DOI: 10.22092/VJ.2020.351897.1772
شماره ۱۳۳ زمستان ۱۴۰۰
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک

بررسی بر همکنش بین ویروس آنفلوانزای پرندگان تحت تیپ H9N2 و واکسن لاسوتا نیوکاسل در تفسیر پاسخ آزمون های سرولوژی

• **حسین حسینی**
گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران
• **حسن پورعباس**
شرکت سپیدماکیان، رشت ، ایران
• **زهرا ضیافتی کافی، ناصر صدری و امیر مدیری همدان**
گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی ،دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ، تهران ، ایران
• **لیلا آقائیان، فرزاد جعفری و علی هژبر راجعونی**
گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی ،دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ، تهران ، ایران
• **آرش قلیان چی لنگرودی(نویسنده مسئول)**
گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی ،دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران ، تهران ، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹-۰۶-۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹-۰۹-۱۷
Email:ghalyana@ut.ac.ir

چکیده

گله‌های صنعتی طیور در طول مدت زمان پرورش در معرض عوامل عفونی مختلف ویروسی، باکتریایی، مایکوپلاسمایی و قارچی قرار می‌گیرند. واکسیناسیون و درگیری‌های فیلدی از مصادیق این مورد می‌باشد. برای بررسی پاسخ واکسن و تشخیص آزمایشگاهی از جداسازی، ابزارهای سرمی و تشخیص مولکولی استفاده می‌کنند. در این میان تفسیر پاسخ سرمی یکی از چالش‌های تشخیصی در بین آزمایشگاه و کلینیسین‌ها می‌باشد. هدف این مطالعه بررسی تاثیر آلودگی ناشی از ویروس آنفلوانزای پرندگان بر روی نتایج واکسن‌های نیوکاسل در گله‌های طیور بود. برای این کار اثر عفونت بیماری تنفسی آنفلوانزا (H9N2) بر روی پاسخ سرمی برعلیه واکسن زنده نیوکاسل تحت بررسی و نتایج حاصل از آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج نشان داد حضور ویروس آنفلوانزای پرندگان سبب افزایش پاسخ سرمی به واکسن نیوکاسل گردیده است و پراکندگی تیتر را افزایش داد بطوری‌که در بررسی تیترها، برخی از تیترها در ظاهر نشان‌دهنده بیماری بود. می‌توان این‌گونه تحلیل نمود که ویروس آنفلوانزا احتمالا سبب ایجاد التهاب نای گردیده تا نفوذ ویروس واکسن در نای افزایش یابد و پاسخ ایمنی قوی‌تری ایجاد کند. در واقع این مطالعه اثر هم‌افزایی ویروس آنفلوانزای H9N2 و ویروس واکسن لاسوتا را نشان می‌دهد. در گله‌های طیور و بویژه گوشتی با توجه به تعدد واکسن‌های استفاده شده و حجم بالای چالش برای بررسی سرمی پیشنهاد می‌شود از پروفایل کامل سرمی برای تیتر همه عوامل تنفسی رایج صورت پذیرد.

کلمات کلیدی: بیماری‌های تنفسی، تشخیص، سرولوژی، واکسن نیوکاسل، H9N2

Veterinary Researches & Biological Products No 133 pp: 202-207

Survey Interaction Between Avian Influenza Subtype H9N2 and NDV Lasota Vaccine in The Analysis of Serological Test Results

By: Hosseini, H., Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran. Pour Abbas, H., Sepid Makian, Rasht, Iran. Ziafati Kafi, Z., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Sadri, N., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Modiri Hamedan, A., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Aghaeean, L., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Jafari, F., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. Hojabr Rajeoni, A., Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran. and Ghalyanchi Langeroudi, A., (Corresponding Author) Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran.

