مطالعه اثر روش‌های واکسیناسیون بیماری نیوکاسل و غنی سازی جیره با پودر رزماری بر پاسخ ایمنی هومورال در کبک نژاد چوکار

چکیده

نیوکاسل یک بیماری بسیار واگیر و کشنده در اکثر گونه‌های پرندگان از جمله کبک می‌باشد. روش تجویز واکسن به عنوان یک شاخص مهم در مدیریت بیماری مد نظر می‌باشد. از طرفی ترکیبات موجود در گیاهان بطور مستقیم و غیرمستقیم می‌توانند بر پاسخ‌های ایمنی اثرگذار باشند. در این مطالعه ۶۳۰ قطعه کبک به ۲۱ گروه تقسیم بندی شدند و برنامه واکسیناسیون با استفاده از واکسن‌های زنده (B۱، کلون و لاسوتا) و واکسن غیرفعال روغنی بیماری نیوکاسل طیور در سنین ۱، ۸، ۱۰، ۲۰ و ۳۵ روزگی به روش‌های اسپری، قطره چشمی، آشامیدنی و روش تزریقی، اجرا گردید، همچنین جیره کبک‌ها تا سن ۵۶ روزگی با سه سطح مختلف (۰، ۰/۵، ۱/۵ درصد) از پودر غنی‌سازی گردید. سپس در سن ۱۴، ۲۸ و ۵۶ روزگی با خون‌گیری از ورید بالی پرنده‌ها، سرم آن‌ها جمع آوری گردید و با استفاده از آزمایش مهار هماگلوتیناسیون (HI) عیار پادتن ضد ویروس بیماری نیوکاسل محاسبه گردید. تجویز واکسن‌های غیرفعال به همراه واکسن‌های زنده منجر به تولید عیار پادتن به میزان بالاتری نسبت به استفاده از واکسن‌های زنده بصورت تنهایی گردید (P<۰/۰۵). همچنین گروه‌های دریافت کننده واکسن‌های زنده به روش‌های قطره چشمی و اسپری به نسبت گروه‌های واکسینه شده به روش آشامیدنی قدرت بیشتری در تحریک سیستم ایمنی هومورال را نشان دادند (P<۰/۰۵). تغذیه کبک‌ها با سطوح مختلف پودر رزماری تاثیری بر سطح عیار پادتن در گروه‌های مختلف نداشت. طبق نتایج این مطالعه، استفاده واکسن‌های زنده به روش اسپری و قطره چشمی به همراه واکسن غیرفعال می‌تواند عیار پادتن بالاتری را در گله های کبک ایجاد نماید.

واژه‌های کلیدی: بیماری نیوکاسل، کبک، واکسن، روش تجویز، پادتن، رزماری

مقدمه

نیوکاسل یک بیماری بسیار واگیر و کشنده می‌باشد و اکثر گونه‌های پرندگان می‌توانند درگیر این بیماری شوند. عامل ایجاد کننده این بیماری، از سویه‌های حاد متعلق به سروتیپ یک پارامیکسوویروس های پرندگان (APMV۱) می‌باشد. پارامیکسوویروس‌های جدا شده از پرندگان بر حسب تست‌های سرولوژیکی و آنالیزهای فیلوژنوتیک به ۱۱ سروتیپ طبقه بندی و از ۱ تا ۱۱ نامگذاری شده‌اند (۳, ۱۱). در طبقه‌بندی دیگر، بر اساس خصوصیات ژنومی قطعات کدکننده پروتئین F و L، این ویروس ها به کلاس I و II طبقه‌بندی شده‌اند. ویروس‌های کلاس I اکثراً در پرندگان وحشی، پرنده فروشی‌ها، پرندگان اهلی و خانگی یافت شده‌اند. اکثر سویه‌های موجود در این کلاس دارای حدت کمی می‌باشند. ویروس‌های کلاس II معمولاً از گله‌های طیور، پرندگان زینتی و خانگی و پرندگان وحشی آبزی جداسازی و به ۱۶ ژنوتیپ از I-XV طبقه‌بندی شده‌اند. سویه‌های موجود در واکسن‌های نیوکاسل و ویروس‌های حاد و بیماری‌زای نیوکاسل در این گروه قرار گرفته‌اند (۱۶). ویروس‌های نیوکاسل بر اساس بیماری‌زایی به ویروس‌های بسیار بیماری‌زا (ولوژنیک)، با بیماری‌زایی متوسط (مزوژنیک)، با بیماری‌زایی بسیار ضعیف (لنتوژنیک) و غیر بیماری‌زا تقسیم بندی می‌شوند (۲۸, ۴۶).

