DOI: 10.22092/vj.2024.364566.2114

No 144 Automn 2024

Veterinary Research & Biological Products

Original Article

Long-Term Immunity Evaluation of Inactivated *Ornithobacterium Rhinotracheale* (ORT) Vaccine of Razi Institute in Different Dosage in SPF Chickens

• **Nouri, Abbas***

section of Research and Diagnosis of Bacterial Diseases of Poultry, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and extension Organization (AREEO), Tehran, Ministry of Agriculture Jihad.

• **Abdoshah, Mohammad**

Department of Research and Diagnosis of Poultry Diseases, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Ministry of Agriculture Jihad.

• **Beshashati saghezchi, Mohsen**

section of Research and Diagnosis of Bacterial Diseases of Poultry, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and extension Organization (AREEO), Tehran, Ministry of Agriculture Jihad.

Received: 2024-01-07 **Accepted: 2024-02-27**
Revised: 2024-02-26 **Published: 2024-10-02**

*Email: a.nouri@rvsri.ac.ir

Abstract

An infection with *Ornithobacterium Rhinotracheale* (ORT) can cause disease in birds, with the potential for significant economic impacts. Vaccination represents an effective method of preventing the disease. The objective of this study was to examine the durability of the Immune response induced by the inactive ORT vaccine in SPF chickens using an ELISA test. TwentySPF chickens, aged 10 weeks and of both sex were randomly divided into two separate groups and kept in cages under conditions of appropriate temperature and ventilation. The chickens were provided with Water and food were provided ad lib. Three days after the birds had become accustomed to their new environment, blood samples were taken from the wing web arteries to measure the level of intact antibodies present at the outset of the experiment. The ORT vaccination was administered twice, with a six-weeks intervals between each dose, via the subcutaneous route at the one-third end of the neck. The dosage range was 0.2 ml and 0.3 ml, respectively, for both groups. An indirect serotype A-specific ELISA test (Biochek, Netherlands) was utilized to monitor serum immune responses. Blood samples were collected from both groups weekly for three week, commencing from the second week following the first vaccination and continuing at three-week intervals for a total of ten weeks. Subsequently, monthly sampling was conducted until the 38th week. The statistical analysis of the obtained results demonstrated that, in addition to achieving an equivalentlevel of humoral immunity induction with each one dosage, the immune resistance in birds is expected to be extended beyond the economic lifespanof vaccinated flocks.

Key words: *Vaccine; Ornithobacterium rhinotracheale; SPF; chicken; immunity duration*

DOI: 10.22092/vj.2024.364566.2114 شماره ۱۴۴ پاییز ۱۴۰۳

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

مقاله کامل

ارزیابی بلندمدت پاسخ واکسن غیر فعال (ORT) اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال موسسه رازی در دوزهای مختلف در مرغان SPF

• **عباس نوری***

بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های باکتریایی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

• **محمد عبدالشاه**

مدیریت تحقیق و تشخیص بیماری های ویروسی، باکتریایی، انگلی و قارچی طیور و زنبور عسل و کرم ابریشم، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

• **محسن بشاشتی‌سقزچی**

بخش تحقیق و تشخیص بیماری های باکتریایی طیور، موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲-۱۰-۱۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲-۱۲-۰۸

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۲-۱۲-۰۷ تاریخ انتشار: ۱۴۰۳-۰۷-۱۱

*Email: a.nouri@rvsri.ac.ir

چکیده

عفونت به باکتری اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال(**ORT, Ornithobacterium rhinotracheale**) **در پرندگان منجر به بیماری مسری و بروز خسارات اقتصادی در مرغان تجاری می‌شود. به منظور پیشگیری از بیماری مذکور از واکسن استفاده می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی عیار و ماندگاری پاسخ ایمنی سرمی واکسن غیرفعال ORT تولید موسسه رازی در جوجه های SPF انجام گرفت. به‌طور تصادفی ۲۰ قطعه جوجه SPF با سن ۱۰ هفته از هر دو جنس به دو گروه A و B تقسیم نموده و در شرایط مناسب پرورشی در قفس با دسترسی آزاد به آب و دان نگهداری شدند. سه روز پس از سازگاری، خونگیری از همه پرنده‌ها جهت سنجش عیار اولیه آنتی‌بادی انجام شد. واکسیناسیون به روش تزریق زیرجلدی در ناحیه یک سوم انتهایی پشت‌گردن، در دو مرحله با فاصله شش هفته در حجم ۰/۲ و حجم ۰/۳ میلی‌لیتر به ترتیب در گروه‌ها انجام گرفت. در پایش ایمنی سرمی از آزمون الایزای غیرمستقیم اختصاصی سروتیپ A (کیت بیوچک- هلند) ORT استفاده شد. نمونه‌های سرم به ترتیب از هفته دوم بعد از اولین تزریق تا سه هفته متوالی و در ادامه سه مرتبه هر دو هفته یک بار، و از هفته دهم به بعد، خونگیری ماهانه تا هفته ۳۸ انجام شد. پس از تحلیل آماری نتایج خوانش تیتر سرمی بر علیه ORT مشخص گردید که علاوه بر ایجاد تیترهای بالا در دو نوبت تزریق واکسن، در هر دو حجم مورد استفاده، تداوم مطلوب ایمنی ناشی از آنتی‌بادی بر علیه این بیماری تا پایان عمر اقتصادی در گله‌ها می‌تواند باقی بماند.**

کلمات کلیدی: اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال، الایزا؛ مرغان عاری از پاتوژن‌های خاص؛ تداوم ایمنی

