی تا روز نهم بعد از چالش و نیز دو هفته بعد از مواجهه با ویروس حاد نیوکاسل از نظر نسبت بورس به وزن بدن تفاوت معنی‌دار با هم نداشتند (p>0.05). اما در روز ۹، بلدرچین‌های غیرواکسینه چالش شده با ویروس با کمترین مقدار از این نسبت تفاوتی معنی‌دار با دیگر گروه‌ها داشتند (p<0.05).

نتایج مربوط به نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن در گروه‌های مختلف آزمایشی در جدول ۳ آمده است. بر اساس یافته‌های ما، این نسبت در جوجه‌های هر گروه به جز گروه ۲ در سنین مختلف و در مقاطع زمانی بعد از چالش تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (p>0.05). در بلدرچین‌های گروه ۲، میزان آن در روز پنجم بعد از چالش بیش‌تر از دیگر مقاطع زمانی همان گروه بود ولی فقط با روزهای ۹ و ۱۴ پس از چالش

جدول ۳- نسبت وزن بورس فابریسیوس (میلی گرم) به وزن بدن (گرم) بعد از چالش جوجه بلدرچین‌های ژاپنی با ویروس حاد نیوکاسل

| گروه آزمایشی ^۲ | روزهای بعد از چالش ^۱ | | | |
|---------------------------|---------------------------------|-------|---------|-------|
| | ۲ | ۵ | ۹ | ۱۴ |
| ۱ (واکسینه، چالش) | ۱/۱۰A.a | ۰/۰۶۹ | ۱/۱۱A.a | ۰/۱۱۵ |
| ۲ (غیرواکسینه، چالش) | ۱/۰۶A.a | ۰/۰۵۳ | ۱/۰۴B.a | ۰/۱۱۵ |
| ۳ (واکسینه، غیرچالش) | ۱/۰۲A.a | ۰/۲۳۵ | ۱/۱۵A.a | ۰/۱۳۱ |
| ۴ (غیرواکسینه، غیرچالش) | ۰/۹۷A.a | ۰/۱۸۱ | ۱/۱۹A.a | ۰/۳۵۵ |

مقادیر نشان‌دهنده میانگین و انحراف از میانگین هر گروه در هر مقطع زمانی هستند که از ۳ قطعه جوجه محاسبه شدند.

^۱هر جوجه در گروه‌های ۱ و ۳ در سن ۲۰ روزگی یک دز واکسن BI را به صورت قطره چشمی دریافت کرد.

^۲هر جوجه در گروه‌های ۱ و ۲ در سن ۳۴ روزگی با EID50^{۱۰۵} ویروس حاد نیوکاسل به روش قطره چشمی چالش شد.

^{a-b}مقادیری که در هر ستون دارای حروف لاتین غیرمتشابه هستند تفاوت معنی‌دار دارند (p<0.05).

^{A-C}مقادیری که در هر ردیف دارای حروف لاتین غیرمتشابه هستند تفاوت معنی‌دار دارند (p<0.05).

بحث:

بیماری نیوکاسل یکی از مهم‌ترین بیماری‌های ویروسی واگیردار در پرندگان است که بسته به حدت ویروس، حساسیت میزبان و شرایط محیطی می‌تواند تا ۱۰۰ درصد از پرندگان یک گله را بیمار یا تلف نماید. در کشورهایی که سویه‌های حاد این ویروس اندمیک هستند یا عفونت با سویه‌های نسبتاً حاد زیان‌های اقتصادی قابل توجهی را ایجاد می‌کند، واکسیناسیون پرندگان صنعتی و حتی بومی در پیشگیری از همه‌گیری‌های این بیماری اهمیت ویژه‌ای دارد. محافظت در برابر این بیماری با واسطه ایمنی سلولی و مهم‌تر از آن با ایمنی هومورال حاصل می‌شود. واکسن‌های زنده نیوکاسل موجب برانگیخته شدن هر دو نوع ایمنی در پرندگان واکسینه می‌شوند. ایمنی هومورال با حضور پادتن‌های IgA، IgM و IgY شکل می‌گیرد، اگرچه پادتن‌های IgA و IgY به ترتیب نقش اصلی را در ایمنی مخاطی (موضعی) و سیستمیک بر عهده دارند. پادتن‌هایی که در بدن میزبان بر علیه پروتئین‌های F و هم‌گلوپتینین ویروس نیوکاسل تولید می‌شوند مهم‌ترین پادتن‌های خنثی‌کننده ویروس هستند که در آزمایشات سرولوژیک مورد هدف قرار می‌گیرند. پادتن‌های ضد هم‌گلوپتینین اساس آزمایش ممانعت از هم‌گلوپتیناسیون (HI) را تشکیل می‌دهند (۲۴). با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر (جدول ۲)، پادتن‌های ضد هم‌گلوپتیناسیون در تمامی گروه‌ها تا قبل از واکسیناسیون، و در گروه غیرواکسینه تا پایان آزمایش قابل شناسایی نبودند که بیانگر عدم مواجهه بلدرچین‌ها با هرگونه ویروس احتمالی در محیط است. در گروه‌های واکسینه، این پادتن‌ها ۲۱ روز بعد از دریافت واکسن B1 مشاهده شدند و با افزایشی معنی‌دار پس از دو هفته به میانگین عیار ۳/۳ رسیدند که با تحقیقات مشابه در بلدرچین مطابقت دارد (۲۵ و ۲۹). در مطالعه‌ای که

توسط Paulillo و همکاران (۲۰۰۹) صورت گرفت، بلدرچین‌هایی که برای ۲ نوبت در سنین ۱۰ و ۲۲ روزگی با Ulster 2C واکسینه شدند عیار پادتن قابل تشخیصی را در سن ۳۵ روزگی نداشتند، ولی تکرار واکسیناسیون با Ulster 2C، B1 و La Sota به ترتیب عیار ۴/۲، ۴/۶ و ۶ را در ۵۶ روزگی تولید کرد (۲۹). همچنین، Mohamed و Abdel Hafez (۲۰۱۶) بعد از واکسیناسیون جوجه بلدرچین‌ها با سویه B1 در ۷ روزگی و تکرار آن با سویه La Sota در ۱۸ روزگی، عیار ۲/۳ تا ۲/۸ را در ۳۵ روزگی (۱۷ روز پس از دومین نوبت واکسیناسیون) گزارش کردند (۲۵). برخلاف آنچه که در مطالعه حاضر و تحقیقات مشابه در بلدرچین دیده شد، به نظر می‌رسد واکسن زنده نیوکاسل در میزبانان حساس‌تر تغییرات سرولوژیک سریع‌تر و قوی‌تری ایجاد می‌کند که ممکن است به دلیل تفاوت‌های گونه‌ای و عملکرد سیستم ایمنی باشد. در ماکیان حساس که برای اولین بار ویروس زنده لتوژنیک را به صورت قطره چشمی دریافت می‌کنند، پادتن‌های سرمی ۶ تا ۱۰ روز بعد از مواجهه قابل ردیابی هستند و پس از ۲ تا ۴ هفته به بالاترین سطح یعنی به عیار ۴ تا ۶ می‌رسند (۲۳، ۳۰). Graham و همکاران (۱۹۹۶) عیار سرمی ۴ تا ۷ را در آلودگی طبیعی یوقلمون‌های مادر به ویروس کم حدت نیوکاسل گزارش کردند (۱۴). همچنین در قرقاول‌هایی که در سن ۳۰ روزگی به روش قطره چشمی با واکسن B1 تلقیح شدند، میانگین عیار سرمی HI بعد از دو هفته از ۱/۱ به ۴/۵ افزایش یافت (۱۹).

