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

[1]زهرا ضیافتی کافی،[2] مصطفی نوید طالمی ، [2]فرهاد قانع خشکبیجاری، [2] نسترن زیرانی گشتی ،[2]آیدا جعفری صیادی ،

[2] آزاده محمدی نوده،[2] فرهنگ فقیه محمدی،[2] محمد عطایی،[1*] آرش قلیان‌چی لنگرودی

[1]گروه میکروب‌شناسی و ایمنی‌شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ایران

[2]شرکت نوید مرغ، رشت

نویسنده مسئول : arashghalyanchi@gmail.com

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 تیتر 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 تیتر پادتن در هفته‌ی اول برابر با ۱۶۳۹±۱۴۳/۱ بود. میانگین تیتر پادتن در کل گله‌هایِ بررسی شده پیش از واکسیناسیون در سن ۹ هفتگی برابر با ۲۵۴±۴۸/۲ بود، که نشان میدهد گله‌ها فاقد پادتن محافظت‌کننده علیه آنسفالومیلیت پرندگان بودند. پس از واکسیناسیون، میانگین تیتر پادتن در سنین ۱۵ هفتگی و ۲۴ هفتگی به ترتیب برابر ۲۹۹/۲± ۴۶۰۸ و ۳۹۱/۲± ۳۳۸۱ اندازه گیری شد. همچنین بالاترین تیتر پادتن در گله‌های مادر در هفته ۷۷ (۶۹۹/۲ ± ۶۰۸۵) مشاهده شد. همچنین مقایسه تیتر پادتن پس از واکسیناسیون، در برخی از گله ها با استفاده از دو کیت ایدکس و بیوچک، نشان داد که بین نتایج این دو کیت الایزای تجاری، اختلاف معنی‌داری وجود دارد ($P\geq$۰,۰۰۰۵). این مطالعه که با هدف بررسی روند دینامیک تیتر پادتن علیه ویروس انسفالومیلیت پرندگان در ایران انجام شد، و بعنوان نخستین پژوهش هایی محسوب میشود که این موضوع را در سنین مختلف و در قطب های پرورش مادر گوشتی مورد ارزیابی قرار داده است. نتایج این تحقیق می‌تواند به محققین و کلینیسین‌ها در حوزه طراحی برنامه واکسیناسیون موثر کمک نماید.

کلمات کلیدی: آنسفالومیلیت پرندگان، مادر گوشتی، ایران، الایزا، پادتن

مقدمه :

آنسفالومیلیت پرندگان (AE) یک بیماری عفونی طیور است که عامل آن جنس ترموویروس متعلق به خانواده‌ی پیکورناویریده است. ژنوم آن RNA تک‌رشته‌ای سنس مثبت می‌باشد که در درجه اول جوجه‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد؛ اما بوقلمون، بلدرچین و گونه‌های دیگر پرندگان 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 جنس های خانواده ی پیکورناویریده، ناحیه ی P1 کپسید با کاهش حدت، پایداری حرارتی ویریون، تغییر دامنه میزبان، تروپیسم سلولی در شرایط آزمایشگاهی، عفونت پایدار و مورفولوژی پلاک مرتبط است. پروتئین ۱VP مهمترین پروتئین این ناحیه بوده و تولید اغلب جمعیت آنتی بادی های خنثی کننده ای را القا میکند (۴, ۵).. آنسفالومیلیت پرندگان، 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 می تواند به صورت عمودی (از طریق تخم مرغ) و به صورت افقی منتقل شود. اتقال عمودی زمانی اهمیت بیشتری می یابد که تخم مرغ ها آلوده شده باشند، در این حالت جوجه ها معمولا در سنین بین یک تا چهارده روزگی علائمی همچون اتاکسی و لرزش را نشان می دهند و این امر می تواند منجر به افزایش تلفات در هفته های ابتدایی پرورش شود. این نوع انتقال اغلب به دلیل عدم رعایت اصول بهداشتی و ایمنی زیستی در دوره ی 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 پرندگان 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 روش های آزمایشگاهی مانند روش های مولکولی و یا الایزا انجام می شود. درجوجه‌های جوان مبتلا به این بیماری، ضایعات ماکروسکوپی به‌صورت مناطق رنگ‌پریده در ناحیه پروونتریکولوس (پیش‌معده) هستند. تشخیص احتمالی بر اساس نشانه‌های بالینی در جوجه‌ها و تشخیص قطعی بیماری، تنها با بررسی آزمایشگاهی امکان‌پذیر است (۱۱). ضایعات میکروسکوپی معمولا در سیستم عصبی مرکزی مشاهده می شود. (۱۲). حضور پادتن‌های خنثی‌کننده علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان در سرم جوجه‌ها، به‌عنوان یک عامل اصلی محافظت در برابر این بیماری شناخته شده‌است (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 محدوده ی 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 الایزا جهت ارزیابی میزان ایمنی گله وجود دارند(۱۶). در این میان، روش الایزا به دلیل حساسیت، دقت و سهولت تفسیر روشی رایج برای ارزیابی سطح پادتن در گله ها محسوب می شود . 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 به‌صورت معنی‌دار مشاهده نمی‌شود. تولید پادتن مادری و واکسیناسیون گله های مادر نقش کلیدی در حفاظت جوجه ها در هفته های ابتدایی زندگی دارد لذا بررسی پاسخ ایمنی گله ها پس از واکسیناسیون اهمیت ویژه ای 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 تیتر پادتن استفاده شود، نتایج می‌تواند برای گله بسیار مفید واقع شود(۸). با توجه به این‌که 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 وروش کار