مقدمه

عفونت ناشي از باکتری ORT (*Ornithobacterium rhinotracheale, s*) در پرندگان یک بیماري مسري است که سبب خسارات اقتصادی، عمدتا بواسطه مشکلات تنفسي و کاهش رشد و تولید مي‌شود (۱). شدت علائم بالیني، طول مدت بیماري و مرگ و میر در پرندگان بسیار متغیر است و تحت تاثیر فاکتورهاي محیطي، نواقص مدیریتی، بهداشتي و دیگرعفونت‌های باکتریایی و ویروسی مي‌باشد. باکتری ORT، گرم منفی، میله‌ای شکل، پلی‌مورف و متعلق به فوق خانواده (superfamily) پنجم rRNA (V) در شاخه سیتوفاگا-فلاوو باکتریوم- باکتریوایدس(-Flavobacterium-Bacteroides Cythophaga-) می‌باشد(۲). اورنیتوباکتریوزیس انتشار جهانی دارد(۳-۵) و عامل بیماری از انواع گونه‌های پرندگان جداسازی شده است(۶, ۷). اولین گزارش عفونت ORT در مرغداري‌هاي ایران، مربوط به ۱۳۷۹ و از يك گله جوجه گوشتي و يك گله پولت تخمگذار با علائم تنفسي بود(۸). متعاقباً باکتري از بوقلمون و سایر نژادهاي ماکیان هم گزارش شد(۲, ۹). این بیماري در نژادهاي مختلف ماکیان ایران شامل مادر گوشتي، جوجه گوشتي، تخمگذار تجاري و مرغ بومي و در گله‌هاي با تلفات بالا گزارش است و بعضاً در مطالعاتی تعیین هویت مولکولی و ژنوتیپی جدایه‌ها انجام گرفته است(۱۰, ۱۱). در مطالعه کلیدری و همکاران در سال ۱۳۸۷ ضمن گزارش درصد شیوع بالای آلودگی در گله‌های مختلف به باکتری ORT در انجام آزمون الایزا نشان دادند که در شهر مشهد از ۲۱۱ نمونه سرمی گله‌های گوشتی ۲۰۶ نمونه (۹۷/۶۳٪) و در گله‌های مرغ مادر از ۳۴۰ نمونه، ۳۳۴ مورد (۹۸/۲۳٪) از نظر آنتی‌بادی ORT مثبت بودند (۱۲). عالی مهر در سال ۲۰۰۶ با بررسی سرمی ۵۰ گله گوشتی و ۴۲ گله مادر گوشتی در استان آذربایجان غربی (ارومیه) به ترتیب ۸۲ و ۹۲ درصد گله‌ها از نظر آنتی‌بادی ضد ORT مثبت اعلام کرد (۱۳). اسدپور و همکاران در سال ۱۳۸۶ در بررسی سرمی اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در گله‌های مرغ مادر گوشتی استان گیلان به روش الایزا، ۱۰۰ درصد گله‌های مادر (۲۲گله) غیرواکسینه نمونه‌گیری شده را دارای سابقه آلودگی به ORT گزارش کردند (۱۴).

پژوهش‌هایی در زمینه تهیه، توسعه و ارزیابی انواع واکسن‌های غیرفعال، تخفیف حدت‌یافته و زیر واحد انجام شده است که از اثر بخشی متفاوتی برخوردار بوده‌اند (۱۵-۱۸). واکسن‌های تجاری ORT تاکنون عموما از نوع غیرفعال آن عرضه می‌شود. در مطالعات متعددی مشخص گردیده استفاده از واکسن تزریقی غیرفعال در کنترل این بیماری موثر است(۶, ۱۹, ۲۰).

از سال ۱۹۹۸ واکسن‌های کشته تجاری و تجربی رایج‌ترین واکسن‌های مورد استفاده علیه O. rhinotracheale بوده‌اند(۲۱). واکسن‌های تجاری مانند Nobilis® ORT inac (اینتروت-هلند و افریقای جنوبی و نیز MSD) به دلیل بهبود عملکرد پارامترهای تولید نتاج جوجه‌های گوشتی با موفقیت در مزارع پرورش جوجه‌های گوشتی استفاده شده است،(۱۷, ۱۹, ۲۰)، واکسن‌های تجربی تک‌ظرفیتی و دو ظرفیتی در ادجوانت روغن معدنی و غیرفعال شده با تیمروسال یا فرمالین بعنوان مناسب‌ترین واکسن غیرفعال شناخته شدند. بطوریکه گزارش شده ضمن داشتن تولید سطوح آنتی‌بادی خوب و طولانی مدت، پاسخ‌های حفاظتی در برابر چالش‌های ORT را با یا بدون پرایمینگ با ویروسی را در جوجه‌های گوشتی، بوقلمون‌ها و پولت‌ها ایجاد می‌کنند(۱۸, ۲۱-۲۳).

در کشور بدنبال مطالعه بررسی حضور و عفونت گله‌های مختلف به ORT، واردات واکسن‌های کشته‌ای به کشور انجام شده و مصرف آن همچنان در مزارع طیور بویژه مادران گوشتی و تخمگذار ادامه دارد. اطلاعات و پژوهش‌های کمی در خصوص پایداری ایمنی سرمی و روند انجام واکسیناسیون در گله‌های طیور در داخل و یا خارج در دسترس می‌باشد. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی و تعیین میزان دوام ایمنی القاء شده توسط واکسن غیرفعال (کشته) روغنی تولیدی موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، برعلیه بیماری ناشی از عفونت ORT، در مرغان تخمگذار عاری از پاتوژن‌های خاص (SPF) انجام گرفت.