Received: 2020-09-17 **Accepted:2020-12-07**

Email:ghalyana@ut.ac.ir

During the breeding season, commercial poultry flocks are exposed to various viral, bacterial, mycoplasma, and fungal infectious agents. Vaccination and field challenges are examples of this infectious. Isolation, serological test, and molecular diagnosis were used to evaluate the vaccine response and laboratory diagnosis. Analysis of the serum response is one of the diagnostic challenges between laboratories and clinicians. The aim of this study was to investigate the effect of avian influenza virus infection on the results of Newcastle vaccines in poultry flocks. To do this, the effect of influenza (H9N2) respiratory infection on serum response to live Newcastle disease vaccine was investigated and the results of hemagglutination inhibition test were analyzed. The results showed that the presence of avian influenza virus increased the serum response to the Newcastle disease vaccine and increased the titer's dispersion so that in the study of the titers, some of the titers appeared to indicate disease. It can be analyzed that the influenza virus may have caused inflammation of the trachea to increase the penetration of the vaccine virus into the trachea and create a stronger immune response. In fact, this study demonstrates the synergistic effect of the H9N2 influenza virus and the Lasota vaccine virus. In poultry farms and especially broiler farms, due to the multiplicity of vaccines used and the high volume of challenge, for serological testing, it is recommended that a complete serum profile be used to survey titers all common respiratory factors.

Keyword: Respiratory diseases, Diagnosis, Serology, Newcastle vaccine, H9N2

مقدمه

گله‌های صنعتی طیور در طول مدت زمان پرورش در معرض عوامل بیماری‌زا مختلف با حدت‌های متفاوت قرار می‌گیرند. این عوامل شامل عوامل متعددی منجمله عوامل ویروسی می‌باشد (۲). برای عوامل مهم عفونی واکسن‌های زنده و یا کشته متفاوت در سنین مختلف بر حسب حضور، شیوع و شدت استفاده می‌شود که ساختار برنامه واکسیناسیون را تشکیل می‌دهند(۱۰). عوامل بیماری‌زا، واکسن‌های زنده و کشته منجر به القاء پاسخ ایمنی در بدن پرنده می‌شوند. ایمنی هومورال ناشی از این پاسخ به سادگی توسط روش‌های سرولوژی قابل ردیابی می‌باشد. در این میان می‌توان از آزمون‌های نظیر ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)، و الایزا (ELISA) استفاده کرد. از سرولوژی در پایش گله جهت اطمینان از عاری بودن از پاتوژن‌ها، ارزیابی عملکرد واکسیناسیون، اندازه‌گیری مقادیر آنتی‌بادی مادری و تخمین زمان واکسیناسیون، ارزیابی محافظت در برابر بیماری و همچنین تشخیص چالش با سویه مزرعه استفاده می‌شود.

علی‌رغم سادگی، ارزانی و در دسترس بودن آزمون‌های سرولوژی تفسیر نتایج آن نیازمند دانش و تجربه بالایی می‌باشد. بر این اساس بسته به نوع و نژاد گله، سن گله، برنامه واکسیناسیون و سابقه بیماری عیار آنتی‌بادی پرنده متفاوت می‌باشد و لازم است در هر منطقه و مزرعه تیتر پایه (Baseline) تعیین شود. همچنین علاوه بر عیار آنتی‌بادی میزان پراکندگی