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 تیتر پادتن علیه انسفالومیلیت 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. اندازه گیری پادتن با استفاده از کیت الایزای تجاری شرکت ایدکس IDEXX AE Ab Test ساخت ایالات متحده آمریکا و دستگاه الایزا ریدر ELX800 Bioteck ساخت کشور ایالات متحده آمریکا، استفاده شد. در نهایت رنگ‌سنجی نمونه های سرم طبق دستورالعمل شرکت سازنده در طول موج نوری ۴۵۰ نانومتر قرائت گردید. همچنین به منظور مقایسه تیتر پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان تعدادی از سرم‌های اخذ شده از گله های مختلف با سنین متفاوت به‌صورت تصادفی انتخاب و با کیت الایزای تجاری شرکت BioChek Avian Encephalomyelitis Virus Antibody Test مورد ارزیابی قرار گرفتند.

بررسی آماری

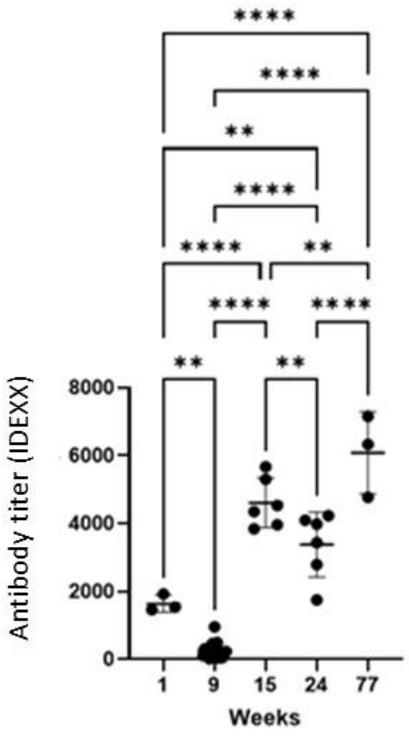
در این مطالعه برای بررسی داده‌های مربوط به تیتر پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان و پراکنش تیترها در گله‌ها در سنین مختلف از نسخه ۹ نرمافزار Graphpad prism استفاده شد. ابتدا با استفاده از آزمون آماری کولموگروف-اسمیرنوف (KS) نرمال بودن توزیع دادهها بررسی شد. پس از تعیین نرمال بودن توزیع دادهها، با 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 تیتر پادتن علیه ویروس انسفالوملیت 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 هفته های ۱، ۹، ۱۵، ۲۴ و ۷۷ با کیت الایزای تجاری شرکت IDEXX علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان مورد بررسی قرار گرفتند. میانگین تیتر پادتن مادری علیه AE در گله‌های مادر مورد بررسی در هفته اول معادل ۱۴۳/۱ ± ۱۶۳۹ بود. همچنین میانگین تیتر 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 به‌عبارت 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 واکسیناسیون) در گله‌های مورد ارزیابی، نشان‌دهنده میانگین تیتر پادتن به میزان ۲۹۹/۲ ± ۴۶۰۸ بود. همچنین میانگین تیتر آنتی بادی در دوره ی تولید (سن ۲۴ هفته) برابر با ۳۹۱/۲ ± ۳۳۸۱ بود که کاهش معنی‌داری نسبت به ۱۵ هفتگی نشان داد. میانگین تیتر پادتن در سن ۷۷ هفتگی (پایان دوره تولید) در بالاترین سطح و