در این مطالعه، اولین پادتن‌های HI در جوجه‌های غیرواکسینه گروه ۲ یک هفته پس از چالش ردیابی شدند و تا ۱۴ روز بعد به صورت معنی‌دار افزایش یافته و به میانگین عیار ۶/۷ رسیدند ($p < 0.05$). در مقایسه با گروه واکسینه شاهد، جوجه‌های این گروه پاسخی

هفته‌های اول و دوم پس از چالش نسبت به پرندگان غیرواکسینه عیار بالاتری داشتند ($p < 0.05$). این تفاوت می‌تواند به دلیل مواجهه قبلی آن‌ها با ویروس واکسن و وجود سلول‌های ایمنی خاطره‌ای باشد که موجب پاسخی سریع‌تر در آن‌ها شد. در مطالعه حاضر میانگین عیار HI در بلدرچین‌های غیرواکسینه در پایان هفته دوم چالش ۴/۱ بود که از عیار ایجاد شده در مطالعات مشابه در بوقلمون‌ها (۸/۱) و قرقاول‌های جوان (۷/۱) کمتر است (۱۸، ۱۹). مقایسه این یافته‌ها نشان می‌دهد که سرعت و سطح پاسخ ایمنی هومورال در چالش بلدرچین با ویروس حاد نیوکاسل، همانند پاسخ‌های آن‌ها به واکسن، کمتر از میزبانان حساس‌تر می‌باشد.

بورس فابریسیوس یکی از اعضاء لنفوی اولیه در پرندگان است که در تکامل لنفوسیت‌های B و پاسخ ایمنی هومورال نقش دارد. این عضو در ماکیان در ۴ هفته‌ی اول بیش‌ترین سرعت رشد را دارد و تا ۸ هفته‌گی بارشدهی آرام به حداکثر اندازه می‌رسد. سپس به صورت فیزیولوژیک تحلیل می‌رود. در مطالعه حاضر، نسبت وزن بورس به بدن (جدول ۳) در بلدرچین‌های چالش نشده (واکسینه و غیرواکسینه) در مقاطع زمانی مختلف تغییر معنی‌داری نداشت که با توجه به رشد و تکامل سریع‌تر این گونه نسبت به ماکیان می‌تواند به دلیل تکامل این اندام در سنین پایین‌تر باشد. در جوجه‌های غیر واکسینه گروه ۲ که هیچ سابقه ایمنی در برابر ویروس این بیماری نداشتند، این نسبت در روز پنجم بعد از چالش افزایش یافت ولی در روز نهم به کمتر از ۵۰ درصد میانگین دیگر گروه‌ها رسید و مجدداً در روز ۱۴ پس از چالش وزن از دست رفته را جبران کرد. افزایش اندازه بورس بلدرچین‌ها در روزهای نخست چالش و آتروفی آن در روزهای بعد می‌تواند به ترتیب به علت التهاب و تخریب بافت لمفوئیدی باشد. این یافته با نتایج

سریع‌تر و قوی‌تر نشان دادند که می‌تواند ناشی از تلقیح با ویروس حاد باشد. به طور کلی روش تلقیح، ماهیت ویروس تلقیح شده (کشته یا زنده) و حدت ویروس از مهم‌ترین عواملی هستند که بر سرعت و سطح پادتن‌های خونی تاثیر می‌گذارند (۴، ۲۳). این نتایج با یافته‌های دیگر محققین همخوانی دارد. Oladele و همکاران (۲۰۰۸) بلدرچین‌های ژاپنی ۶ هفته را به دو روش خوراکی و تزریق عضلانی با دزهای مختلف از ویروس نیوکاسل حاد مورد چالش قرار دادند و پادتن HI را ۴ روز بعد شناسایی کردند (۲۷). Abdel Azeim و همکاران (۲۰۲۰) نیز در آلودگی تجربی بلدرچین‌ها با 10^6 EID₅₀ از ویروس حاد نیوکاسل (ژنوتیپ VIIId)، عیار سرمی ۴ و ۵/۶ را به ترتیب در روزهای ۴ و ۷ چالش گزارش نمودند (۱). در مقابل، Atikah و همکاران (۲۰۱۵) با تزریق دزهای مختلف از ویروس حاد نیوکاسل به بلدرچین‌های یک هفته‌ای، علی‌رغم مشاهده نشانه‌های بالینی، قادر به ردیابی پادتن در روزهای ۵ و ۹ بعد از چالش در آزمون الایزا نشدند (۵). این تفاوت ممکن است به دلیل حضور پادتن‌های مادری در هفته اول باشد که موجب تاخیر در پاسخ ایمنی هومورال می‌شود. در مطالعه‌ای مشابه که توسط Perozo و همکاران (۲۰۰۸) انجام گرفت، نتایج الایزای سرمی در جوجه ماکیان بدون پادتن مادری که با سویه واکسنی لاسوتا یا VG/GA به روش قطره چشمی آلوده شدند ۱۱ روز بعد از تلقیح اختلافی معنی‌دار با گروه شاهد داشت. در حالی که، در جوجه‌های تجارته‌ی یکروزه (دارای پادتن مادری) این تفاوت پس از ۲۱ روز معنی‌دار شد (۳۰).