روش کار

مرغان تحت آزمایش

تعداد ۲۰ قطعه جوجه‌های SPF با سن ۱۰ هفتگی از هر دو جنس بصورت تصادفی، به دو گروه A و B تقسیم شد. با تامین شرایط یکسان دمایی و دسترسی آزاد به آب و دان در شرایط قفس نگهداری شدند. در طول دوره آزمایش همواره بررسی سلامت ظاهری و مصرف دان آنها تحت نظر بود.

طرح آزمایش

خونگیری اولیه

سه روز فرصت جهت رفع استرس و رسیدن به آرامش و عادت به پرندگان هم قفسی در مورد گروه‌ها اعمال شد. قبل از تلقیح اولین دز واکسن، به عنوان روز صفر مطالعه، اولین مرحله خونگیری قبل از انجام واکسیناسیون از طریق ورید بال در حجم حداکثر ۳ میلی‌لیتر از هر پرنده، انجام شد. عملیات خونگیری با آرامش و بدون ایجاد استرس و با رعایت کلیه موارد سترونی به شیوه انسانی و سر سوزن شماره ۲۲ صورت گرفت. نمونه خون‌های تهیه شده پس از تشکیل لخته خونی با استفاده از انجام سانتریفویوژ در ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۵ دقیقه مایع سرم رویی هر نمونه در ظروف تیوپ جدید ریخته شد. نشانه‌گذاری هر نمونه سرم تهیه شده با ذکر گروه مربوطه و درج تاریخ اخذ نمونه جهت انجام آزمایش الایزا به آزمایشگاه مربوطه (در بخش خصوصی) ارسال می‌شدند.

انجام واکسیناسیون

اجرای دو مرحله واکسیناسیون مطابق با روش تزریق و محل تزریق توصیه شده واکسن موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی در فاصله زمانی حداقل شش هفته در مورد گروه پرنده‌ها انجام شد. به پرندگان گروه A، دز ۰/۲ میلی‌لیتر و پرندگان گروه B دز ۰/۳ میلی‌لیتر از واکسن ORT با استفاده از سرنگ اتومات قابل تنظیم ساکورکس (ایکوبلینس، سوئیس) و سر سوزن شماره ۲۲ صورت گرفت. فاصله تزریق دز اولیه و دز یادآور برای هر دو گروه برابر با شش هفته، و تزریقات با حجم ثابت دوره اول و به شکل زیرجلدی در ناحیه یک سوم انتهایی پشت گردن انجام گرفت. جهت اطمینان از نحو درست انجام واکسیناسیون بررسی‌های بالینی محل تزریق روزانه از نظر عفونت و یا تورم، بصورت تصادفی در تعدادی از پرنده‌ها تا ۵ روز تحت بررسی بالینی قرار گرفتند.

برنامه خونگیری

زمانبندی اجرای خونگیری به منظور پایش و ردیابی روند تغییرات پاسخ‌های سرمی با تعیین عیار آنتی‌بادی از دومین هفته بعد از اولین نوبت واکسن آغاز شد و در مورد گروه A تا پایان مطالعه (سن ۴۸ هفتگی) با برنامه زیر اجرا شد:

- سه نوبت اول نمونه گیری، به صورت هفتگی
- سه نمونه بعدی، هر دو هفته یک بار
- از نوبت هفتم، خونگیری هر ۴ هفته یکبار

در مورد گروه B عملیات خونگیری مطابق برنامه فوق تا پایان هفته ۲۴ انجام گرفت. در هر نوبت خونگیری از تمام پرنده‌های هر گروه نمونه سرم تهیه می‌گردید.

آزمایش الایزا

در تمام مراحل جهت پیشگیری احتمالی از کاهش تیتر سرمی، خوانش تیتر پاسخ سرمی در همان روز یا حداکثر روز بعد انجام گرفته و نتایج مربوطه در یک فایل برنامه اکسل ثبت گردید. درانجام آزمایش الایزا از کیت تجاری بایوچک (ریوویک، هلند) که در دسترس بیشتر آزمایشگاه دامپزشکی است استفاده شد. این آزمایش از نوع الایزای غیرمستقیم بوده و در شناسایی آنتی‌بادی‌های اختصاصی علیه سروتیپ A باکتری‌های اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال بکار می‌رود. بطور خلاصه مطابق دستورالعمل شرکت، به شرح زیر این آزمون انجام شد:

برای آماده‌سازی ابتدا نمونه‌های سرم کنترل مثبت و منفی موجود در کیت الیزا و نمونه‌ها با محلول بافر (رقیق‌کننده) به نسبت ۱ به ۵۰ رقیق می‌گردید. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از محلول بافر به هر چاهک پلیت الایزا منتقل گردیده و ۵۰ میکرولیتر از سرم کنترل منفی در چاهک A۱ و ۵۰ میکرولیتر از نمونه کنترل مثبت به داخل چاهک‌های B۱ ریخته شد. در ادامه ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه سرم به چاهک‌ها اضافه می‌گردید. سپس با تکان دادن پلیت محتویات چاهک‌ها مخلوط گردیده و بمدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق (۲۱ درجه سانتی‌گراد) انکوبه می‌گردید. بعد از این مرحله با محلول شستشو چاهک‌ها شستشو گردیده و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول گونژوگه به چاهک اضافه می‌گردید. دو باره مرحله شستشو تکرار گردیده و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول اشکار ساز به هر چاهک افزوده و پلیت در دمای اتاق به مدت ۲۰ دقیقه بدور از تابش نور آنکوبه می‌گردید و در ادامه بعد از افزودن محلول متوقف‌کننده به میزان ۱۰۰ میکرولیتر به هر چاهک برای توقف واکنش، میزان جذب نور در ۶۵۰ نانومتر توسط دستگاه ریدر قرائت می‌گردید.