تیتر در سطح هر گله از اهمیت خاصی برخوردار است (۷, ۱۰) .
آزمون‌های سرولوژی بطور گسترده‌ای در ایران برای موارد فوق‌الذکر بکار گرفته می‌شود اما در میان آزمون‌ها و بیماری‌ها، آزمون HI برای بیماری نیوکاسل یکی از پرکاربردترین می‌باشد. بیماری نیوکاسل یک بیماری مهم اقتصادی، رایج و اندمیک در کشور می‌باشد که از واکسن‌های زنده و غیرفعال در گله‌های مختلف طیور بصورت وسیع جهت کنترل آن استفاده می‌شود. آزمون HI برای بررسی پاسخ واکسن و ارزیابی سطح ایمنی گله و همچنین تشخیص بیماری مورد استفاده قرار می‌گیرد (۴, ۶, ۱۱, ۱۳). در تفسیر این آزمون معیارهای مختلفی وجود دارد اما افزایش عیار آنتی‌بادی به سطح بالاتر از انتظار و یا افزایش پراکندگی حتی در غیاب نشانه‌های بالینی مرتبط با بیماری نیوکاسل یکی از شاخص‌های گردش ویروس مزرعه در گله قلمداد می‌شود و بعنوان یکی از چالش‌های تشخیص در کشور محسوب می‌شود.
مشاهدات بالینی و برخی گزارشات به اثر ضایعات و التهاب نای روی پاسخ سرمی سویه‌های واکسینال موجود در نای اشاره می‌کنند. این ضایعات احتمالا امکان تماس، نفوذ و تکثیر بیشتر سویه‌های واکسن در نای را فراهم می‌آورد. این پدیده احتمالا سبب افزایش پاسخ سرمی بیش از حد انتظار به یک واکسن می‌گردد و ممکن است شبیه پاسخ سرمی در یک بیماری فعال گردد (۱۴). عواملی مختلفی شامل عوامل عفونی و غیرعفونی در ایجاد التهاب نای می‌تواند نقش داشته باشد اما براساس مشاهدات فارمی، ویروس آنفلوانزا یکی از عوامل ایجاد التهاب نای می‌باشد (۵, ۸).
با توجه به شیوع بیماری کمپلکس تنفسی در کشور بویژه در گله‌های گوشتی و ابهام در تفسیر نتایج سرولوژی HI نیوکاسل بررسی مولفه‌های موثر در افزایش عیار آنتی‌بادی نیوکاسل یا تغییرات پراکندگی را ضروری نموده است. در این مطالعه تجربی تاثیر استفاده از ویروس آنفلوانزای پرندگان (H9N2) بر روی پاسخ سرولوژی حاصل از سویه واکسن نیوکاسل (لاسوتا) بررسی گردید.

مواد و روش‌ها

طراحی مطالعه

جوجه‌گوشتی

تعداد ۱۰۰ جوجه‌گوشتی تجاری از هیبرید راس ۳۰۸ در سن ۲۱ رزوگی به پنج گروه ۲۰ قطعه‌ایی و بصورت کاملا تصادفی تقسیم شدند و در اتاق‌های جداگانه در دمای استاندارد قرار داده شدند. دان مورد نیاز بر اساس نیاز تغذیه‌ای این سویه تجاری تا پایان آزمایش برای همه گروه‌ها یکسان بود. برنامه زیر برای گروه‌های مختلف اجرا گردید.

ویروس

ویروس آنفلوانزای پرندگان (H9N2): دز ویروس آنفلوانزای پرندگان 10^5 EID_{50} برای چالش پرندگان و ویروس واکسن سویه لاسوتا (شرکت سوا) جهت واکسیناسیون استفاده شدند.

روش واکسیناسیون نیوکاسل و چالش

از روش قطره چشمی-بینی برای تجویز واکسن نیوکاسل و چالش با ویروس آنفلوانزای پرندگان استفاده گردید.

گروه‌های مطالعه

گروه اول: دریافت آنفلوانزای پرندگان H^9N^2 در روز صفر آزمایش (۲۱ روزگی) و واکسن نیوکاسل (لاسوتا) سه روز بعد (۲۴ روزگی).
گروه دوم: دریافت آنفلوانزای پرندگان H^9N^2 و واکسن نیوکاسل بطور همزمان در روز سه آزمایش (۲۴ روزگی)
گروه سوم: دریافت واکسن نیوکاسل در روز سوم آزمایش (۲۴ روزگی) و آنفلوانزای پرندگان H9N2 در روز ۲۷ روزگی (روز ۶ آزمایش)
گروه چهارم: دریافت واکسن نیوکاسل در روز سوم آزمایش (۲۴ روزگی)
گروه پنجم: گروه کنترل که هیچ گونه ویروس یا واکسنی دریافت نکرد.

خون‌گیری

قبل از شروع آزمایش از ۲۰ قطعه جوجه خون‌گیری شد تا عیار آنتی‌بادی نیوکاسل و آنفلوانزای در شروع کار مشخص شود. مرحله دوم خون‌گیری ۱۴ روز بعد از تجویز واکسن لاسوتا (۳۸ روزگی) انجام شد. پس از خون‌گیری، سرم‌ها جداسازی شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید.

