



پایش سرولوژیک ویروس آنسفالومیلیت پرندگان در گله‌های مادر گوشتی مناطق شمالی ایران

زهرا ضیافتی کافی^۱، مصطفی نوید طالعی^۲، فرهاد قانع خشکبیجاری^۲، نسترن زیرانی گشتی^۲، آیداد جعفری صیادی^۲، آزاده محمدی نوده^۲، فرهنگ فقیه محمدی^۲، محمد عطایی^۲، آرش قلیان چی لنگرودی^{۱*}

۱- گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

۲- شرکت نوید مرغ، رشت.

نویسنده مسئول: آرش قلیان چی لنگرودی*

استاد گروه میکروبیولوژی و ایمنی شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران.

تلفن: ۰۲۱۶۱۱۱۷۱۵۴

ایمیل: arashghalyanchi@gmail.com

نویسنده مسئول: ghalyana@ut.ac.ir

دریافت مقاله: ۲۹ مرداد ۱۴۰۴، بازنگری: ۵ دی ۱۴۰۴، پذیرش نهایی: ۲۵ بهمن ۱۴۰۴

10.22034/nfvm.2026.541927.1298

چکیده

آنسفالومیلیت پرندگان یک بیماری ویروسی مهم در بین گله‌های مادر بوده که سبب علائمی همچون عدم تعادل، لرزش در ناحیه ی سر و گردن و در نهایت مرگ میشود. مطالعه‌ی سرولوژی حاضر به بررسی تیتراژ پادتن تولید شده پس از مصرف واکسن در ۳۷ گله مرغ مادر گوشتی در استان‌های شمال ایران میپردازد. ارزیابی سطح پادتن های تولید شده با استفاده از کیت الایزای شرکت ایدکس نشان داد که میانگین تیتراژ پادتن در هفته‌ی اول برابر با $1639 \pm 143/1$ بود. میانگین تیتراژ پادتن در کل گله‌های بررسی شده پیش از واکسیناسیون در سن ۹ هفتگی برابر با $254 \pm 48/2$ بود، که نشان میدهد گله‌ها فاقد پادتن محافظت‌کننده علیه آنسفالومیلیت پرندگان بودند. پس از واکسیناسیون، میانگین تیتراژ پادتن در سنین ۱۵ هفتگی و ۲۴ هفتگی به ترتیب برابر $4608 \pm 299/2$ و $3381 \pm 391/2$ اندازه گیری شد. همچنین بالاترین تیتراژ پادتن در گله‌های مادر در هفته ۷۷ ($6085 \pm 699/2$) مشاهده شد. همچنین مقایسه تیتراژ پادتن پس از واکسیناسیون، در برخی از گله‌ها با استفاده از دو کیت ایدکس و بیوچک، نشان داد که بین نتایج این دو کیت الایزای تجاری، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P \leq 0.0005$). این مطالعه که با هدف بررسی روند دینامیک تیتراژ پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان در ایران انجام شد، و بعنوان نخستین پژوهش‌هایی محسوب میشود که این موضوع را در سنین مختلف و در قطب‌های پرورش مادر گوشتی مورد ارزیابی قرار داده است. نتایج این تحقیق می‌تواند به محققین و کلینیسین‌ها در حوزه طراحی برنامه واکسیناسیون موثر کمک نماید.

واژگان کلیدی: آنسفالومیلیت پرندگان، مادر گوشتی، ایران، الایزای پادتن

مقدمه

آنسفالومیلیت پرنندگان (AE) یک بیماری عفونی طیور است که عامل آن جنس ترمووایروس متعلق به خانواده‌ی پیکورناویریده است. ژنوم آن RNA تک‌ رشته‌ای سنس مثبت می‌باشد که در درجه اول جوجه‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد؛ اما بوقلمون، بلدرچین و گونه‌های دیگر پرنندگان نیز به‌عنوان میزبان طبیعی این ویروس گزارش شده‌اند (۱). ژنوم این ویروس کوتاه است و دارای یک چارچوب خوانش باز منفرد (ORF) است که یک پلی‌پروتئین بزرگ را رمزگذاری می‌کند (۲، ۳). در ویروس فلج اطفال و ویروس تب برفکی و بسیاری از جنس‌های خانواده‌ی پیکورناویریده، ناحیه‌ی PI کپسید با کاهش حدت، پایداری حرارتی و ویریون، تغییر دامنه میزبان، تروپیسیم سلولی در شرایط آزمایشگاهی، عفونت پایدار و مورفولوژی پلاک مرتبط است. پروتئین VP1 مهم‌ترین پروتئین این ناحیه بوده و تولید اغلب جمعیت آنتی بادی‌های خنثی کننده‌ی آن را القا می‌کند (۴، ۵). آنسفالومیلیت پرنندگان، که «لرزش اپیدمی» در جوجه‌های جوان نیز نامیده می‌شود، اولین بار توسط جونز در سال ۱۹۳۲ توصیف شد (۶). آلودگی طیور به این ویروس عمدتاً از طریق مسیر مدفوعی- دهانی رخ می‌دهد (۳). ویروس می‌تواند به صورت عمودی (از طریق تخم مرغ) و به صورت افقی منتقل شود. انتقال عمودی زمانی اهمیت بیشتری می‌یابد که تخم مرغ‌ها آلوده شده باشند، در این حالت جوجه‌ها معمولاً در سنین بین یک تا چهارده روزگی علائمی همچون اتاکسی و لرزش را نشان می‌دهند و این امر می‌تواند منجر به افزایش تلفات در هفته‌های ابتدایی پرورش شود. این نوع انتقال اغلب به دلیل عدم رعایت اصول بهداشتی و ایمنی زیستی در دوره‌ی تولید و آلودگی تخم‌مرغ‌ها توسط پرورش دهندگان صورت می‌گیرد (۷، ۸). انتشار آلودگی از طریق بستر و یا مصرف خوراک و آب آلوده اتفاق می‌افتد (۹). این ویروس می‌تواند باعث افت تولید تخم‌مرغ در مرغ‌های مادر و کاهش جوجه‌درآوری تخم‌مرغ‌های نطفه‌دار شود؛ با این حال، ویروس در آنها ایجاد نشانه‌های بالینی عصبی نمی‌کند و

پایش سرولوژیک ویروس آنسفالومیلیت پرنندگان...