برابر با ۶۹۹/۲ ± ۶۰۵۸ بود (شکل ۱). ارزیابی میانگین تیتر پادتن در تمام سنین با یکدیگر تفاوت معنی‌داری نشان دادند (P≥۰,۰۰۰۵).

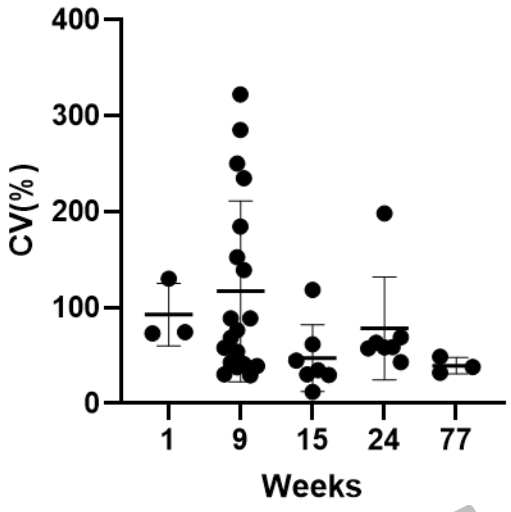


	1	9	15	24	77
Mean	1639	254.0	4608	3381	6085
Std. Deviation	247.9	215.6	732.8	958.2	1211
Std. Error of Mean	143.1	48.22	299.2	391.2	699.2

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

ارزیابی پراکنش تیتر پادتن علیه ویروس انسفالوملیت پرندگان با کیت الایزای تجاری ایدکس در سنین مختلف