آزمون ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI)

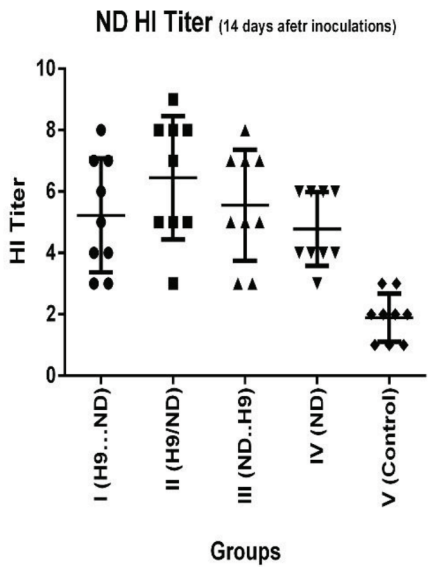
بر روی نمونه‌های سرمی در یک روز آزمون HI با توجه به دستورالعمل استاندارد سازمان دامپزشکی کل کشور و با استفاده از آنتی‌ژن‌های اختصاصی آنفلوانزای پرندگان H9N2 (آنتی‌ژن شرکت پسوک) و نیوکاسل (واکسن لاسوتا) انجام شد.

تجزیه و تحلیل آماری

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار Office Excel و Graphpad ۶ با استفاده از آزمون‌های توصیفی و آزمون (سطح معنی‌داری ۰/۰۵> P) ANOVA مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

اندازه‌گیری عیار آنتی‌بادی به روش HI نشان داد که تیتر آنفلوانزای پرندگان و نیوکاسل قبل از شروع آزمایش به ترتیب ۱/۰۲ ± ۲/۶ و ۰/۶۹ ± ۱/۸ می‌باشد. گروه‌های یک تا چهار که در روز ۲۴ واکسن نیوکاسل دریافت کرده بودند در روز ۳۸ افزایش عیار آنتی‌بادی نیوکاسل را نشان دادند که در گروه‌های یک تا پنج، تیتر آنتی‌بادی و پراکندگی به ترتیب ۱/۷۵ ±۵/۲۲، ۱/۸۹ ± ۶/۶۴، ۱/۷۱ ± ۵/۵۶، ۱/۱۳ ± ۴/۷۸ و ۰/۷۴ ± ۱/۸۹ بود که نشان می‌دهد، میزان افزایش عیار آنتی‌بادی در گروه دو که بطور همزمان واکسن نیوکاسل و ویروس آنفلوانزای H^9N^2 را دریافت کرده بودند بطور معنی‌داری از سایر گروه‌ها بیشتر می‌باشد. نتایج نشان می‌دهد که حضور ویروس آنفلوانزا قبل، همزمان و بعد از سویه لاسوتا (به ترتیب گروه‌های یک، دو و سه) منجر به پراکندگی بیشتر در نتایج عیار HI نیوکاسل در مقایسه با گروه چهار (که ویروس آنفلوانزای H^9N^2 دریافت نکرده است) شده است. تیتر انفرادی بالا در این سه گروه دریافت کننده ویروس آنفلونزای H9N2 عامل افزایش پراکندگی در این



شکل ۱ - تیتر HI نیوکاسل در گروههای مختلف ۱۴ روز بعد از آخرین تلقیح.

گروه می‌باشد (شکل۱ و جدول ۱). همچنین مقادیر تیترهای آنفلوانزا و پراکندگی آن در گروه‌های یک تا پنج به ترتیب ۰/۸۷ ±۶/۸۹ ، ۰/۷۹ ± ۸/۲۲ ، ۰/۹۴ ± ۷/۶۷ ، ۰/۴۷ ± ۲/۲۳ و ۰/۵۷± ۲/۱۱ بود که نشان می‌دهد، در گروه‌هایی که ویروس H9N2 را دریافت کرده بودند افزایش یافته بود و تیتر آنفلوانزا بین این سه گروه تفاوت معنی‌داری نداشت. تیترهای آنفلوانزا در گروه پنجم (گروه کنترل) و گروه چهارم که نیوکاسل دریافت کرده بطور معنی داری پایین تر از سه گروه اول بودند. (جدول ۱ و شکل۲).