پرنندگان مسن‌تر نشانه‌های عصبی پس از عفونت را نشان نمی‌دهند (۳، ۱۰). موج دوم این بیماری اغلب از حدود ۱۱ روز بعد آغاز می‌شود. نشانه‌های بالینی اغلب مرتبط با سن بوده، عمدتاً بصورت عصبی و متغیر هستند. تایید آن با روش‌های آزمایشگاهی مانند روش‌های مولکولی و یا الیزا انجام می‌شود. در جوجه‌های جوان مبتلا به این بیماری، ضایعات ماکروسکوپی به صورت مناطق رنگ پریده در ناحیه پروونتريکولوس (پیش‌معه) هستند. تشخیص احتمالی بر اساس نشانه‌های بالینی در جوجه‌ها و تشخیص قطعی بیماری، تنها با بررسی آزمایشگاهی امکان‌پذیر است (۱۱). ضایعات میکروسکوپی معمولاً در سیستم عصبی مرکزی مشاهده می‌شود. (۱۲). حضور پادتن‌های خنثی کننده علیه ویروس آنسفالومیلیت پرنندگان در سرم جوجه‌ها، به‌عنوان یک عامل اصلی محافظت در برابر این بیماری شناخته شده است (۱۳). پادتن‌های مادری موجود در کیسه زرده بین هفته‌های دوم و سوم پس از خروج جوجه از تخم، به طور کامل جذب می‌شوند (۱۴). بهترین راه برای پیشگیری و کنترل بیماری، واکسینه کردن گله‌های مولد در طول دوره‌ی پرورش، در محدوده‌ی ۱۲ تا ۱۵ هفتگی به منظور جلوگیری از عفونت گله مادر در طول دوره تولید و در نتیجه عدم انتقال ویروس به نتاج از طریق تخم مرغ است. حفاظت در برابر عفونت ویروسی در هفته‌های اول زندگی، زمانی که جوجه‌ها بیشتر مستعد ابتلا به ویروس هستند حائز اهمیت است (۱۵). آزمایش‌های سرمی پس از واکسیناسیون جهت اطمینان از تولید پادتن و ارزیابی تابلو، ایمنی گله انجام می‌شود. روش‌های مختلفی مانند خنثی‌سازی ویروس (VN)، ژل دفیوژن و الیزا جهت ارزیابی میزان ایمنی گله وجود دارند (۱۶). در این میان، روش الیزا به دلیل حساسیت، دقت و سهولت تفسیر روشی رایج برای ارزیابی سطح پادتن در گله‌ها محسوب می‌شود. این نکته حائز اهمیت است که تولید پادتن در بیماری AE در مقایسه با سایر بیماری‌ها کندتر بوده و معمولاً افزایش سطح پادتن تا سه هفته پس از واکسیناسیون به صورت معنی‌دار مشاهده نمی‌شود. تولید پادتن مادری و واکسیناسیون گله‌های مادر

طبق دستورالعمل شرکت سازنده در طول موج نوری ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید. همچنین به منظور مقایسه تیتراژ پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان تعدادی از سرم‌های اخذ شده از گله‌های مختلف با سنین متفاوت به صورت تصادفی انتخاب و با کیت الایزای تجاری شرکت BioChek Avian Encephalomyelitis Virus Antibody Test مورد ارزیابی قرار گرفتند.

بررسی آماری

در این مطالعه برای بررسی داده‌های مربوط به تیتراژ پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان و پراکنش تیتراژها در گله‌ها در سنین مختلف از نسخه ۹ نرم‌افزار Graphpad prism استفاده شد. ابتدا با استفاده از آزمون آماری کولموگروف-اسمیرنوف (KS) نرمال بودن توزیع داده‌ها بررسی شد. پس از تعیین نرمال بودن توزیع داده‌ها، با استفاده از آزمون آماری ANOVA یکطرفه و سپس توسط آزمون تعقیبی LSD داده‌ها مورد بررسی آماری قرار گرفتند (سطح معنی داری ۰.۰۵ درصد).

نتایج

ارزیابی تیتراژ پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان با کیت الایزای تجاری ایدکس در سنین مختلف: از ۳۷ گله‌ی مرغ مادر گوشتی در استان‌های گیلان، قزوین و مازندران، تعداد ۱۰ نمونه سرم خون در هفته‌های ۱، ۹، ۱۵، ۲۴ و ۷۷ با کیت الایزای تجاری شرکت IDEXX علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین تیتراژ پادتن مادری علیه AE در گله‌های مادر مورد بررسی در هفته اول معادل ۱۴۳/۱ ± ۱۶۳۹ بود. همچنین میانگین تیتراژ پادتن در گله‌های مورد مطالعه در سن ۹ هفتگی (۳ هفته پیش از واکسیناسیون) برابر با ۴۸/۲ ± ۲۵۴ بود که برای محافظت از پرنده در برابر ابتلا به بیماری کفایت نمی‌کند و به عبارت دیگر گله‌های مورد بررسی در سن ۹ هفتگی فاقد پادتن محافظت‌کننده علیه AE بودند. انجام تست الایزا بر روی نمونه‌های سرم در سن ۱۵ هفتگی (۳ هفته پس از

نقش کلیدی در حفاظت جوجه‌ها در هفته‌های ابتدایی زندگی دارد لذا بررسی پاسخ ایمنی گله‌ها پس از واکسیناسیون اهمیت ویژه‌ای دارد.