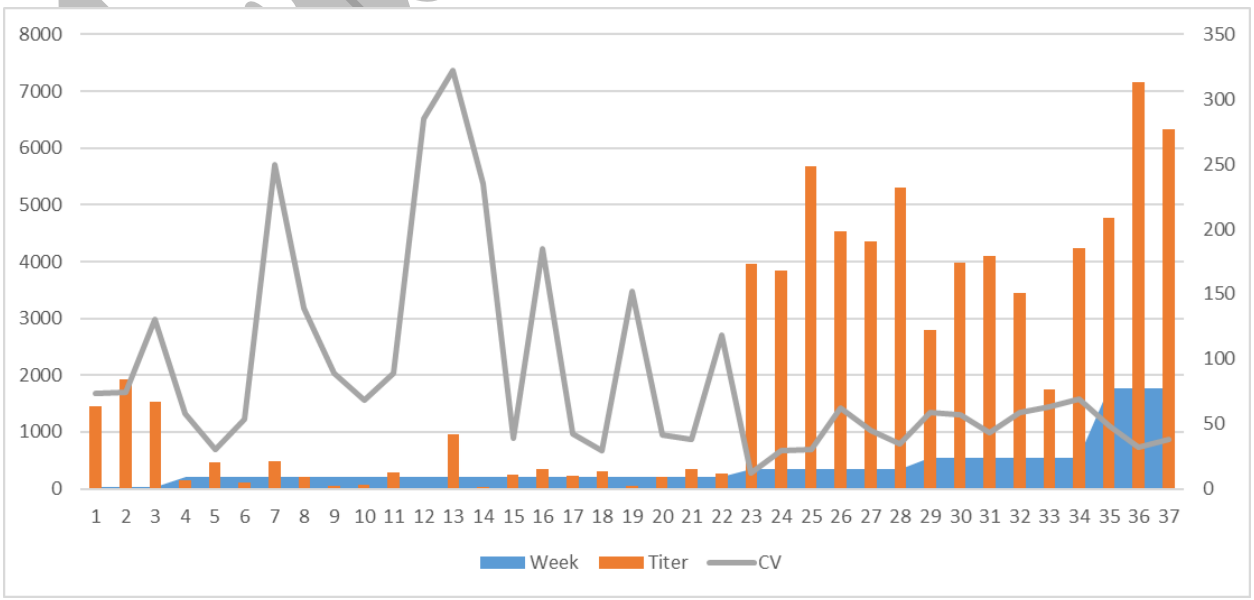
بالاترین میزان پراکنش تیتر پادتن در طی دوره‌ی پرورش، پیش از واکسیناسیون، و در سن ۹ هفتگی بود که تیتر پادتن مادری در این زمان افت پیدا کرده و یا حتی به صفر رسیده بود (۱۷۷±۲۱/۶۳). پراکنش تیتر پادتن در سنین ۱۵ و ۲۴ هفته به ترتیب برابر با ۱۳/۱۸ ± ۴۷/۴۶ و ۲۰/۱۷± ۷۸/۳۴ بود. نتایج حاصل از تست الایزا نشان داد با واکسیناسیون و افزایش سن، پراکندگی تیترها کاهش می یابد به‌طوری که میانگین پراکنش تیترها در هفته ی ۷۷ کمترین مقدار و برابر با ۳۹/۶۰±۴/۹۲ بود (شکل ۲).



	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 الایزای ایدکس در گله‌های مادر گوشتی در هفته‌های مختلف

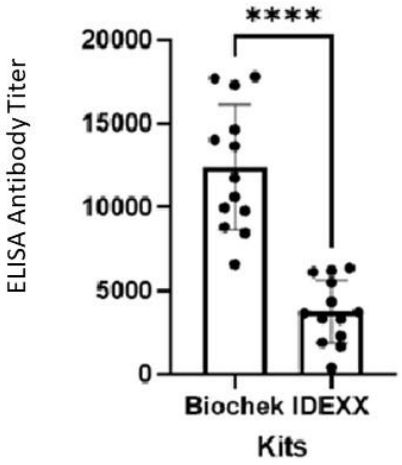
میانگین تیتر پادتن، و پراکنش تیترها به تفکیک گله‌های مادر گوشتی در سنین ۱، ۹، ۱۵، ۲۴، و ۷۷ هفتگی در شکل شماره‌ی ۳ نشان داده می‌شود.



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 الایزای ایدکس به تفکیک در ۳۷ گله مادر گوشتی در هر سه استان

ارزیابی مقایسه میانگین تیتر پادتن در تعدادی از سرم‌های مورد مطالعه با هر دو کیت الایزای تجاری شرکت بیوچک و ایدکس