بحث

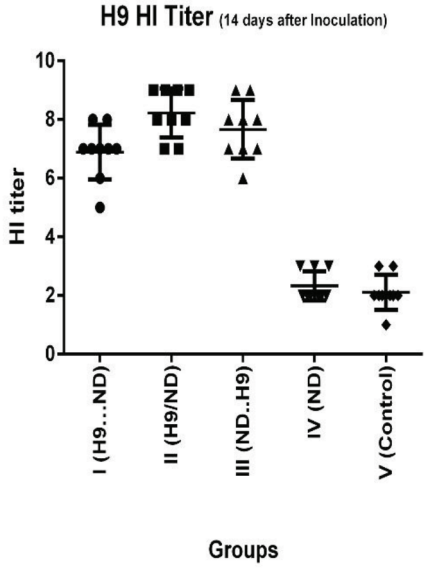
ویروس‌های لارنگوتراکئیت عفونی، برونشیت عفونی، آنفلوانزای پرندگان و باکتری از مواردی هستند که باعث ایجاد ضایعه و التهاب نای می‌گردند. تراکئیت سبب می‌شود که عوامل عفونی از جمله مایکوپلاسما و سایر ویروس‌ها نفوذ بیشتر و عمقی‌تری در نای نماید و سیستم ایمنی هومورال را تحریک بیشتری کند. لازم به ذکر است این اثر در نتیجه عوامل غیرعفونی مانند گاز آمونیاک سالن نیز ایجاد می‌گردد. تیتر HI محافظت‌کننده نیوکاسل برای طیور سه می‌باشد. گله‌های گوشتی بطور معمول با واکسن‌های زنده تیتری بین پنج تا شش بدست می‌آورند و تیترهای شش و بالاتر از آن معمولا در گله‌های گوشتی با سابقه بیماری نیوکاسل مشاهده می‌گردد(۱). در این مطالعه در زمانی که ویروس آنفلوانزای پرندگان بعنوان یک عامل بیماری‌زا و عامل التهاب نای حضور داشت، تیتر هشت و حتی نه نیوکاسل در برخی از پرندگان مشاهده شد در صورتی‌که هیچ آلودگی در زمینه درگیری با ویروس فیلد وجود نداشت. افزایش غیر معمول تیتر نیوکاسل در برخی از پرندگان در غیاب سویه فیلد ویروس نیوکاسل منجر به پراکندگی تیتر شده است و این

جدول۱ - تیتر HI ناشی از نیوکاسل و آنفلوانزای پرندگان (H9) در گروه‌های مختلف.

	I (H9…ND)	II (H9/ND)	III (ND..H9)	IV (ND)	V (Control)
تیتر نیوکاسل					
میانگین حسابی	۵/۲۲	۶/۴۴	۵/۵۶	۴/۷۸	۱/۸۹
بیشترین تیتر	۸	۹	۸	۷	۳
کمترین تیتر	۳	۳	۳	۳	۱
انحراف معیار	۱/۷۵	۱/۸۹	۱/۷۱	۱/۱۳	۰/۷۴
درصد پراکندگی	۳۳/۵۱	۲۹/۳۶	۳۰/۷۲	۲۳/۷۲	۳۹/۰۲
تیتر H9N2					
میانگین حسابی	۶/۸۹	۸/۲۲	۷/۶۷	۲/۳۳	۲/۱۱
بیشترین تیتر	۸	۹	۹	۳	۳
کمترین تیتر	۵	۷	۶	۲	۱
انحراف معیار	۰/۸۷	۰/۷۹	۰/۹۴	۰/۴۷	۰/۵۷
درصد پراکندگی	۱۲/۷۰	۹/۵۶	۱۲/۳۰	۲۰/۲۰	۲۶/۸۴