بیشتر آزمایش‌های سرولوژی از جمله الایزا در شرایط فارمی معمولاً پیش از سه هفته بعد از واکسیناسیون انجام می‌شوند و همین ناآگاهی، سبب تفسیر نادرست نتایج الایزا در مورد تولید پادتن شده است. با مشاهده پاسخ‌های نسبتاً کند سیستم ایمنی پرندگان به واکسن AE، اکنون مشخص شده چنانچه پس از سه هفته متعاقب واکسیناسیون از روش الایزا جهت تعیین تیتراژ پادتن استفاده شود، نتایج می‌تواند برای گله بسیار مفید واقع شود (۸). با توجه به این که تاکنون در ایران مطالعه‌ی جامعی بر روی سرولوژی این در گله‌های مادر صورت نگرفته است؛ مطالعه حاضر با هدف بررسی نتایج آزمایش‌های سرمی، میزان تولید پادتن علیه ویروس AE بعد از واکسیناسیون، کارآمدی واکسن‌های مورد استفاده در مزارع مادر و پوشش واکسیناسیون در گله‌ها انجام شد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه در طی سال‌های ۱۴۰۱-۱۴۰۲ تعداد ۳۷ مزرعه مختلف مرغ مادر گوشتی در استان‌های گیلان، قزوین و مازندران انتخاب شد. از هر گله در سنین ۱، ۹، ۱۵، ۲۴، و ۷۷ هفتگی، تعداد ۱۰ نمونه خون از بال پرندگان جمع آوری گردید. گله‌های مادر گوشتی مورد مطالعه، در سن ۱۰ تا ۱۲ هفتگی یک نوبت واکسن آنسفالومیلیت ساخت شرکت Merial را بصورت آشامیدنی دریافت نموده بودند.

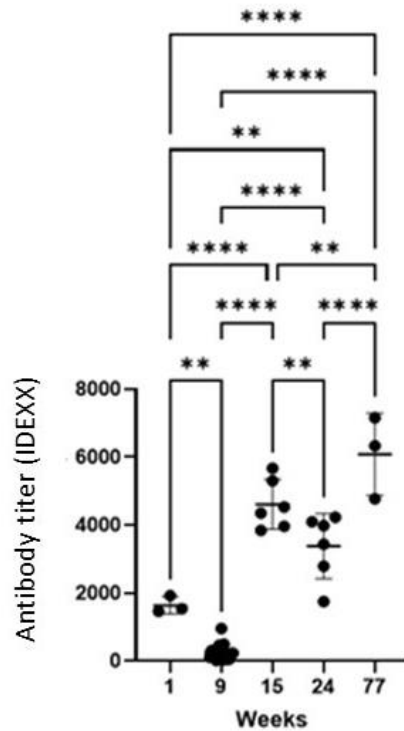
اندازه‌گیری تیتراژ پادتن علیه آنسفالومیلیت پرندگان:

در این مطالعه جهت سنجش پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان، از هر مزرعه تعداد ۱۰ عدد سرم در هر نوبت خونگیری جمع آوری شد. اندازه‌گیری پادتن با استفاده از کیت الایزای تجاری شرکت ایدکس IDEXX AE Ab Test ساخت ایالات متحده آمریکا و دستگاه الایزا ریدر ELX800 Biotek ساخت کشور ایالات متحده آمریکا، استفاده شد. در نهایت رنگ‌سنجی نمونه‌های سرم

پایش سرولوژیک ویروس آنسفالومیلیت پرندگان...

پادتن در سن ۷۷ هفتگی (پایان دوره تولید) در بالاترین سطح و برابر با $6058 \pm 699/2$ بود (شکل ۱). ارزیابی میانگین تیتر پادتن در تمام سنین با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان دادند ($P \leq 0.0005$).

واکسیناسیون) در گله‌های مورد ارزیابی، نشان‌دهنده میانگین تیتر پادتن به میزان $299/2 \pm 4608$ بود. همچنین میانگین تیتر آنتی بادی در دوره ی تولید (سن ۲۴ هفته) برابر با $3381 \pm 391/2$ بود که کاهش معنی‌داری نسبت به ۱۵ هفتگی نشان داد. میانگین تیتر



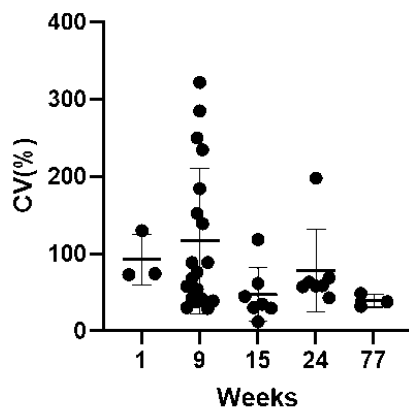
	1	9	15	24	77
Mean	1639	254.0	4608	3381	6085
Std. Deviation	247.9	215.6	732.8	958.2	1211
Std. Error of Mean	143.1	48.22	299.2	391.2	699.2

شکل ۱- میانگین تیتر پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان در گله‌های مادر گوشتی در سنین ۱، ۹، ۱۵، ۲۴، و ۷۷ هفته به روش الیزا با کیت تجاری شرکت ایدکس

$47/46 \pm 20/17$ و $78/34 \pm 20/17$ بود. نتایج حاصل از تست الیزا نشان داد با واکسیناسیون و افزایش سن، پراکندگی تیترها کاهش می یابد به طوری که میانگین پراکندگی تیترها در هفته ی ۷۷ کمترین مقدار و برابر با $39/60 \pm 4/92$ بود (شکل ۲).