تعیین عیار تیتر آنتی‌بادی بر اساس معیار مشخص شده کیت و با استفاده از فرمول نسبت دانسیته نوری نمونه بر کنترل مثبت بدست آورده

$$\frac{\text{Mean of Test Sample - Mean of negative control}}{\text{Mean of Positive control - Mean of negative control}} = \text{S/P}$$

و سپس با استفاده از معادله ارائه شده در اطلاعات کیت

$$\text{Log10 Titre} = 1.75\ (\log10\ \text{S/P}) + 3.156$$

مقدار تیتر واقعی پاسخ تولید انتی‌بادی محاسبه شد. مطابق اطلاعات کیت تشخیص ORT شرکت، تفسیر نمونه‌های سرم با نسبت S/P مساوی و یا بیش از ۱ بعنوان مثبت تلقی شده و تیتر بر مبنای لگاریتم ۱۰ بالاتر از ۱۴۳۲ بعنوان موارد مثبت و کمتر از ۱۴۳۱ بعنوان نمونه منفی در نظر گرفته شد.

روش‌های آماری

نتایج خوانش آزمایش الایزای سرمی بدست آمده با تهیه میانگین‌های داده‌های مربوط به روزهای نمونه‌گیری برای هر گروه مورد مقایسه و تجزیه و تحلیل آماری قرار داده شدند. بررسی آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS۹,۴ و در قالب طرح کامل تصافی آنالیز واریانس دو طرفه و در سطح معنی‌داری P≤۰/۰۵ تحت بررسی قرار گرفتند. برای این منظور تا هفته ۱۴ بعد از اولین تزریق (سن ۲۴ هفته) که بطور هم زمان برای هر دو گروه سنجش عیار سرمی آنتی‌بادی انجام شده بود، مقایسه آماری بر مبنای میانگین، خطای استاندارد و ضریب تغییرات گروه‌ها انجام شدند. پس از آن به صورت میانگین، انحراف استاندارد و ضریب تغییرات مورد محاسبه آماری قرار گرفتند.

نتایج

آزمایش الایزا اختصاصی به‌دنبال انجام واکسیناسیون با واکسن غیرفعال ORT تولیدی موسسه رازی با دوزهای ۰/۳ و ۰/۲ میلی‌لیتر در تمام جوجه‌های تحت آزمایش، ظهور واکنش مثبت سرمی بطور مشخصی نشان داده شد.

نتیجه ارزیابی تیتر آنتی‌بادی ORT جوجه‌ها در اولین دوره خونگیری قبل از تزریق واکسن با میانگین ۱۰۹ بدست آمد که با نظر داشت تیتر بحرانی ۱۴۳۲ برای تفکیک موارد مثبت و منفی سرم، بعنوان موارد منفی ثبت شد. این نتیجه نشان‌دهنده این است که جوجه‌ها با ارگانیسم زنده ORT در دوره پرورش مواجه نشده‌اند.

نتایج تیتر آنتی‌بادی علیه ORT در جوجه‌های هر دو گروه، در جدول ۱ و نمودار ۲ نشان داده شده است. در بررسی‌های آماری انجام شده مشخص شد بین گروه‌های واکسینه شده در دوزهای ۰/۳ و ۰/۲ از نظر تیتر آنتی‌بادی ORT تفاوت معنی‌داری وجود ندارد و این روند تا هفته ۱۴ بعد از اولین واکسن (۲۴ هفتگی) همچنان حفظ شده بود. در واقع تا پایان ۲۴ هفتگی، اختلاف آماری مشاهده نشد(P≤۰/۰۵). ارزیابی تیتر آنتی‌بادی تا پایان دوره آزمایش (۴۸ هفتگی) در گروه A ادامه یافت. روند ایمنی‌زایی در ۲۸ هفتگی با تیتر ۳۴ هزار به بیشینه خود رسید و در آخرین روز آزمایش در هفته ۴۸ کمینه آن در حدود ۱۶ هزار مشاهده شد که از مقدار لازم و مطلوب ایمنی سرمی برخوردار است. در ادامه روزهای بعد سیر کاهشی عیار آنتی‌بادی در پرنده‌ها بعنوان روندی طبیعی قابل مشاهده بود.

در نمودار شماره ۱، مقایسه داده‌های بدست آمده از اندازه‌گیری عیار الایزا بدنبال تزریق دوز های متفاوت ۰/۲ و ۰/۳ نشان داده

شده است. در این نمودار، زمان تزریق واکسن مرحله اول در سن ۱۰ هفتگی و تزریق دوز دوم با فاصله شش هفته و در سن ۱۶ هفتگی مشخص شده است.
در بررسی توصیفی داده‌های تیتر سرمی مشخص گردید که بالاترین میانگین در ۲۰ تا ۲۸ هفتگی اتفاق افتاده و از ۳۲ هفتگی تیتر به آهستگی با روند کاهشی تداوم یافته ولی همچنان در حد مطلوبی قرار داشته است.