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق، میانگین عیار HI در گروه‌های ۱ و ۲ در پایان آزمایش به ترتیب ۶/۳ و ۶/۷ بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری با هم ندارند ($p > 0.05$)، ولی جوجه بلدرچین‌های واکسینه در

میزبان باشد. به نظر می‌رسد چالش با ویروس حاد نیوکاسل در بلدرچین‌های واکسینه که خود از یک مقاومت گونه‌ای برخوردارند احتمالاً تغییر محسوسی بر اندازه این بافت لمفوئیدی نداشته باشد.

نتیجه گیری نهایی

نتایج این تحقیق بیانگر پایین بودن حساسیت بلدرچین‌ها به این سویه بود. در بررسی وزن بورس فابریسیوس نیز به غیر از گروه چالش غیرواکسینه هیچ تغییر معناداری در قبل و بعد از چالش مشاهده نشد. با توجه به نتایج به دست آمده از این تحقیق و جمعیت گسترده‌ی بلدرچین‌ها در سیستم پرورش سنتی، صنعتی و آزادی و احتمال ابتلا به بیماری نیوکاسل در آن‌ها از یک طرف و امکان مواجهه آن‌ها با گله‌های طیور تجاری و روستایی از طرف دیگر، آگاهی از میزان آلودگی فارمی با ویروس نیوکاسل در گله‌های بلدرچین در ایران، پایش مداوم آن‌ها و تعیین برنامه‌ی واکسن مناسب جهت جلوگیری از بروز اپیدمی بیماری نیوکاسل از اهمیت بالایی برخوردار است.

منابع

- 1- Abdel Azeim, A., Abdellatief, H., Elbestawy, A., Belih, S., Abdelhamid, H., Abou-Rawash, A. (2020). Susceptibility of Japanese quail and chickens to infection with Newcastle disease virus genotype VIIId. *Damanhour Journal of Veterinary Sciences*, **3**: 27-31.
- 2- Ahmadi, E., Pourbakhsh, S.A., Ahmadi, M., Mardani, K., Talebi, A. (2016). Phylogenetic characterization of virulent Newcastle disease viruses isolated during outbreaks in northwestern Iran in 2010. *Archive of Virology*, **161**: 3151-3160.
- 3- Aldous, E.W., Manvell, R.J., Cox, W.J., Ceeraz, V., Harwood, D., Shell, W., Alexander, D.J., Brown, I.H. (2007). Outbreak of Newcastle disease in pheasants (*Phasianus colchicus*) in

محققین در دیگر گونه‌های پرندگان مطابقت دارد. Hamid و همکاران (۱۹۹۱) در جوجه ماکینانی که در سن ۷ هفتگی با سویه وحشی تلقیح شدند بزرگی بورس را در روزهای اولیه‌ی چالش و کوچکی آن را در مراحل بعد گزارش کردند (۱۵). جوجه‌های لگهورن نیز که در سن ۴ هفتگی با ویروس‌های ولوژنیک از ۳ ژنوتیپ IV، VIIId و IX چالش شدند، در روز سوم بعد از چالش دارای تورم بورس و در روزهای بعد آتروفی بورس بودند (۱۶). در جوجه بوقلمون‌های حساس که با ویروس یک همه‌گیری نیوکاسل آلوده شدند، کوچک شدن ملایم تا متوسط بورس در روز یازدهم چالش دیده شد (۳۶). در مطالعه‌ی Igwe و همکاران در سال ۲۰۱۴ اندازه و وزن بورس فابریسیوس در مرغ شاخدار به هنگام چالش با ویروس ولوژنیک نیوکاسل ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت و در انتها بورس آتروفی شد (۱۷). در این تحقیق، تفاوت معنی‌داری در نسبت وزن بورس به وزن بدن بین جوجه‌های ایمن چالش شده با گروه شاهد مشاهده نشد. در مطالعه Hamid و همکاران (۱۹۹۱) نیز هیچکدام از جوجه ماکینانی که با سویه B1 نیوکاسل واکسینه شده بودند بعد از چالش با ویروس حاد تغییر ظاهری در بورس نداشتند (۱۵). در مطالعه‌ی Wang و همکاران در سال ۲۰۱۵ به هنگام چالش مرغ‌های مزارع گوشتی با ویروس نیوکاسل تغییری در وزن بورس در قبل و بعد از چالش مشاهده نکردند که نتایج آن‌ها همسو با نتایج ما می‌باشد (۳۷). در مقابل، Ezema و همکاران (۲۰۰۹) در جوجه خروس‌هایی که با سویه لاسوتا واکسینه شده و متعاقباً با تزریق عضلانی ویروس حاد مورد چالش قرار گرفتند آتروفی بورس را با شدتی کم‌تر از پرندگان غیر ایمن در روز سوم گزارش کردند (۹). این تفاوت‌ها می‌تواند به دلایلی چون روش تلقیح (قطره چشمی یا عضلانی)، حدت ویروس و گونه