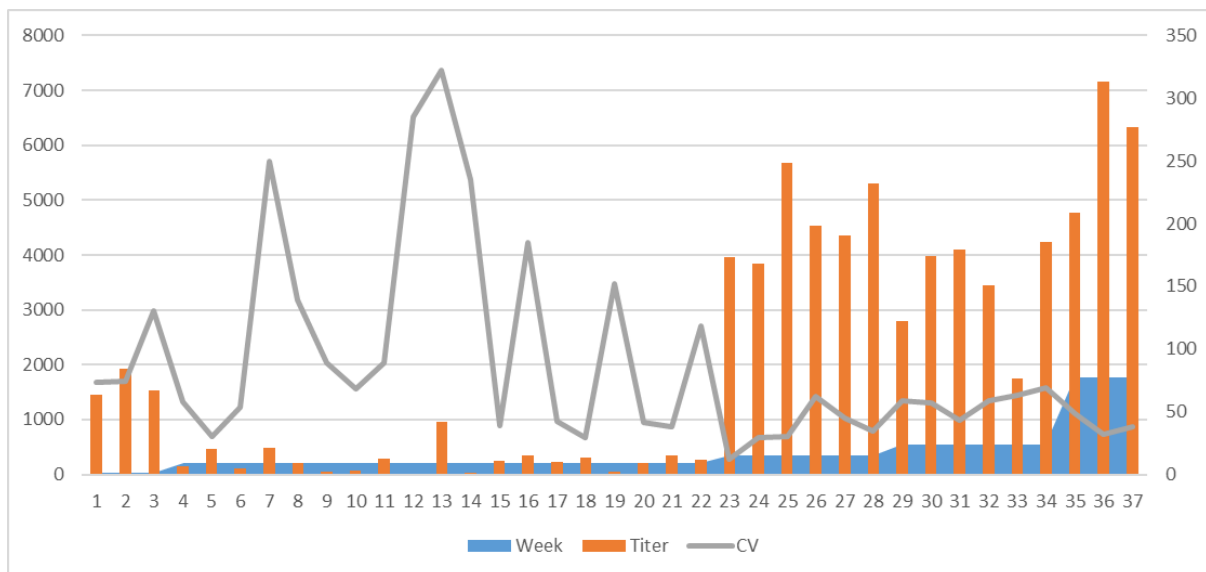
میانگین تیتر پادتن، و پراکندگی تیترها به تفکیک گله های مادر گوشتی در سنین ۱، ۹، ۱۵، ۲۴، و ۷۷ هفتگی در شکل شماره ی ۳ نشان داده می شود.

ارزیابی پراکندگی تیتر پادتن علیه ویروس انسفالومیلیت پرندگان با کیت الیزای تجاری ایدکس در سنین مختلف: بالاترین میزان پراکندگی تیتر پادتن در طی دوره ی پرورش، پیش از واکسیناسیون، و در سن ۹ هفتگی بود که تیتر پادتن مادری در این زمان افت پیدا کرده و یا حتی به صفر رسیده بود ($177 \pm 21/63$). پراکندگی تیتر پادتن در سنین ۱۵ و ۲۴ هفته به ترتیب برابر با ۱۳/۱۸



	1	9	15	24	77
Mean	92.73	117.0	47.46	78.34	39.60
Std. Deviation	32.54	94.28	34.87	53.36	8.514
Std. Error of Mean	18.79	21.63	13.18	20.17	4.915

شکل ۲- میزان پراکندگی تیتر پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان با کیت الیزای ایدکس در گله های مادر گوشتی در هفته های مختلف

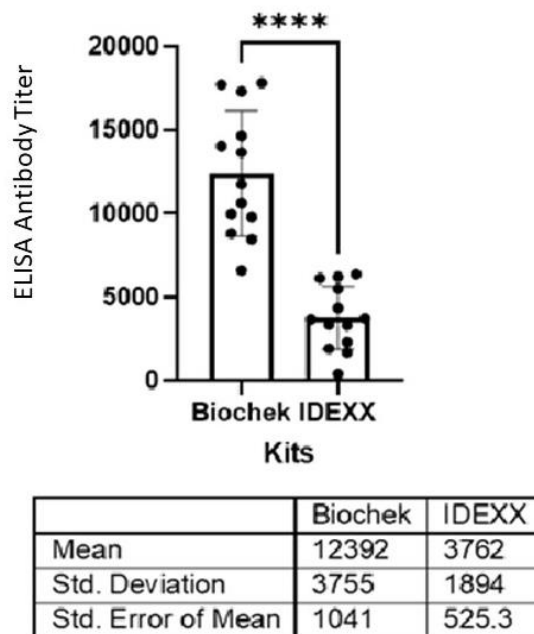


شکل ۳- نمودار ترکیبی میانگین تیتر پادتن، و پراکندگی تیترها علیه ویروس انسفالومیلیت پرندگان به تفکیک در سنین مختلف ۱ تا ۷۷ هفته با کیت الیزای ایدکس به تفکیک در ۳۷ گله مادر گوشتی در هر سه استان

پایش سرولوژیک ویروس آنسفالومیلیت پرندگان...

تجاری نشان داد که میانگین تیترا پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان با کیت بیوچک برابر با 12392 ± 1041 و با کیت ایدکس برابر با 3762 ± 525.3 بود که نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در میزان تیترا پادتن، بین این دو کیت تجاری الیزا می‌باشد ($P \leq 0.0005$) (شکل ۴).