بحث

کنترل و پیشگیری بیماری اورنیتوباکتروز عمدتا برپایه استفاده از درمان‌های دارویی و استفاده از واکسن مناسب موثر علیه سویه‌های شایع محلی استوار است. با افزایش بروز مقاومت‌های دارویی علیه ORT که در مطالعات و بررسی‌های انجام گرفته در بیشتر کشورها خود را نمایان ساخته‌اند، دارو درمانی علیه این ارگانیسم اثربخشی کمتری یافته و اقبال به آن کمتر شده است. امروزه استفاده از واکسن‌های موجود در بازارهای جهانی بعنوان موثرترین روش پیشگیری از ابتلا پرندگان حساس و کاهش عوارض بیماری مطرح می‌باشد. این واکسن‌ها بشکل‌های تک‌ظرفیتی و یا چند ظرفیتی بر حسب نوع میزبان (مرغ یا توامان مرغ - بوقلمون) عرضه می‌گردد. واکسن‌های رایج علیه بیماری اورنیتوباکتریوزیس برای مصرف مرغان از سروتیپ A باکتری و واکسن مصرفی در بوقلمون علاوه بر سروتیپ A شامل سروتیپ B و D نیز می‌باشند. در سال‌های اخیر، مطالعات نسبتا گسترده‌ای برای تشخیص و شناسایی باکتری ORT در گله‌های مختلف طیور در ایران و جداسازی آن از موارد مشکوک به بیماری و نیز در عفونت‌های هم زمان با دیگر عوامل عفونی ویروسی انجام شده است(۱۳, ۱۴, ۲۴, ۲۵). نتایج این تحقیقات و مطالعات علمی و عملیات آزمایشگاهی و میدانی بر روی جدایه‌های ORT بدست آمده منجر به تولید واکسنی موثر در داخل کشور توسط محققین موسسه رازی شد(۲۴, ۲۶).
در بررسی مزیت اقتصادی ایمن‌سازی علیه ORT توسط دهرت در سال ۲۰۱۲، مشخص گردید واکسیناسیون گله‌های مرغ مادر گوشتی با واکسن غیرفعال ORT حاوی سروتیپ A باعث افزایش ۳۹ درصدی در میزان تولید و کاهش ۲۲/۳ درصدی در تلفات نتاج آنها شده است (۱۷). در کشور ما نیز در گزارشات میدانی نشان داده شده است که استفاده از باکترین ORT سبب کاهش قابل توجه‌ای در شیوع موارد اورنیتوباکتریوز

جدول ۱- نتایج پایش تأثیر تزریق زیرپوستی واکسن کشته روغنی ORT در حجم‌های ۰/۳ و ۰/۲ میلی‌لیتر در عیار تولید آنتی بادی القا شده در تست الایزا.

weeks of age	Administration dose						P Value
	۰,۲			۰,۳			
	Mean	SE	%CV	Mean	SE	%CV	
۱۰	۱۰۹	۵۰	۱۹۳	۱۰۹	۵۰	۱۹۳	۱,۰۰
۱۲	۲۲۸۳۲	۲۶۹۴	۴۲,۹۳	۲۰۲۴۱	۲۳۷۶	۲۱,۲۲	۰,۵۳
۱۳	۲۲۹۰۶	۱۷۳۸	۱۵,۹۵	۲۵۳۴۰	۱۵۵۴	۲۲,۵۲	۰,۳۱
۱۴	۲۷۲۱۶	۷۴۶	۱۰,۰۴	۲۵۱۵۳	۶۲۴	۴,۸۸	۰,۰۵۲
۱۶	۲۵۴۷۵	۱۶۳	۱,۳۵	۲۵۱۱۱	۱۶۳	۲,۳۹	۰,۱۳
۱۸	۲۸۸۴۳	۴۴۷	۴,۴۸	۲۹۳۴۲	۴۰۰	۴,۲۴	۰,۴۲
۲۰	۳۲۱۹۱	۴۳۷	۳,۹۰	۳۲۹۳۶	۴۱۴	۴,۱۲	۰,۲۳
۲۴	۳۳۱۰۸	۸۸۶	۸,۷۸	۳۳۸۸۵	۹۴۰	۶,۹۱	۰,۵۷
Time (week)	Mean	SD	%CV				
۲۸	۳۴۷۸۹	۳۵۸۸	۱۰,۳۱	-	-	-	-
۳۲	۲۵۴۳۵	۵۶۱۵	۲۲,۰۷	-	-	-	-
۳۶	۲۱۲۴۴	۴۱۶۲	۱۹,۵۹	-	-	-	-
۴۴	۱۸۹۵۸	۱۴۱۱	۷,۴۴	-	-	-	-
۴۸	۱۵۹۳۷	۴۰۴۴	۲۵,۳۸	-	-	-	-

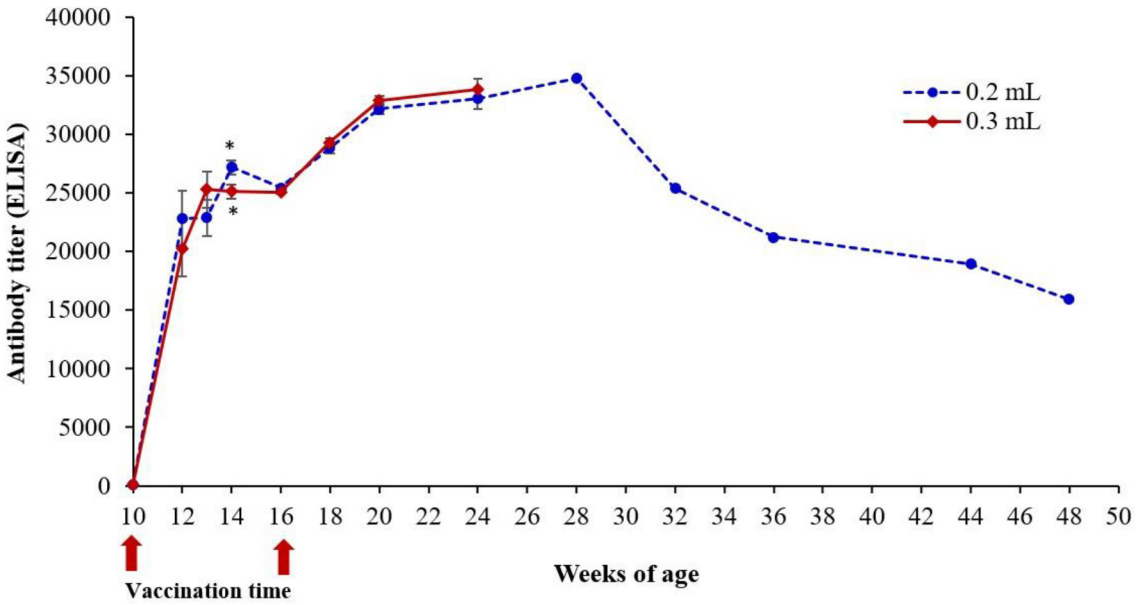
مرغان می‌شود(۱۳, ۱۴).