مهمترین و موثرترین رویکرد در مدیریت بیماری نیوکاسل، رعایت مسائل بهداشتی و اجرای برنامه واکسیناسیون می‌باشد. بطور کلی هدف از انجام و اجرای برنامه‌های واکسیناسیون، القا پاسخ ایمنی مناسب و محافظت کننده در مقابل ویروس بیماری‌زای نیوکاسل

می‌باشد. نتیجه حاصل از واکسیناسیون تحت تاثیر عوامل مختلفی قرار می‌گیرد. از مهمترین آن‌ها می‌توان به شاخصه‌های مرتبط با واکسن و محتویات آن، تفاوت‌های فردی و گونه‌ایی در گله‌ها، سطح پادتن‌های مادری و در نهایت برنامه، روش و نحوه تجویز واکسن اشاره کرد (۵۱). با اجرای یک برنامه واکسیناسیون مناسب، می‌توان به سطوحی از عیار پادتن محافظت کننده در برابر ویروس بیماری زای نیوکاسل، دست پیدا کرد و یکی از عوامل مهم و تاثیرگذار بر پاسخ‌های ایمنی روش‌های تجویز واکسن می‌باشد. و بر همین اساس بررسی و مقایسه روش‌های مختلف تجویز واکسن‌ها امری ضروری به نظر می‌رسد (۲۰, ۲۳, ۳۷, ۴۸).

در طی سالیان اخیر افزودن ترکیبات گیاهی به جیره غذایی طیور به منظور بهبود عملکرد، شاخصه‌های پرورشی و همچنین بهبود پاسخ‌های ایمنی سلولی و هومورال نسبت به عوامل باکتریایی، ویروسی مورد توجه قرار گرفته است. بطور کلی گیاهان و فرآورده‌های آن‌ها از طریق بهبود وضعیت میکروفلور طبیعی دستگاه گوارش و اثرات آنتی اکسیدانی ترکیبات طبیعی موجود در گیاه و در نهایت کاهش استرس‌های محیطی، اثرات مثبت خود را بر سیستم ایمنی اعمال می‌کنند (۱۵, ۳۸)

رزماری به عنوان یک گیاه دارویی و معطر و طعم دهنده شناخته شده است. مهمترین ترکیبات رزماری شامل فلاوونوئیدها، ترکیبات فنلی مانند کارنوسول، کارنوسیک اسید، رزمانول، کافئیک اسید، رزمارینیک اسید و تری‌ترپن‌ها می باشند. مشتقات فنلی به عنوان مهمترین ترکیبات آنتی اکسیدان در این گیاه شناخته شده‌اند(۹, ۱۰, ۳۸). شواهدی مبنی بر تاثیر مثبت پودر و اسانس این گیاه بر سیستم ایمنی وجود دارد (۱۳). همچنین عنوان شده است که استفاده از این گیاه می‌تواند باعث بهبود پاسخ ایمنی سلولی و هومورال در بیماری نیوکاسل شود (۹, ۱۹). عثمان و همکاران عنوان کردند استفاده از پودر رزماری در غلظت ۰/۵ درصد می‌تواند تولید پادتن ضد بیماری نیوکاسل را بهبود دهد اما در غلظت ۱ درصد این اثر مثبت مشاهده نگردید (۳۱). از طرفی در مطالعات متعددی عنوان شده است که رزماری اثر مثبتی بر پاسخ‌های ایمنی هومورال ندارد (۳۸, ۴۵). با توجه توسعه و رشد روزافزون صنعت پرورش کبک در مناطق مختلف، بیماری نیوکاسل به عنوان یک بیماری واگیر و کشنده از اهمیت ویژه ایی در این صنعت برخوردار می‌باشد. بر اساس شواهد موجود، اطلاعات اندک و گاها متناقضی در مورد صنعت پرورش کبک و بخصوص اثر روش‌های مختلف واکسیناسیون و همچنین اضافه کردن پودر رزماری به عنوان یک افزودنی به جیره، بر پاسخ سیستم ایمنی هومورال وجود دارد. بر همین اساس در مطالعه حاضر، روش‌های مختلف تجویز واکسن‌های بیماری ویروسی نیوکاسل و اثر استفاده از سطوح مختلف پودر رزماری بر پاسخ ایمنی هومورال کبک نژاد چوکار در دوره آغازین مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار

تعداد ۶۳۰ قطعه جوجه کبک مخلوط یکروزه سویه چوکار الکتوریس در قالب طرح کامل تصادفی از نوع فاکتوریل ۳*۷ شامل هفت برنامه مختلف واکسیناسیون و سه سطح از پودر گیاه رزماری (R)، (۰، ۰/۵، ۱/۵ درصد) در ۲۱ تیمار، ۳ تکرار و ۱۰ پرنده در هر تکرار در فضایی در ابعاد ۱۰۰*۱۵۰ سانتی‌متر برای هر تکرار تقسیم بندی شدند. همه پرندگان در هفته اول زندگی با جیره پایه حاوی ۲۴ درصد پروتئین و۲۹۰۰ کیلوکالری انرژی و از هفته دوم با جیره‌های آزمایشی حاوی سطوح مختلف از پودر رزماری تا ۸ هفتگی در قالب ۳ تیمار مختلف تغذیه شدند. ترکیب جیره در جدول ۱ آورده شده است. در طی این مدت آب و غذا بصورت آزادانه در اختیار پرندگان قرار گرفت. سیستم نوری شامل، ۲۳ ساعت روشنایی و ۱ ساعت تاریکی در هفته اول و از روز ۷ به بعد، ۲۰ ساعت روشنایی و ۴ ساعت تاریکی اعمال گردید. درجه حرارت روز اول ۳۵ درجه سانتی گراد بود و بعد از آن هرهفته ۲/۵ درجه تا رسیدن به دمای ۲۳ درجه سانتی گراد کاهش یافت. در این مطالعه به منظور انجام واکسیناسیون از واکسن زنده نیوکاسل سویه B1، واکسن زنده نیوکاسل کلون سویه .IR۱۲Clone، واکسن زنده نیوکاسل سویه لاسوتا و واکسن غیرفعال روغنی نیوکاسل طیور (تولید موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی) و از روش‌های قطره چشمی (E)، آشامیدنی (D)، اسپری (S) و تزریق (IN) در ناحیه زیرپوست گردن، طی روزهای ۱، ۸، ۱۰، ۲۰ و ۳۵، طبق یک برنامه واکسیناسیون مشخص که در جدول ۲ آمده است استفاده گردید.

نمونه‌های خونی در روزهای ۱۴، ۲۸ و ۵۶ با خون گیری از ورید بالی ۵ پرنده در هر تکرار جمع آوری شد و با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ در دور ۳۰۰۰ به مدت۱۰ دقیقه، سرم نمونه‌ها جداسازی گردید و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد ذخیره گردید. جهت بررسی عیار سرمی نیوکاسل، بر روی نمونه‌ها، آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) بر اساس استاندارد OIE انجام گرفت (۷). برای انجام آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای استفاده گردید. ابتدا ۵۰ میکرولیتر محلول بافر فسفات (PBS) در تمامی گوده‌ها ریخته شد، سپس ۵۰ میکرولیتر سرم پرنده در گوده اول و رقت سازی آن تا آخرین گوده انجام گرفت، در مرحله بعد ۵۰ میکرولیتر آنتی ژن ۴ واحدی ویروس نیوکاسل ساخت شرکت پسوک (پسوپاسل) به تمامی گوده‌ها اضافه شد و میکروپلت به مدت ۱ دقیقه روی شیکر مکانیکی قرار داده شد و به مدت ۴۵ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. در مرحله بعد۵۰ میکرو لیتر گلبول قرمز کبک با غلظت ۱ درصد به تمام گوده‌ها اضافه شده و مجدداً میکروپلیت روی شیکر مکانیکی به مدت ۳۰ ثانیه قرار داده شد و سپس میکروپلیت به مدت ۴۰ دقیقه در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد و نتایج ثبت گردید. رقت سازی عیارها بر مبنای Log_2 انجام گرفت. گلبول قرمز ۱ درصد مورد استفاده نیز از کبک‌های SPF تهیه گردید. کلیه آزمایش‌ها در آزمایشگاه تشخیص بیماری‌های طیور دانشگاه اردکان انجام گرفت.

اطلاعات بدست آمده توسط برنامه SPSS نسخه ۲۲ و آنالیز واریانس یکطرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت، همچنین مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی با استفاده از آزمون چند دامنه‌ایی دانکن در سطح احتمال خطای کمتر از ۵ درصد انجام شد.

نتایج

عیار پادتن در سن ۱۴ روزگی

طبق نتایج بدست آمده از آزمایش مهار هماگلوتیناسیون در سن ۱۴ روزگی، تیمارهایی که واکسن ها را به روش قطره چشمی دریافت کرده بودند بالاترین میانگین عیار پادتن (۳/۶۲±۰/۷۴) و گروه‌های کنترل که هیچ واکسنی دریافت نکرده بودند پایین‌ترین میانگین عیار پادتن (۲/۷۵±۰/۷) را نشان دادند، اما اختلاف آماری معناداری بین گروه‌های مختلف آزمایشی و گروه کنترل مشاهده نگردید (P<۰/۰۵). (شکل ۱).