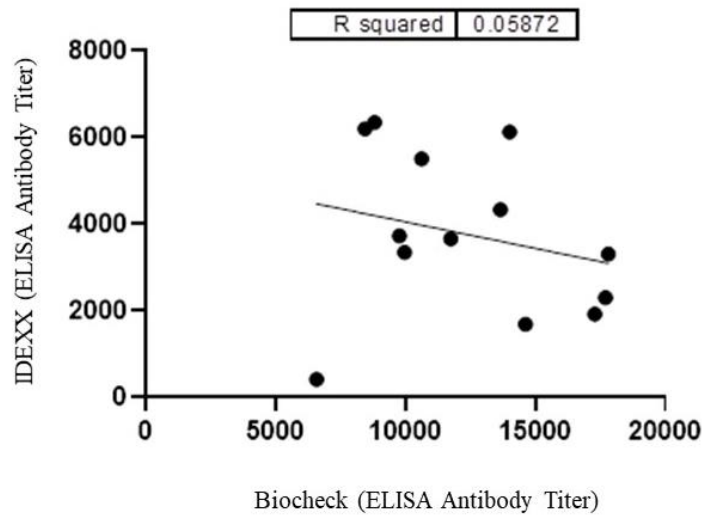
ارزیابی مقایسه میانگین تیترا پادتن در تعدادی از سرم‌های مورد مطالعه با هر دو کیت الیزای تجاری شرکت بیوچک و ایدکس: تعدادی از سرم‌های اخذ شده از مرغ مادر گوشتی در سنین و استان‌های مختلف با هر دو کیت الیزای تجاری شرکت بیوچک و ایدکس مورد ارزیابی قرار گرفتند. مقایسه‌ی نتایج بررسی بین این دو کیت



شکل ۴- مقایسه تیترا پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان با دو کیت الیزای تجاری شرکت بیوچک و ایدکس در تعدادی از سرم‌های مورد مطالعه در هفته‌های پس از واکسیناسیون

مشترک این دو کیت در اندازه‌گیری تیترا پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان، تفاوت‌هایی در طراحی آنتی‌ژن، حساسیت آزمون، دامنه تشخیص و روش کالیبراسیون می‌تواند منجر به اختلاف در مقادیر تیترا پادتن اندازه‌گیری شده شود. بنابراین، نتایج به‌دست‌آمده بیانگر آن است که داده‌های حاصل از این دو کیت الزاماً قابل جایگزینی مستقیم نبوده و تفسیر آن‌ها باید در چارچوب هر کیت به‌صورت مستقل انجام گیرد.

همچنین میزان همبستگی نتایج تیترا پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان در این دو کیت الیزای تجاری $R = 0.58$ بود. شکل ۵ رابطه بین تیترا پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان در این دو کیت الیزای تجاری BioChek و IDEXX را در سرم‌های جمع‌آوری شده در هفته‌های پس از واکسیناسیون نشان می‌دهد. بر اساس این نمودار، همبستگی قوی و مشخصی بین نتایج حاصل از دو کیت مشاهده نشد. این موضوع نشان می‌دهد که علی‌رغم هدف



شکل ۵- میزان همبستگی دو کیت الایزای تجاری شرکت بیوچک و ایدکس در اندازه‌گیری پادتن علیه آنسفالمیلیت پرندگان در تعدادی از سرم‌های مورد مطالعه در هفته‌های پس از واکسیناسیون

بحث و نتیجه‌گیری

انسفالومیلیت پرندگان (AE) یک بیماری عفونی ویروسی است که بسیاری از گونه‌ها از جمله جوجه‌های جوان، قرقاول، بلدرچین و بوقلمون را درگیر می‌کند (۱۷). جوجه‌های جوان علائم عصبی از جمله آتاکسی، فلج و لرزش سر و گردن را نشان می‌دهند و دارای عوارض بالا و مرگ و میر متغیر هستند. در جوجه‌های بالغ، عفونت معمولاً تحت بالینی است، اگرچه با کاهش گذرا در تولید تخم و قابلیت جوجه ریزی همراه است (۱۸). انتقال عفونت ویروس عامل بیماری عموماً به صورت عمودی از طریق تخم مرغ‌های آلوده یا به صورت افقی از راه مدفوع-دهانی است (۱۹). واکسیناسیون یکی از بهترین راهکارهای ارائه شده جهت ایجاد ایمنی در گله‌های مادر و جلوگیری از ابتلا به ویروس آنسفالمیلیت پرندگان در جوجه‌ها است. علیرغم واکسیناسیون در گله‌های مادری، همچنان گزارشاتی مبنی بر ابتلا به این ویروس در ایران وجود دارد. اولین مطالعه‌ی مربوط به این ویروس در ایران توسط آقاخان و همکاران در سال ۱۹۹۴ انجام شد (۲۰).

درخشانفر و همکاران (۲۰۰۲) شیوع AE را در مزارع مرغ تخمگذار ایران گزارش کردند (۲۱). وقوع هم‌زمان AE و کمبود ویتامین A در یک گله مرغ گوشتی تجاری در ایران توسط عباس‌آبادی و همکاران در سال ۲۰۲۱ گزارش گردید (۲۲). قرآنی و همکاران برای اولین بار در سال ۲۰۱۹ وقوع بیماری AE را در جوجه‌های گوشتی در ایران بر اساس روش مولکولی (RT-PCR) گزارش کردند (۲۳). اساسی و همکاران (۲۰۰۸) نیز بروز بیماری ناشی از این ویروس را در یک گله گوشتی ۱۲ تا ۱۸ روزه با تلفات ۵ درصد در سال براساس نشانه‌های بالینی، ضایعات هیستوپاتولوژی و افزایش تیتراژ پادتن گزارش نمودند (۲۴). مطالعات گذشته لزوم پایش سرمی در گله‌های مادر گوشتی و تخمگذار را نشان می‌دهد. تاکنون مطالعه‌ی جامعی از نظر سرولوژی در مورد این ویروس در گله‌های مرغ مادر گوشتی ایران صورت نگرفته است.

نایچ تحقیق حاضر نشان داد که ۱۰۰٪ گله‌های مادر گوشتی در محدوده جغرافیایی مورد مطالعه، تا سن پیش از واکسن فاقد پادتن در سطح محافظت‌کننده علیه این

پایش سرولوژیک ویروس آنسفالومیلیت پرندگان...