از میان تست‌های سرمی، آزمایش الایزا که بصورت تجاری در دسترس است، عموما به‌منظور مانیتورینگ گله‌ها و نیز تشخیص بیماری، در مطالعات اپیدمیولوژیکی و بررسی‌های سرولوژیک ORT مورد استفاده قرار می‌گیرد(۴). در این مطالعه از کیت تجاری شرکت بیوجک (Biochek) بمنظور پایش تغییرات سرمی ناشی از تزریق واکسن استفاده گردید که بعنوان آزمونی رایج در آزمایشگاه‌های تشخیص دامپزشکی کشور در دسترس است. نتایج اولین آزمون سرمی فوق قبل از تلقیح واکسن در تمام پرنده‌های تحت آزمایش با میانگین ۱۰۹ بدست آمد که در مقابسه با معیار تیتر بحرانی ۱۴۳۱ کیت، نشان داد هیچ پرنده‌ای در دوره پرورش و نگهداری تجربه مواجهه با باکتری را نداشتند و تیتر سرمی در آنها منفی بوده است.

در ویتنام با بررسی دوزهای متفاوت تزریق واکسن کشته روغنی سروتیپ A در سنین ۲۱ و ۳۵ روزگی مرغان بومی، عیار تیتر آنتی‌بادی در هفته دوم بعد از تزریق به بالاتر از ۲۵ هزار واحد رسید(۲۷)؛ در حالی‌که تیتر مزبور در مطالعه حاضردر گروه‌های A و B به ترتیب متوسط ۲۲ هزار و ۲۰ هزار واحد را نشان داد که بسیار نزدیک به مطالعه گزارش شده است. مشاهده میزان جزئی اختلاف مورد نظر می‌تواند بواسطه تفاوت‌های مربوط به نوع کیت الایزا استفاده شده در سنجش آنها (IDEXX,USA) و نیز شرکت تولید کننده واکسن (Ornitin Triple ,Phibro Animal Health, USA) و یا ناشی از نوع یاور موجود در واکسن بوده باشد. ناصر قدسیان و همکاران در مطالعه‌ای (۱۳۹۶) به مقایسه کارایی واکسن اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال تولید شده در موسسه رازی با واکسن شرکت MSD در مرغان SPF با سن ۸ هفته پرداختند و تفاوتی را از نظر میزان تیتر ایجادشده ناشی از واکسن‌ها مشاهده نکردند (۴). داده‌های مطالعه حاضر به‌رغم وجود اختلاف جزئی در تیترهای آنتی‌بادی به دست آمده با تزریق دو حجم مختلف واکسن (۰/۳ میلی‌لیتر در مقابل ۰/۲ میلی‌لیتر) در مقایسه آماری نشان داده شده که این اختلافات از نظر آماری معنی‌دار نیستند(جدول شماره ۱). بنابراین با توجه به نتایج حاصل از تزریق دوزهای ۰/۲ و ۰/۳، استفاده از این دوزها حداقل تا هفته ۱۴ تیتر بطور یکسان ایجاد نموده و اختلاف آماری بین آنها وجود ندارد. نتایجی مشابه این یافته در گزارش Ho و همکاران، روند یکسانی در تزریق ۰/۲۵ میلی‌لیتر و ۰/۵ میلی‌لیتر واکسن کشته ORT در جوجه‌هایی در سنین ۲۱ روزگی و ۳۵ روزگی دیده شد (۲۷). بنابر این در مطالعه حاضر نیز اختلاف ۰/۱ میلی‌لیتر در حجم دوز تزریقی تأثیر قابل توجه‌ای در نتایج واکسیناسیون ندارد. به نظر می‌رسد عدم تأثیرپذیری عیار پاسخ ایمنی سرمی در تغییر اندک حجم تزریق شده واکسن های ORT، می‌تواند در ارتباط با وجود حجم بالای آنتی‌ژن در واحد حجم دوزهای توصیه شده این واکسن‌ها باشد.

اما با مشخص شدن رابطه سن جوجه و میزان تیتر ایجاد شده با واکسن ORT، استفاده از این واکسن در جوجه‌های کم سن در مناطقی آلوده، امکان ظهور تیترهای پایین‌تر را در واکسناسیون باید مدنظر داشت.