- 12- Gomes, C. W. C., Funkler, G., Andretta, I., Gonçalves, M. O., Santos, H. F., & Cruz, C. E. F. (2018). Newcastle disease vaccination in captive-bred wild birds. *Tropical animal health and production*, **50**: 1349-1353.
- 13- Gowthaman, V., Sing, S.D., Barathidasan, R., Ayanur, A., Dhama, K. (2013). Natural outbreak of Newcastle disease in turkeys and Japanese quails housed along with chicken in a multi-species poultry farm in northern India. *Advances in Animal and Veterinary Sciences*, **1**: 17-20.
- 14- Graham DA, Connor TJ, McCullough SJ, McKillop ER, Alexander DJ, Manvell RJ, et al. (1996). Isolation and characterization of an avian paramyxovirus type 1 from turkeys in Northern Ireland. *Veterinary Record*, **138**: 416-417.
- 15- Hamid, H., Campbell, R.S.F., Parede, L. (1991). Studies of the pathology of velogenic Newcastle disease: virus infection in non-immune and immune birds. *Avian Pathology*, **20**: 561-575.
- 16- Hu, Z., Hu, J., Hu, S. et al. (2015). High levels of virus replication and an intense inflammatory response contribute to the severe pathology in lymphoid tissues caused by Newcastle disease virus genotype VIIId. *Archives of Virology*, **160**: 639-648.
- 17- Igwe, O. A., Ezema, S. W., Eze, C. D., & Okoye, O. A. (2014). Experimental velogenic Newcastle disease can be very severe and viscerotropic in chickens but moderate and neurotropic in guinea fowls. *International Journal of Poultry Science*, **13**: 582-590.
- 18- Jafari, R.A., Boroomand, Z., Rezaie, A., Mayahi, M., Nejati Saravi, A. (2019a). Experimental infection of turkeys with a virulent Newcastle disease virus isolated from broiler chickens. *Archives of Razi Institute*, **74**: 51-57.
- 19- Jafari, R.A., Rezaie, A., Boroomand, Z., Mayahi, M., Zare R. (2019b). Experimental infection of pheasants with south-east England in July 2005. *Veterinary Record*, **160**: 482-484.
- 4- Al-Garib SO, Gielkens ALJ, Gruys E, Hartog L, Koch G (2003). Immunoglobulin class distribution of systemic and mucosal antibody responses to Newcastle disease in chickens. *Avian Diseases*, **47**: 32-40.
- 5- Atikah, H.N., Hezmee, M.N.M., Hafandi, A., Intan-Shameha, A.R., Farhana, B.N., Lokman, H.I. (2015). Pathology induced by Newcastle disease virus AF2240 strain in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*). *Online Journal of Veterinary Research*, **19**: 497-507.
- 6- Borland E.D. (1972). Newcastle disease in pheasants, partridges and wild birds in East Anglia 1970-1971. *Veterinary Record*, **90**: 481-482.
- 7- Boroomand, Z., Jafari, R.A., 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.
- 8- Capua, I., Dalla, P.M., Multinelli, F., Marangon, S., Terregino, C. (2002). Newcastle disease outbreaks in Italy during 2000. *Veterinary Record*, **150**: 565-568.
- 9- Ezema, W.S., Okoye, J.O.A., Nwanta, J.A. (2009). LaSota vaccination may not protect against the lesions of velogenic Newcastle disease in chickens. *Tropical Animal Health and Production*, **41**: 477-484.
- 10- Gale, C., McCartney, C., Sanger, C. (1961). Newcastle disease in turkeys. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, **139**: 462-465.
- 11- Ghiamirad, M., Pourbakhsh, A., Keyvanfar, H., Momayaz, R., Charkhkar, S., Ashtari, A. (2010). Isolation and characterization of Newcastle disease virus from ostriches in Iran. *African Journal of Microbiological Research*, **4**: 2492-2497.