آنسفالومیلیت پرندگان مثبت اعلام شد (۲۶). در مطالعه‌ی دیگری که توسط Almedia و همکاران انجام شد، نمونه خون از ۲۰۰ مرغ بومی تهیه شد و با هدف بررسی گردش ویروسهای کم خونی جوجه، بورس عفونی، رئوویروس پرندگان و آنسفالومیلیت پرندگان مورد ارزیابی با روش الیزا و با استفاده از کیت الیزای شرکت ایدکس قرار گرفت. از بین نمونه‌های تهیه شده تعداد ۱۵۶ (۷۸٪) نمونه سرمی برای ویروس آنسفالومیلیت پرندگان Seroreactive گزارش شدند (۲۷). مرور مطالعات نسبتاً مشابه پیشین نشان میدهد که به صورت کلی میزان تولید پادتن در گله‌های مورد مطالعه با نتایج مطالعات پیشین هم خوانی دارد.

Smart و Grix (۱۹۸۵) استفاده از آزمون الیزا جهت تشخیص بیماری آنسفالومیلیت پرندگان را ابداع و وجود رابطه خطی مناسبی را بین آن با آزمون‌های خنثی‌سازی سرم و حساسیت جنین اثبات نمودند (۱۶). همچنین Smart و Grix (۱۹۸۶) در مطالعه‌ی دیگری، استفاده از الیزا را به‌عنوان یک ابزار دقیق برای کنترل بیماری در سطح گله معرفی نمودند (۲۸). براساس تحقیقات گذشته آزمون الیزا به‌عنوان یکی از روش‌های استاندارد تشخیص و پایش، و همچنین یک ابزار تشخیص تکمیلی در کنار نشانه‌های بالینی، ضایعات آسیب‌شناسی، جداسازی و تشخیص مولکولی، به‌منظور ردیابی عامل بیماری و رخدادهای آن در گله‌های گوشتی، تخمگذار و مادر در نظر گرفته می‌شود (۸، ۹، ۲۸). در مطالعه‌ی حاضر نیز برای ارزیابی تیترا پادتن در سنین مختلف، از تست الیزا استفاده شد. اغلب کیت‌های الیزا بر اساس پوشش‌دار کردن کل پروتئینی ویروسی است Van Roekel نشان داد که در حوزه‌ی طراحی کیت‌های الیزا، علاوه بر پروتئین‌های ویروس کامل، از پروتئین VP1 نیز در پوشش‌دار کردن کیت الیزا جهت بررسی پاسخ پادتن استفاده میشود که اهمیت این پروتئین را به‌عنوان یک پروتئینی با پتانسیل تشخیصی بیان نمودند (۵). Śmiałek و همکاران (۲۰۲۲) از دو کیت الیزای تجاری ایدکس و بیوچک جهت ارزیابی تیترا پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت در بوقلمون استفاده نموده،

بیماری بودند که اهمیت تعیین سن واکسیناسیون را در این حوزه نشان می‌دهد. همچنین جوجه‌های نتاج در هفته‌های اول دارای پادتن مادری بوده که آنها را از عفونت‌های ابتدای دوره محافظت می‌کند. این مطالعه نشان داد که گله‌ها تا پایان دوره تولید و حتی در دوره‌ی تولدی نیز دارای پادتن مناسب علیه این ویروس جهت جلوگیری ابتلا گله مادر و انتقال آن به نتاج بودند. پایین بودن تیترا آنتی بادی در سن ۹ هفتگی (پیش از واکسیناسیون) و افزایش آن تا سن ۷۷ هفتگی به دنبال دو نوبت واکسیناسیون در سنین ۱۰ و ۱۲ هفتگی نشان دهنده تاثیر واکسن بر تقویت سیستم ایمنی هومورال میباشد. از سوی دیگر آنالیز تیترا پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان نشان داد علی‌رغم آن‌که برای واکسیناسیون گله‌های مادری در مطالعه حاضر از واکسن‌های مختلف تجاری استفاده شده بود، این واکسن‌ها سطح مناسبی از پادتن را علیه ویروس تولید نمودند. با افزایش سن گله‌ها، گردش ویروس واکسن در گله بیشتر شده و متعاقب آن، بکنواختی تیترا پادتن بیشتر می‌شود.

در مطالعه‌هایی که توسط Zulfekar Ali و همکاران در سال ۲۰۲۱ به منظور بررسی وجود و توزیع آنتی بادی‌های اختصاصی ویروس آنسفالومیلیت طیور در منطقه Bogura کشور بنگلادش انجام شد، مجموع ۲۷۵ نمونه سرم از ۳۹ گله در سن تخم‌گذاری، بدون تاریخچه واکسیناسیون جمع آوری شد. تیترا آنتی بادی سرمی با استفاده از کیت الیزای شرکت بیوچک ارزیابی شد. بر اساس نتایج این مطالعه ۷۰.۱۸٪ از نمونه‌ها سرم مثبت بودند. همچنین با توجه وضعیت سنی نمونه‌ها، مثبت بودن سرم آنها از نظر وجود آنتی علیه آنسفالومیلیت پرندگان، به شکل معنی‌داری با افزایش سن افزایش مییافت (۲۵). در مطالعه‌ی دیگری، توسط Ingram و همکاران، از ۶۴ بوقلمون نمونه سرم تهیه شد و از نظر وجود آنتی بادی علیه بیماری‌های مختلف مورد ارزیابی قرار گرفت. شناسایی حضور آنتی بادی علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان با روش الیزا و با استفاده از کیت الیزای شرکت ایدکس انجام شد. از بین نمونه‌های تهیه شده، تنها یک نمونه از نظر سرمی برای ویروس

تعارض منافع:

نگارندگان این مقاله اعلام می دارند که در رابطه با نگارش و چاپ مقاله هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

همچنین میزان انتقال پادتن به نتاج را بررسی نمودند، نتایج نشان دادند که کیت الیزا بیوچک از حساسیت بالاتری در تشخیص پادتن‌های اختصاصی علیه آنسفالومیلیت پرندگان در سرم‌های بوقلمون برخوردار می‌باشد. تفاوت نتایج حاصل از بکارگیری دو کیت تجاری الیزا برای تعیین تیتراژ پادتن ممکن است به دلیل استفاده پادگن‌های مختلف برای پوشش‌دار کردن پلیت و همچنین میزان قدرت آن در اتصال به پادتن باشد (۲۹). در مطالعه‌ی حاضر استفاده از کیت الیزای ایدکس در مقایسه با الیزای بیوچک، سطح بالاتری از تیتراژ پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت را در سرم مرغ نشان داد.