پایداری و داوم تیتر آنتی‌بادی ناشی از واکسن در طول دوره پرورش و نگهداری طیور هدف، یکی از فاکتورهای مهم در تولید و طراحی



نمودار ۱- محاسبه نتایج میانگین عیار سرمی سنجش‌شده در آزمایش الیزا بدنبال تلقیح دو مرحله از حجم ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌لیترواکسن کشته تولید شده در موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی در دو گروه جوجه‌های SPF

واکسن‌ها و تدوین برنامه‌های واکسیناسیون در گله‌های صنعتی می‌باشد. در برخی مطالعات گزارش شده که ایمنی ایجاد شده در مرغان تخمگذار تا ۴۳ هفته بعد از آخرین مرحله واکسیناسیون، علاوه بر پرنده واکسینه شده، در نتاج آنها نیز مصونیت کافی تامین می‌شود (۱۹, ۲۱). بررسی نتایج تیتر سرمی در مطالعه حاضر نیز در همخوانی با این گزارش‌ها نشان داد تا هفته ۳۸ بعد از تزریق اولین دوز توصیه شده (۰/۲ ml) واکسن (میزان تیتر مناسب و موثری (با میانگین نزدیک به ۱۶ هزار واحد) در مرغان وجود دارد. در تحقیقی مشابه توسط کاورت و همکاران (۲۰۰۲) نشان داده شد تزریق واکسن ORT به میزان ۰/۲۵ میلی‌لیتر در گله‌های مرغان مادر گوشتی، می‌تواند تیتر آنتی‌بادی در گله را تا آخر دوره (۵۸ هفتگی) آنها در سطح بالای باقی بماند (۲۰).

در بررسی حاضر سن تزریق اولین واکسن ۱۰ هفتگی بر مبنای توصیه تولیدکننده واکسن در نظر گرفته شد و سپس با یک فاصله شش هفته، دوز دوم تجویز گردید. این توصیه در سایر واکسن‌های تجاری عرضه شده در بازار نیز تقریبا بطور یکسان وجود دارد. برنامه واکسیناسیون که عموما در گله‌های مادر گوشتی توصیه می‌شود شامل واکسیناسیون در سن ۸ هفتگی و به همراه یک دوز تقویتی در ۱۲ هفتگی است. برنامه واکسیناسیون علیه ORT در گزارشات بطور کلی در محدوده‌ای بین ۸ هفتگی تا ۱۸ هفتگی را در بر می‌گیرد (۲۸). واکسیناسیون در مرغان مادر می‌تواند علاوه بر کمک به انتقال آنتی‌بادی مادری به جوجه‌ها در کاهش بروز تورم کیسه‌های هوایی و پنومونی بعدی گله‌ها موثر باشد. مشخص گردیده است که ایمنی مادری در نتاج حاصل از گله‌های مادر واکسینه تا ۴ هفته در مقابل چالش‌های تجربی محافظت ایجاد نمایید(۲۱). همچنین در بررسی استفاده از یک واکسن زنده تخفیف حدت‌یافته نشان داده شد که در آلودگی تجربی، مقاومت بواسطه ایمنی مادری تا ۲۸ روز در جوجه‌های حاصل از مادران واکسن خورده بوجود می‌آید(۲۱). بعلاوه این پژوهشگران همخوانی مثبتی بین میانگین عیار آنتی‌بادی علیه اورنیتوباکتریوم رینوتراکئال در گله‌های مرغ مادر واکسینه شده و میانگین عیار آنتی‌بادی در جوجه‌های آنها مشاهده کردند.(۲۰)

در مجموع این تحقیق نشان داد میزان پاسخ سرمی در تست الایزا در پرنده‌های دریافت کننده واکسن ORT تولیدی موسسه رازی در حجم‌های تزریق ۰/۲ و ۰/۳ میلی‌لیتر طی یک دوره ۱۴ هفته (سه ماه و نیم) اختلاف آماری معنی‌داری را ایجاد نمی‌کند. همچنین ماندگاری تیتر آنتی‌بادی در گروه پرنده‌های دریافت کننده واکسن با دز توصیه شده (حجم تزریق ۰/۲ میلی‌لیتر) تا سن ۴۸ هفتگی در محدوده مطلوبی از عیار قرار دارد. در خاتمه، استفاده از واکسن ORT تولید شده در موسسه رازی را در گله‌های طیور حساس به دلیل توانمندی مطلوب تحریک ایمنی هومورال به همراه مانگاری مناسب آن در دوره نگهداری اقتصادی گله‌ها و نیز قابلیت استفاده از حجم کمتر تزریق (۰/۲ ml در مقابل ۰/۲۵ ml مشایه خارجی آن) بویژه از لحاظ عوارض محل ترزیق توصیه میگردد.

منابع مورد استفاده

1. Hafez HM, Chin RP. Ornithobacterium rhinotracheale Infection. In: David E Swayne. BM, Logue C.M., McDougald L.R., Nair V.L, Suarez D.L., editor. Diseases of Poultry. 1. 14 ed. Hoboken, NJ, John Wiley & Sons: Wiley-Blackwell; 2020. p. 881-8.

2. Chin R. P. VECP, Hafez. H. M. Ornithobacterium rhinotracheale Infection. In: Swayne DE GJ, McDougald LR, Nolan LK, Suarez DL, Nair VL, editor. Diseases of Poultry. Ames: IA: Iowa State Press; 2013. p. 828–34.

3. Barbosa EV, Cardoso CV, de Cássia Figueira Silva R, de Mello Figueiredo Cerqueira A, Liberal MHT, Castro HC. Ornithobacterium rhinotracheale: An update review about an emerging poultry pathogen. Veterinary sciences. 2020;7(1).

4. Xue J, Lv C, He P, Xu M, Zhang G. Research Note: Serological investigation of Ornithobacterium rhinotracheale infection in China. Poult Sci. 2020;99(10):4814-7.

5. El-Ghany WAA. An updated comprehensive review on ornithobacteriosis: A worldwide emerging avian respiratory disease. Open veterinary journal. 2021;11(4):555-68.