پدیده برخلاف روند معمول چالش با سویه فیلد می‌باشد که می‌تواند منجر به کاهش پراکندگی گردد. همچنین در گروهی که ویروس آنفلوانزا تلقیح نگردیده بود، تیتر نیوکاسل در محدوده قابل انتظار بود و تیترهای شبه بیماری ردیابی نشد و همچنین پراکندگی تیترها کمتر بود. این تفاوت شناسایی شده بین گروه‌های یک تا سه با گروه چهار را می توان به حضور یا عدم حضور ویروس آنفلوانزا در کنار ویروس واکسن لاسوتا نسبت داد. براین اساس حضور ویروس H9N2 در نای می‌توانند در برخی از پرندگان ایجاد تراکئیت و التهاب نای نماید و در صورت حضور همزمان ویروس لاسوتا با این تراکئیت ایجاد شده، ویروس سویه واکسینال نیوکاسل امکان تکثیر و تهاجم بیشتری به نای پیدا می‌کنند و این پدیده منجر به پاسخ بیشتر سیستم ایمنی به واکسن لاسوتا در پرنده می‌شود. به نظر می‌رسد این پدیده بطور یکنواخت در تمام پرنده‌های یک گروه یا گله رخ نمی‌دهد و احتمالا شدت تراکئیت و مقادیر ویروس لاسوتا در کمیت پاسخ سرولوژی تاثیرگذار می‌باشد و بر همین اساس تیترهای بالای نیوکاسل (هفت و بالاتر) در بخشی از پرندگان ایجاد می‌شود و علیرغم افزایش میانگین تیتر، پراکندگی نیز افزایش می‌یابد.

در بررسی گله‌هایی که واکسن مایکوپلاسما گالی‌سپتیکم و سینوویه دریافت کرده بودند، مشخص شد که در برخی از گله‌ها تیتر بالاتر از حد نرمال واکسن مایکوپلاسما وجود داشت اما در آزمایش گله هیچ مایکوپلاسمای فیلدی مشاهده نگردید. پس از بررسی هیستوپاتولوژی مشخص شد که التهاب بافت نای سبب ورود بیشتر مایکوپلاسما و تحریک سیستم ایمنی شده است (۹, ۱۲). تجربه فارمی در آفریقای جنوبی نشان داده است که تیتر حاصل از واکسن مایکوپلاسما سینوویه (MS-H) در اثر تلقیح همزمان واکسن لارنگوتراکئیت (بعنوان عامل ایجاد کننده



شکل۲- تیتر HI آنفلوانزای H9N2 در گروههای مختلف ۱۴ روز بعد از اخرین تلقیح.

تراکئیت) بالاتر از زمانیست که واکسن MS-H به تنهایی تجویز می‌شود (مذاکرات شخصی با مسئول فنی کمپانی Rainbow آفریقای جنوبی). در مطالعه‌ای نشان داده شد که استفاده همزمان واکسن لاسوتا و ویروس H9N2 یا استفاده ویروس H9N2 قبل از واکسن لاسوتا و یا آلودگی با ویروس H9N2 نسبت به حالتی که واکسن لاسوتا قبل از ویروس H9N2 مورد مصرف قرار گیرد تیتر بالاتری برای آنفلوانزا پرندگان H9N2 و وزن‌گیری کمتری در گله طیور خواهند داشت از طرفی استفاده همزمان واکسن لاسوتا و ویروس H9N2 یا استفاده واکسن لاسوتا قبل از ویروس H9N2 و یا استفاده از واکسن لاسوتا نسبت به حالتی که ویروس H9N2 قبل از واکسن لاسوتا استفاده شود تیتر بالاتری برای نیوکاسل و وزن‌گیری کمتری در گله طیور نشان خواهد داد (۳) که نتایج تا حدودی با ما مطالعه ما مطابقت دارد با این تفاوت که این مطالعه در سنین پایین که هنوز آنتی‌بادی مادر حضور دارد انجام شده است.

در تجارب شخصی نویسندگان موارد متعددی از درگیری گله‌ها به آنفلوانزای پرندگان (H9N2) وجود داشت که علاوه بر افزایش تیتر آنفلوانزا (H9) و تایید مولکولی، سبب افزایش تیتر نیوکاسل گله (با تایید حضور ویروس واکسن نیوکاسل و عدم تایید حضور ویروس فیلد نیوکاسل) یا پراکندگی تیتر نیوکاسل گردید و توجیهی برای آن یافت نشد. وجود تیتر بالای نیوکاسل و آنفلوانزای H9N2 در گروه دو که ویروس واکسن لاسوتا و ویروس آنفلوانزا را با صورت همزمان دریافت کرده بودند می‌تواند دلیلی بر فعالیت هم‌افزایی این دو ویروس در ایجاد بیماری باشد که علاوه بر این پراکندگی تیتر را نیز افزایش داده است از طرفی در گروه یک که اول ویروس آنفلوانزا پرندگان و سپس واکسن لاسوتا دریافت کرده اند نسبت گروه یک تیتر نیوکاسل کمتر دارد که احتمالا به خاطر اثر تضعیف ایمنی ناشی از ویروس آنفلوانزای H9N2 بوده است.