نتیجه گیری کلی

مطالعه حاضر اولین بررسی جامع روند دینامیک تیتراژ پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان در ایران می‌باشد. تاکنون تحقیقات متعددی در زمینه‌ی تشخیص و پایش سرولوژی، مولکولی و پاتولوژی ویروس آنسفالومیلیت پرندگان انجام شده اما تحقیقات به صورت جامع نبوده است.

با توجه به این که واکسن آنسفالومیلیت پرندگان جزئی از برنامه‌ی واکسیناسیون مدون در گله‌های مرغ مادر در ایران است و نیز در برخی از موارد، درگیری با این ویروس در برخی از استان‌ها گزارش می‌شود، لذا نتایج بررسی تیتراژ پادتن در قطب‌های پرورش طیور کشور در سنین مختلف می‌تواند محدوده‌ی تیتراژ پادتن پایه‌ی مناسب و محافظت‌کننده علیه این ویروس در گله‌ها را تعیین نماید و برای طراحی برنامه‌ی واکسیناسیون کارآمد به‌منظور دستیابی به تیتراژ محافظت‌کننده علیه ویروس و بهبود عملکرد سیستم ایمنی در مواجهه بعد از واکسن، به محققین و کلینیسین‌های مرغ مادر بسیار کمک‌کننده باشد.

سپاسگزاری:

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از شرکت نوید مرغ گیلان جهت پشتیبانی‌های مالی از این طرح تحقیقاتی و همچنین از جناب آقای دکتر مهرداد مدیرصانعی جهت ویراستاری ادبی متن مقاله تشکر نمایند.

References

- 1- Zhang G, Li S, Shen Z, Wang F. Progress in research on the molecular biological detection techniques of avian encephalomyelitis. *Res Vet Sci*. 2023; 159: 232–36.
- 2- Lin WC, Lu PP, Li AJ, Wu Y, Li HX, Chen F, et al. Assessing the efficacy of a live vaccine against avian encephalomyelitis virus. *Arch Virol*. 2018; 163(9): 2395–404.
- 3- Marvil P, Knowles NJ, Mockett AA, Britton P, Brown TDK, Cavanagh D. Avian encephalomyelitis virus is a picornavirus and is most closely related to hepatitis A virus. *J Gen Virol*. 1999; 80(3): 653–62.
- 4- Muir P, Kämmerer U, Korn K, Mulders MN, Pöyry T, Weissbrich B, et al. Molecular typing of enteroviruses: current status and future requirements. *Clin Microbiol Rev*. 1998; 11(1): 202–27.
- 5- Wei L, Chee LL, Wei T, Kwang J, Zhou J, Wang J, et al. The VP1 protein of avian encephalomyelitis virus is a major host-protective immunogen that serves as diagnostic potential. *J Virol Methods*. 2008; 149(1): 56–62.
- 6- Koutoulis K, Horvath-Papp I, Tontis D, Papaioannou N, Evangelou K. An outbreak of Avian Encephalomyelitis in broilers in Greece. *J Hell Vet Med Soc*. 2015; 66(2): 93–100.
- 7- Calnek B, Taylor PJ, Sevoian M. Studies on avian encephalomyelitis. IV Epizootiology. *Avian Dis*. 1960; 4(4): 325–47.
- 8- Yu X-h, Zhao J, Qin X-h, Zhang G-z. Serological evidence of avian encephalomyelitis virus infection associated with vertical transmission in chicks. *Biol*. 2015; 43(6): 512–14.
- 9- De FE, Back A. New occurrence of avian encephalomyelitis in broiler—is this an emerging disease? *Rev Bras Cienc Avic*. 2015; 17(3): 399–404.
- 10- De la Torre D, Nuñez L, Parra S, Astolfi-Ferreira CS, Ferreira AJP. Detection by RT-PCR and molecular characterization of Tremovirus A obtained from clinical cases of avian encephalomyelitis (AE) outbreaks in Brazil. *Braz J Poult Sci*. 2018; 20: 527–36.
- 11- Al-Hammadi MA, Al-Rasheed M. Occurrences of avian encephalomyelitis virus in naturally infected chicks in Saudi Arabia's Eastern Province. *Open J Vet Med*. 2024; 14(1): 335.
- 12- Roy P, Hemalatha S, Vairamuthu S, Purushothaman V, Chandramohan A, Karunamurthy G, et al. An outbreak of avian encephalomyelitis in Tamil Nadu State of India. *WIVJ*. 2009; 9(2): 8–10.
- 13- Welchman DdB, Cox W, Gough R, Wood A, Smyth V, Todd D, et al. Avian encephalomyelitis virus in reared pheasants: a case study. *Avian Pathol*. 2009; 38(3): 251–256.
- 14- Szabó C. Transport of IgY from egg-yolk to the chicken embryo. *J Microbiol Biotechnol Food Sci*. 2012; 2(3): 612–620.
- 15- Ghalyanchilangeroudi A, Madani SA, Najafi H, Ziafati Kafi Z, Sadri N, Sarmadi S, et al. The full genome characterization of avian encephalomyelitis virus, Iran: a vertical transmission case. *Virus Genes*. 2024: 1–9.
- 16- Smart I, Grix D. Measurement of antibodies to infectious avian encephalomyelitis virus by ELISA. *Avian Pathol*. 1985; 14(3): 341–352.
- 17- Fan L, Li Z, Huang J, Yang Z, Xiao S, Wang X, et al. Dynamic distribution and tissue tropism of avian encephalomyelitis virus isolate XY/Q-1410 in experimentally infected Korean quail. *Arch Virol*. 2017; 162: 3447–3458.
- 18- Liu Q, Yang Z, Hao H, Cheng S, Fan W, Du E, et al. Development of a SYBR Green real-time RT-PCR assay for the detection of avian encephalomyelitis virus. *J Virol Methods*. 2014; 206: 46–50.
- 19- Senties-Cué CG, Gallardo RA, Reimers N, Bickford AA, Charlton BR, Shivaprasad H. Avian encephalomyelitis in layer pullets associated with vaccination. *Avian Dis*. 2016; 60(2): 511–515.
- 20- Aghakhan S, Abshar N, Fereidouni SRN, Marunesi C, Khodashenas M. Studies on avian viral infections in Iran. *Arch Razi Inst*. 1994; 44/45: 1–10.
- 21- Derakhshanfar A, Habibi G, Monir A. Avian encephalomyelitis in layer chickens. *IJVR*. 2002.
- 22- Abbasabadi B, Seifi S, Golshahi H. Concurrent occurrence of avian encephalomyelitis and vitamin A deficiency in a commercial broiler chicken flock. *J Hellenic Vet Med Soc*. 2021; 72(2): 2989–92.
- 23- Ghorani M, Ghalyanchi Langeroudi A, Akramian A, Hosseini H, Rohani F. Detection of avian encephalomyelitis virus in broiler chickens in Iran using RT-PCR and histopathological methods. *Iran J Virol*. 2019; 13(2): 24–28.
- 24- Asasi K, Farzinpour A, Tafti AK. Clinicopathological studies on avian encephalomyelitis in Shiraz, Iran. *Turk J Vet Anim Sci*. 2008; 32(3): 229–231.