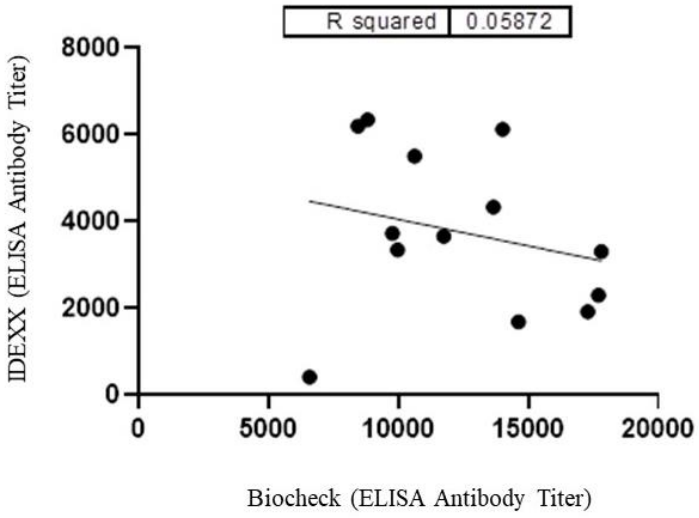
تعدادی از سرم‌های اخذ شده از مرغ مادر گوشتی در سنین و استان‌های مختلف با هر دو کیت الایزای تجاری شرکت بیوچک و ایدکس مورد ارزیابی قرار گرفتند. مقایسه‌ی نتایج بررسی بین این دو کیت تجاری نشان داد که میانگین تیتر پادتن علیه ویروس آنسفالوملیت پرندگان با کیت بیوچک برابر با ۱۰۴۱±۱۲۳۹۲ و با کیت ایدکس برابر با ۵۲۵/۳±۳۷۶۲ بود که نشان‌دهنده‌ی وجود اختلاف معنی‌دار در میزان تیتر پادتن، بین این دو کیت تجاری الایزا می‌باشد (P≥۰,۰۰۰۵) (شکل ۴).



	Biochek	IDEXX
Mean	12392	3762
Std. Deviation	3755	1894
Std. Error of Mean	1041	525.3

شکل۴. مقایسه تیتر پادتن علیه ویروس آنسفالوملیت پرندگان با دو کیت الایزای تجاری شرکت بیوچک و ایدکس در تعدادی از سرم‌های مورد مطالعه در هفته‌های پس از واکسیناسیون

همچنین میزان هم‌بستگی نتایج تیتر پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان در این دو کیت الایزای تجاری R = ۰/۰۵۸ بود. شکل ۵ رابطه بین تیتر آنتی بادی اندازه‌گیری شده با دو کیت الایزای تجاری BioChek و IDEXX را در سرم‌های جمع‌آوری‌شده 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 مشترک این دو کیت در اندازه گیری تیتر انتی بادی علیه ویروس آنسفالومیلیت پرندگان، تفاوت‌هایی در طراحی آنتی‌ژن، حساسیت آزمون، دامنه تشخیص و روش کالیبراسیون می‌تواند منجر به اختلاف در مقادیر تیتر اندازه گیری‌شده 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.



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

بحث

انسفالومیلیت پرندگان (AE) یک بیماری عفونی ویروسی است که بسیاری از گونه ها از جمله جوجه‌های جوان، قرقاول، بلدرچین و بوقلمون را درگیر می کند(۱۷) . جوجه های جوان علائم عصبی از جمله آتاکسی، فلج و لرزش سر و گردن را نشان می دهند و دارای عوارض بالا و مرگ و میر متغیر هستند . در جوجه های بالغ، عفونت معمولا تحت بالینی است، اگرچه با کاهش گذرا در تولید تخم

و قابلیت جوجه ریزی همراه است (۱۸). انتقال عفونت ویروس عامل بیماری عموماً به‌صورت عمودی از طریق تخم‌مرغ‌های آلوده یا به‌صورت افقی از راه مدفوع- دهانی است (۱۹). واکسیناسیون یکی از بهترین راهکارهای ارائه شده جهت ایجاد ایمنی در گله های مادر و جلوگیری از ابتلا به ویروس آنسفالومیلیت پرندگان در جوجه ها است. علیرغم واکسیناسیون در گله های 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 تیتر پادتن گزارش نمودند(۲۴). مطالعات گذشته لزوم پایش سرمی در گله های مادر گوشتی و تخمگذار را نشان می دهد. تاکنون مطالعه‌ی جامعی از نظر سرولوژی در مورد این ویروس در گله‌های مرغ مادر گوشتی ایران صورت نگرفته است.

نتایج 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 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 تولکی نیز دارای پادتن مناسب علیه این ویروس جهت جلوگیری ابتلا گله مادر و انتقال آن به نتاج بودند. پایین بودن تیتر 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 تیتر 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، یکنواختی تیتر پادتن بیشتر می‌شود.