یکی از چالش‌های دامپزشکان در مورد تفسیر تیتر HI نیوکاسل بویژه در گله‌های گوشتی زمانیست که در درصدی از نمونه‌ها تیترهای غیرمعمول و غیرقابل انتظار بالایی مانند هشت یا نه وجود دارد. در تاریخچه این گله‌ها شواهدی از علایم بالینی و کالبدگشایی بیماری نیوکاسل وجود ندارد. در این شرایط تفاسیر مختلفی برای این موضوع وجود دارد و علت افزایش تیتر نیوکاسل در غیاب بیماری بالینی به موارد زیر مرتبط می‌گردد. ۱- چرخش سویه وحشی نیوکاسل در گله بدون نشان دادن علامت بالینی ۲- چرخش یا اثرات رولینگ واکسن در گله ۳- استفاده متعدد از واکسن زنده ۴- استفاده از روش‌های واکسیناسیون نامناسب که سبب بهم ریختن یکنواختی گله می‌گردد. ۵- چرخش سویه‌های آپاتوژن غیر از واکسن در گله ۶- غیراستاندارد بودن تعداد نمونه (اطلاعات منتشر نشده از طرح پرسشنامه‌ای از همکاران دامپزشک). این اختلاف‌نظر در تفسیر تیترهای نیوکاسل منجر به عدم ارائه راهکار مناسب و موثر در پیشگیری و کنترل بیماری نیوکاسل و سایر بیماری‌های شایع در صنعت طیور خواهد شد.

به منظور دستابی به تفسیر دقیق‌تر تیترهای نیوکاسل، براساس مشاهدات بالینی و یافته‌ها، این مطالعه طراحی گردید. نتایج این مطالعه نشان داد که تیتر بالا در تعدادی از سرم‌ها که در گله‌های گوشتی مشاهده می‌گردد می‌تواند مربوط به تراکئیت ناشی از عفونت با ویروس آنفلوانزای H9N2 باشد و ارتباطی با چرخش سویه فیلد نیوکاسل ندارد. این تراکئیت

ممکن است در اثر بیماری‌های عفونی مانند آنفلوانزای پرندگان (که در گله‌های ایران در حال چرخش است) و یا عوامل محیطی ایجاد شود. شدت تراکئیت در پرندگان متفاوت بوده و در نتیجه پاسخ سرمی متغییر خواهد بود و پراکندگی تیتر افزایش پیدا می‌کند. لذا به نظر می‌رسد معیار تیتر بالای نیوکاسل بدون در نظر گرفتن میزان پراکندگی تیترها و شواهد بالینی مرتبط با بیماری نیوکاسل و همچنین غفلت از احتمال حضور سایر عوامل بیماری‌زای تنفسی می‌تواند منجر به تفسیر اشتباه در نتایج سرولوژی گردد. لذا با توجه به تعدد واکسن‌های استفاده شده با فواصل کم و احتمال بالای چالش با عوامل مختلف پیشنهاد می‌شود از پروفایل کامل سرمی برای همه عوامل تنفسی رایج در تفسیر نتایج استفاده شود تا تداخل اثر بیماری‌ها بر همدیگر قابل شناسایی گردد. همچنین می‌توان از آزمون مولکولی جهت تایید حضور سویه‌های فیلد نیوکاسل در گله استفاده کرد.