25- Ali MZ, Shaon MT, Moula MM, Bary MA, Sabuj AA, Khaled SA, et al. First report on the seroprevalence of avian encephalomyelitis virus antibody in Sonali (cross-bred) chickens in Bogura, Bangladesh. *J Adv Vet Anim.* 2021 Mar; 8(1): 78–83.

26- Ingram DR, Miller DL, Baldwin CA, Turco J, Lockhart JM. Serologic survey of wild turkeys (*Meleagris gallopavo*) and evidence of exposure to avian encephalomyelitis virus in Georgia and Florida, USA. *J Wildl Dis.* 2015 Apr; 51(2): 374–379.

27- de Castro Almeida P, Borges PR, Koerich

PK, de Melo RT, Batista IA, Mendonça EP, et al. Circulation of immunosuppressive viruses and avian encephalomyelitis virus in backyard chicken flocks. *J Adv Microbiol.* 2020 May; 10(5): 203–213.

28- Smart I, Grix D, Barr D. The application of the ELISA to the diagnosis and control of avian encephalomyelitis. *Aust Vet J.* 1986; 63(9): 297–299.

29- Śmiałek M, Kowalczyk J, Ogonowska-Woźniak B, Koncicki A. Comparison of two commercial ELISA kits for serological monitoring of avian encephalomyelitis in a reproductive turkey flock. *Pol J Vet Sci.* 2022; 25(4): 621–624.



Volume 8, Issue 4, Winter 2026, pages: 27-38

۳۸

Serological monitoring of avian encephalomyelitis virus in broiler breeder flocks of northern Iran

Zahra Ziafati Kafi¹, Mostafa Navid Talemi², Farhad Ghane Khoshkbijari², Nastaran Zeirani Gashti², Aida Jafari Sayadi², Azadeh Mohammadi Nodeh², Farhang Faghih Mohammadi², Mohammad Ataei², Arash Ghalyanchi Langeroudi*¹

1- Department of Microbiology and Immunology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran.

2- Navid Morgh Company, Rasht, Iran

Corresponding author: Arash Ghalyanchi Langeroudi.

Email: arashghalyanchi@gmail.com

ghalyana@ut.ac.ir

Receive: August 20, 2025; Revise: December 26, 2025; Accept: February 14, 2026

 [10.22034/nfvm.2026.541927.1298](https://doi.org/10.22034/nfvm.2026.541927.1298)

Abstract

Avian encephalomyelitis is an important viral disease among breeder flocks, causing clinical signs such as loss of balance, tremors in the head and neck, and finally leads to death. The present serological study investigated antibody titers produced following vaccination in 37 broiler breeder flocks across northern provinces of Iran. Evaluation of antibody levels using the IDEXX ELISA kit showed that the mean antibody titer in the first week was 1639 ± 143.1 . The mean antibody titer in all examined flocks prior to vaccination at 9 weeks of age was 254 ± 48.2 , indicating that the flocks lacked protective antibodies against avian encephalomyelitis. After vaccination, the mean antibody titers at 15 and 24 weeks of age were 4608 ± 299.2 and 3381 ± 391.2 , respectively. The highest antibody titer in breeder flocks was observed at week 77 (6085 ± 2699). Furthermore, comparison of antibody titers after vaccination in some flocks using both IDEXX and BioChek kits revealed a significant difference between the results of these two commercial ELISA kits ($P \leq 0.0005$). This study, conducted to evaluate the dynamics of antibody titers against avian encephalomyelitis virus in Iran, represents one of the first investigations assessing this issue at different ages in major broiler breeder production centers. The findings can assist researchers and clinicians in designing effective vaccination programs.

Keywords: Avian Encephalomyelitis, Broiler Breeder, Iran, ELISA, Antibody