- from a Japanese quail flock in Iran. *Archives of Razi Institute*, **62**: 39-44.
- 27- Oladele, S.B., Enoch, I., Lawal, S., Ibu, O.J. (2008). Clinico-pathological features of Newcastle disease in Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) infected with Newcastle disease virus Kudu 113 Strain. *International Journal of Poultry Science*, **7**: 165-168.
- 28- Ozdemir, I. (1992). Current Newcastle disease situation in Turkey. Workshop on Avian Paramyxoviruses, 27-29 July, Rauschholzhausen, Germany
- 29- Paulillo, A.C., Schmidt, E.M.S., Denadai, J., Lima, F.S., Junior, L.D. (2009). Experimental vaccination against Newcastle disease in Japanese quails (*Coturnix coturnix japonica*): clinical and immunological parameters. *International Journal of Poultry Science*, **8**: 52-54.
- 30- Perozo F, Villegas P, Dolz R, Afonso CL, Purvis LB (2008). The VG/GA strain of Newcastle disease virus: mucosal immunity, protection against lethal challenge and molecular analysis. *Avian Pathology*, **37**: 237-245.
- 31- Piacenti, A.M., King, D.J., Seal, B.S., Zhang, J., Brown, C.C. (2006). Pathogenesis of Newcastle disease in commercial and specific pathogen-free turkeys experimentally infected with isolates of different virulence. *Veterinary Pathology*, **43**: 168-178.
- 32- Susta, L., Segovia, D., Olivier, T.L., Dimitro, K.M., Shittu, I., Marcano, V., Miller, P.J. (2018). Newcastle disease virus infection in quail. *Veterinary Pathology*, **55**: 682-692.
- 33- Shabani, A.A., Gholami-Ahangaran, M., & Momtaz, H. (2017). Molecular detection of *Ornithobacterium rhinotracheale* and Newcastle disease virus in ostriches of Isfahan province. *Veterinary Clinical Pathology the Quarterly Scientific Journal*, **11**: 97-105.
- a velogenic chicken isolate of Newcastle disease virus. *Iranian Journal of Veterinary Science and Technology*, **11**: 7-12.
- 20- Lima, F.S., Santin, E., Paulillo, A.C., Doretto Junior, L. (2004). Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*) as Newcastle disease virus carrier. *International Journal of Poultry Science*, **3**: 483-484.
- 21- Madadgar, O., Karimi, V., Nazaktabar, A., Kazemimanesh, M., Ghafari, M.M., AzimiDezfouli, S.M. (2013). A study of Newcastle disease virus obtained from exotic caged birds in Tehran between 2009 and 2010. *Avian Pathology*, **42**: 27-31.
- 22- Mehrabanpour, M.J., Khoobyar, S., Rahimian, A., Nazari, M.B., Keshkar, M.R. (2014). Phylogenetic characterization of the fusion genes of the Newcastle disease viruses isolated in Fars province poultry farms during 2009-2011. *Veterinary Research Forum*, **5**: 187-191.
- 23- Miller, P.J., Koch, G. (2013). Newcastle disease. In: Swayne, D.E., Glisson, J.R., McDougald, L.R., Nolan, L.K., Saurez, D.L., Nair, V., editors. Diseases of poultry. 13th ed. Blackwell publishing, Iowa: 89-107.
- 24- Miller, P.M., Koch, G. (2020). Newcastle disease. In: Swayne, D.E., Boulianne, M., Logue, C.M., McDougald, L.R., Nair, V. and Suarez, D.L. Diseases of Poultry. 14th ed., John Wiley & Sons, Inc., USA: 112-129.
- 25- Mohamed, A.M., Abdel Hafez, M.S. (2016). The susceptibility of Japanese quails to the infection with chicken originated Newcastle disease virus. *Journal of Advanced Veterinary Research*, **6**: 37-43.
- 26- Momayez, R., Gharakhani, P., Pourbakhsh, S.A., Toroghi, R., Shoushtari, A.H., Banani, M. (2007). Isolation and pathogenicity identification of avian paramyxovirus serotype 1 (Newcastle disease) virus