6. Amonsin A, Wellehan JF, Li LL, Vandamme P, Lindeman C, Edman M, et al. Molecular epidemiology of Ornithobacterium rhinotracheale. J Clin Microbiol. 1997;35(11):2894-8.

7. van Empel PC, Hafez HM. Ornithobacterium rhinotracheale: A review. Avian Pathology. 1999;28(3):217-27.

8. Banani M, khaki, P., godarzi, H., vandyousefi, J., pourbakhsh, S, A. Isolation and identification of Ornithobacterium rhinotracheale from a broiler and a pullet flock, (In persian). Pajouhesh and sazandeghi 2000;46: 106-9.

9. Asadi N, Bozorgmehri-Fard MH, Seifi S, Khoshbakht R, Sheikhi N. Isolation, characterization, and genotyping of Ornithobacterium rhinotracheale isolated from broiler and broiler breeder flocks in Mazandaran province, Northern Iran. Iran Journal of Veterinary Research. 2022;23(1):32-8.

10. Bashashati M, Shojaei M, Sabouri F. Pathogenic bacteria associated with outbreaks of respiratory disease in Iranian broiler farms. Veterinary Medicine Science. 2023;9(4):1675-84.

11. Mohammad Karim M. Molecular characterization of Ornithobacterium rhinotracheale strains isolated from chickens in the Northwestern Iran. Vet Ital. 2022; Dec 30;58(2).

12. Kaleidari G, basami M, kavosi H, kordi F, editors. Serological survey of Ornithobacterioum rhinotracheale from broiler and broiler breeder farms in Mashad. The proceeding of fourth national poultry health and diseases; 2008; Shahrekord, Iran.

13. Allymehr M. Seroprevalence of Ornithobacterium rhinotracheale infection in broiler and broiler breeder chickens in West Azerbaijan Province, Iran. Journal of veterinary medicine A, Physiology, pathology, clinical medicine. 2006;53(1):40-2.

14. Asadpour Y, Bozorgmehrifard MH, Pourbakhsh SA, Banani M, Charkhkar S. Isolation and identification of Ornithobacterium

rhinotracheale in broiler breeder flocks of Guilan province, north of Iran. Pakeştan Journal of Biological Sciences. 2008;11(11):1487-91.
15. Schuijffel DF, Van Empel PC, Segers RP, Van Putten JP, Nuijten PJ. Vaccine potential of recombinant Ornithobacterium rhinotracheale antigens. Vaccine. 2006;24(11):1858-67.
16. Lopes VC, Back A, Shin HJ, Halvorson DA, Nagaraja KV. Development, characterization, and preliminary evaluation of a temperature-sensitive mutant of Ornithobacterium rhinotracheale for potential use as a live vaccine in turkeys. Avian Dis. 2002;46(1):162-8.
17. De Herdt P, Broeckx M, Vankeirsbilck W, Van Den Abeele G, Van Gorp S. Improved broiler performance associated with Ornithobacterium rhinotracheale vaccination in breeders. Avian Dis. 2012;56(2):365-8.
18. Murthy TR, Dorairajan N, Balasubramaniam GA, Dinakaran AM, Kalaimathi R. The effect of vaccination of pullets against Ornithobacterium rhinotracheale infection. Avian pathology : journal of the WVPA. 2007;36(6):481-5.
19. Bisschop SP, van Vuuren M, Gummow B. The use of a bacterin vaccine in broiler breeders for the control of Ornithobacterium rhinotracheale in commercial broilers. Journal of South African Veterinary Association. 2004;75(3):125-8.
20. Cauwerts K, De Herdt P, Haesebrouck F, Vervloesem J, Ducatelle R. The effect of Ornithobacterium rhinotracheale vaccination of broiler breeder chickens on the performance of their progeny. Avian Pathology. 2002;31(6):619-24.
21. van Empel P, van den Bosch H. Vaccination of chickens against Ornithobacterium rhinotracheale infection. Avian Dis. 1998;42(3):572-8.
22. Erganiş O, Hadimli HH, Kav K, Sayin Z, Aras Z. Production and development of vaccines for Ornithobacterium rhinotracheale infection in turkeys. . Eurasian J Vet Sci. 2010;26:101-7.
23. Sprenger SJ, Halvorson DA, Shaw DP, Nagaraja KV. Ornithobacterium rhinotracheale infection in turkeys: immunoprophylaxis studies. Avian diseases. 2000;44(3):549-55.
24. Banani M. Infection of Ornithobacterium rhinotracheale (ORT) and its signs, importance and pathogenicity in the poultry industry of Iran: a review article. Veterinary Research & Biological Products (Pajouhesh & Sazandegi) 2016(113):2-16.
25. Ghanbarpour R, Salehi M. Sero-prevalence and identification of Ornithobacterium rhinotracheale in broiler flocks in south-eastern Iran. Tropical animal health and production. 2009;41(8):1679-83.
26. Ghasemipour N, Goudarzi H, Banani M, Asasi K. Comparison of the first Iranian native Ornithobacterium rhinotracheale vaccine with conventional vaccine: A challenge study. Veterinary world. 2019;13(4):655-60.
27. Hồ N, Ha B, Le T, Thu L, Le H, Anh Q. Determination of the Administration Routes, Doses and Appropriate Age to Vaccinate With Ornitin Triple Vaccine For Cross-breed Colored Broilers in Vietnam. Journal of Advances in International Veterinary. 2019;1(2):1-9.
28. CD. GC, GB. V, MA. M, VF. N, WD. N, al. e. Vaccines against Ornithobacterium rhinotracheale: A Review. J Vet Sci Med Diagn. 2013;2(4):1-4.