نتیجه‌گیری کلی

میتوان از این مطالعه اینگونه تحلیل نمود که ویروس آنفلوانزا H۹N۲ تاثیر ویروس واکسن نیوکاسل در نای را افزایش می‌دهد و پاسخ ایمنی قوی‌تری ایجاد کند. در واقع استفاده همزمان از واکسن لاسوتا و آلودگی با ویروس آنفلوانزای H۹N۲ می‌تواند باعث افزایش تیتر آنتی‌بادی بر علیه هر دو نوع ویروس باشد که نشان‌دهنده اثر هم‌افزایی این دو ویروس در بالا بردن تیتر آنتی‌بادی می‌باشد. از طرفی در گله‌های طیور و بویژه گوشتی با توجه به تعدد واکسن‌های استفاده شده و حجم بالای چالش برای بررسی سرمی پیشنهاد می‌شود از پروفایل کامل سرمی برای تیتر همه عوامل تنفسی رایج صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله از شرکت محترم سپید ماکیان (جناب آقای مهندس رسولی و جناب آقای دکتر ابراهیمی) جهت تامین جوجه و دان مورد نیاز این آزمایش تقدیر و تشکر می‌گردد. از کلیه کارشناسان آزمایشگاه ویروس‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و آزمایشگاه دامپزشکی PCR، خانم دکتر شاه‌حسینی و جناب آقای دکتر برین در انجام این کار سپاسگزاری می‌شود.

منابع مورد استفاده

1. Alexander, D.J., J. G. Bell and R. G. Alders. 2004. A technology review: Newcastle disease, with special emphasis on its effect on village chickens. Available online at: http://www.fao.org/3/y5162e/y5162e00.htm . Accessed 01 January 2004.

2. Branton, S. and J. Simmons. 1992. D esign of a poultry disease isolation facility with programmable environmental control. *Applied engineering in agriculture* 8: 695-699.

3. Ellakany, H.F., A.R Gado, A.R. Elbestawy, H,S. Abd El-Hamid, H.M. Hafez, M. E. Abd El-Hack, A.A. Swelum, A. Al-Owaimer and I.M. Saadeldin. 2018. Interaction between avian influenza subtype H9N2 and Newcastle disease virus vaccine strain (LaSota) in chickens. *BMC veterinary research*, 14: 358.

4. Ghalyanchilangeroudi, A., H. Hosseini, M. Jabbarifakhr, M. H. Fallah Mehrabadi, H. Najafi, S. A. Ghafouri, F. S. Mousavi, Z. Ziafati and A. Modiri. 2018. Emergence of a virulent genotype VIIi of Newcastle disease virus in Iran. *Avian Pathology* 47: 509-519.

5. Hassan, K.E., A. Ali, S. A. S. Shany and M. F. El-Kady. 2017. Experimental co-infection of infectiousbronchitis and low pathogenic avian influenza H9N2 viruses in commercial broiler chickens. *Research in Veterinary Science* 115:356-362.

6. Hosseini, H., M. H. B. Fard, S. Charkhkar and R. Morshed. 2015. Epidemiology of avian infectious bronchitis virus genotypes in Iran (2010–2014). *Avian diseases* 59: 431-435.

7.Hussain, M., H. Irshad and M. Khan. 2008. Laboratory diagnosis of transboundary animal diseases in Pakistan. *Transboundary and emerging diseases* 55: 190-195.

8. Kash, J.C. and J. K. Taubenberger.2015. The Role of Viral, Host, and Secondary Bacterial Factors in Influenza Pathogenesis. *The American Journal of Pathology* 185:1528-1536.

9. Landman, W.J. 2014. Is Mycoplasma synoviae outrunning Mycoplasma gallisepticum? A viewpoint from the Netherlands. *Avian pathology* 43: 2-8.

10. Marangon, S. and L. Busani. 2007. The use of vaccination in poultry production. *Revue Scientifique et Technique-Office International des Epizooties* 26: 265.

11. Mayahi, V. and M. Esmaelizad. 2017. Molecular evolution and epidemiological links study of Newcastle disease virus isolates from 1995 to 2016 in Iran. *Archives of virology* 162: 3727-3743.

12. Morrow, C. 2011. Mycoplasma ts vaccines–20 years field experience, pen trials and myths. International Hatchery Practice 25:13-15.

13. Sabouri, F., M. Vasfi Marandi and M. Bashashati. 2018. Characterization of a novel VIII sub-genotype of Newcastle disease virus circulating in Iran. *Avian Pathology* 47: 90-99.

14. Van Leerdam, B. 2011. Diagnosis of IBV field challenge. *Target* 105:50-200.