- 34- Thayer, S.G., Beard, C.W. (2008). Serologic procedure, In: Dufor-Zavala, L., Swayne, D.E., Glison, J.R., Pearson, J.E., Reed, M.W., Woolcock, P.R. (Eds.), A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens. 5th ed., American Association of Avian Pathologists, Athene, GA, pp: 222-229.
- 35- Villegas, P. (2008). Titration of biological suspensions. In: Dufor-Zavala L, Swayne DE, Glison JR, Pearson JE, Reed MW, Woolcock PR (Eds.), A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens. 5th ed., American Association of Avian Pathologists, Athene, GA, pp: 217-221.
- 36- Wakamatsu, N., King, D.J., Kapczynski, D.R., Seal, B.S., Brown, C.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.
- 37- Wang, X., Zhou, Q., Shen, J., Yao, J., & Yang, X. (2015). Effect of difference doses of Newcastle disease vaccine immunization on growth performance, plasma variables and immune response of broilers. *Journal of animal science and biotechnology*, **6**: 1-5.

A comparison of immune response and Fabricius bursa index in vaccinated and unvaccinated Japanese quails following experimental infection with an Iranian virulent isolate of Newcastle disease virus

**Omid Behrouzi Nasab¹, Ramezan Ali Jafari², Zahra Boroomand^{*3}, Anahita Rezaie⁴,
Mansoor Mayahi²**

1. DVSc. Candidate in Avian Health and Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2. Professor in Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3. Associate Professor in Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
4. Associate Professor in Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received: 25 September 2021

Accepted: 3 March 2022

Abstract

Newcastle disease (ND) is one of the most contagious and fatal viral diseases which infects many bird species, including the Japanese quail. This study was aimed to evaluate the effect of experimental infection with virulent Newcastle disease virus (NDV) on immune response against the virus as well as on the relative weight of bursa of Fabricius in vaccinated and unvaccinated Japanese quails. A total of 160 one-day-old quails were allocated to 4 groups, including a vaccinated and challenged group (1), an unvaccinated and challenged group (2), a vaccinated and unchallenged group (3), and an unvaccinated and unchallenged group (4). The birds were raised under the similar conditions. Vaccination was done on the 20th day with live vaccine B1 strain (Razi Vaccine and Serum Research Institute, I.R.Iran) via eye drop and the challenge by Newcastle disease virus (NDV: KP347437) was induced via eye drop on the 34th day. Blood samples were collected for serological assessments (HI) and the bursa of Fabricius was weighed after autopsy at different time periods.

The first postvaccination serological change was observed in group 3 twenty-one days after vaccination while the first post-challenge serological change was detected in groups 1 and 2 one week after the challenge induction. The same three groups also showed significant increments in the serum NDV-specific antibody titer in the subsequent weekly samplings. The antibody titer in group 4 was zero throughout the experiment. Regarding the relative weight of bursa, the only statistically noticeable change was observed within group 2 where the samples taken on the 5th day were significantly heavier than those collected on the 9th and 14th days. The results of this study showed that a single vaccination of quails with B1 strain, in the absence of maternal antibody, could provide a good protection against virulent NDV. With due attention to the Newcastle disease status in Iran, at least once vaccination is recommended during the rearing period of quails.

Keywords: Newcastle, Antibody Titer, Japanese quail, Bursa of Fabricius

*Corresponding author: Zahra Boroomand

Address: Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
E. mail: z.boroomand@scu.ac.ir