در مطالعهای که توسط Zulfekar Ali و همکاران در سال ۲۰۲۱ به منظور بررسی وجود و توزیع آنتی بادی های اختصاصی ویروس انسفالومیلیت طیور در منطقه Bogura کشور بنگلادش انجام شد، مجموع ۲۷۵ نمونه سرم از ۳۹ گله در سن تخم گذاری، بدون تاریخه واکسیناسیون جمع آوری شد. تیتر آنتی بادی سرمی با استفاده از کیت الایزای شرکت بیوچک ارزیابی شد. بر اساس نتایج این مطالعه ۷۰,۱۸٪ از نمونه ها سرم مثبت بودند. همچنین با توجه وضعیت سنی نمونه ها، مثبت بودن سرم آنها از نظر وجود آنتی

علیه آنسفالومیلیت پرندگان، به شکل معنی داری با افزایش سن افزایش مییافت (25). در مطالعه ی 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 الایزا و با استفاده از کیت الایزای شرکت ایدکس انجام شد. ازبین نمونه های تهیه شده، تنها یک نمونه از نظر سرمی برای ویروس آنسفالومیلیت پرندگان مثبت اعلام شد (۲۶). در مطالعه ی 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 الایزا و با استفاده از کیت الایزای شرکت ایدکس قرار گرفت. از بین نمونه های تهیه شده تعداد ۱۵۶ (۷۸٪) نمونه سرمی برای ویروس آنسفالومیلیت پرندگان Seroreactive گزارش شدند (۲۷). مرور مطالعات نسبتا مشابه پیشین نشان میدهد که به صورت کلی میزان تولید پادتن در گله های مورد مطالعه با نتایج مطالعات پیشین هم خوانی دارد.

Smart و Grix (۱۹۸۵) استفاده از آزمون الایزا 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 الایزا را به‌عنوان یک ابزار دقیق برای کنترل بیماری در سطح گله معرفی نمودند (۲۸). براساس تحقیقات گذشته آزمون الایزا 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 مطالعه ی حاضر نیز برای ارزیابی تیتر پادتن در سنین مختلف، از تست الایزا استفاده شد. اغلب کیت‌های الایزا بر اساس پوشش‌دار کردن کل پروتئینی ویروسی است Van Roekel نشان داد که در حوزه ی طراحی کیت‌های الایزا، علاوه بر پروتئین‌های ویروس کامل، از پروتئین ۱VP نیز در پوشش‌دار کردن کیت الایزا جهت بررسی پاسخ پادتن استفاده میشود که اهمیت این پروتئین را بعنوان یک پروتئینی با پتانسیل تشخیصی بیان نمودند (۵). Śmiałek و همکاران (۲۰۲۲) از دو کیت الایزای تجاری ایدکس و بیوچک جهت ارزیابی تیتر پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت در بوقلمون استفاده نموده، همچنین میزان انتقال پادتن به نتاج را بررسی نمودند، نتایج نشان دادند که کیت الایزا بیوچک از حساسیت بالاتری در تشخیص پادتن‌های اختصاصی علیه آنسفالومیلیت پرندگان در سرم‌های بوقلمون برخوردار می‌باشد. تفاوت نتایج حاصل از بکارگیری دو کیت تجاری الایزا برای تعیین تیتر 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 الایزای ایدکس در مقایسه با الایزای بیوچک، سطح بالاتری از تیتر پادتن علیه ویروس آنسفالومیلیت را در سرم مرغ نشان داد.

نتیجه گیری کلی

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

با توجه به این‌که واکسن آنسفالوملیت پرندگان جزیی 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 تیتر پادتن در قطب‌های پرورش طیور کشور در سنین مختلف می‌تواند محدوده‌ی تیتر پادتن پایه‌ی مناسب و محافظت‌کننده علیه این ویروس در گله ها را تعیین نماید و برای طراحی برنامه‌ی واکسیناسیون کارآمد به‌منظور دستیابی به تیتر محافظت‌کننده علیه ویروس و بهبود عملکرد سیستم ایمنی در مواجه بعد از واکسن، به محقیقین 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.

تعارض منافع

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

منابع:

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 occurance 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. Sentíes-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. Clinico-pathological 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.

در حال انتشار

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

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