عیار پادتن در سن ۲۸ روزگی

بر اساس نتایج حاصل از آزمایش‌ها در سن ۲۸ روزگی، بیشترین و کمترین میانگین عیار پادتن به ترتیب ۵/۶۶±۰/۵۱ و ۱/۷۱±۰/۷۵ بدست آمد (شکل ۲). با توجه به تحلیل‌های آماری، گروه‌های مختلف آزمایشی اختلاف آماری معناداری را نشان دادند به صورتی که در جوجه‌های دریافت کننده واکسن غیرفعال و جوجه‌های غیر واکسینه شده با واکسن غیرفعال تفاوت آماری معناداری دیده شد. اما تیمارهایی واکسینه شده با واکسن‌های زنده با روش‌های مختلف مورد استفاده در این مطالعه، اختلاف آماری معناداری را نشان ندادند. همچنین همه گروه‌های آزمایشی دارای اختلاف آماری معنادار با گروه کنترل بودند (P<۰/۰۵). (شکل ۲).

عیار پادتن در سن ۵۶ روزگی

همانطور که در شکل ۳، مشاهده می‌شود بر اساس بررسی‌های انجام گرفته در سن ۵۶ روزگی، گروه‌های کنترل فاقد عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل بودند و در واقع در آزمایش مهار هماگلوتیناسیون در همه گوده‌ها آگلوتیناسیون مشاهده گردید و رسوب گلبول‌های قرمز مشاهده نگردید و با همه تیمارهای این مطالعه اختلاف آماری معناداری را نشان دادند. همچنین میانگین عیار پادتن در تیمارهای دریافت کننده واکسن غیرفعال در مقایسه با گروه‌هایی که واکسن غیرفعال استفاده نشده بود، بطور معناداری بیشتر بدست آمد. همچنین تیمارهای دریافت کننده واکسن‌های زنده به روش‌های قطره چشمی و اسپری در مقایسه با روش آشامیدنی، بطور معناداری میانگین عیار پادتن بالاتری را نشان دادند. در مقایسه گروه‌های مختلف آزمایشی بالاترین عیار پادتن (۷/۱۶±۰/۷۵

الی ۰/۵۳±۷/۵۷) در تیمارهای دریافت کننده واکسن غیرفعال و واکسن زنده به روش اسپری و قطره چشمی مشاهد شد(P<۰/۰۵). (شکل ۳).

تاثیر پودر رزماری بر عیار پادتن

بر اساس نتایج بدست آمده در این مطالعه، میانگین عیار پادتن در سنین ۱۴، ۳۵ و ۵۶ در گروه‌های آزمایشی تحت تاثیر سطوح مختلف پودر رزماری قرار نگرفت و در مقایسه با گروه‌های کنترل که پودر رزماری در جیره آن‌ها اضافه نشده بود تفاوت آماری معنادری مشاهده نگردید (شکل ۱، ۲ و۳). (P<۰/۰۵).

بحث

بیماری ویروسی نیوکاسل یکی از مهمترین بیماری‌های طیور از نظر اقتصادی می باشد. کشورهای فعال در زمینه صنعت طیور هزینه‌های بسیار زیادی را برای پیشگیری، کنترل و درمان بیماری نیوکاسل صرف می‌کنند (۳, ۲۵). با توجه به اینکه صنعت پرورش کبک در سال‌های اخیر مورد توجه قرار گرفته است و از طرفی اطلاعات بسیار اندکی در مورد این پرنده از جمله روش های مختلف واکسیناسیون وجود دارد این مطالعه طراحی گردید. در این مطالعه پرندگان در همه گروه‌ها تحت شرایط امنیت-زیستی پرورش داده شدند و بصورت روزانه مورد معاینه و بررسی قرار گرفتند و هیچ یک از گروه‌ها، علائم بالینی مرتبط با نیوکاسل و دیگر عارضه‌ها و بیماری‌ها را نشان ندادند. در هر صورت در مطالعاتی بیان شده است که اجرای برنامه واکسیناسیون برای مقابله با بیماری نیوکاسل علیرغم تولید سطوحی از پادتن محافظت کننده، نمی‌تواند از تکثیر، عفونت و دفع ویروس نیوکاسل جلوگیری نماید و گاها علائم خفیفی را نشان می‌دهند که در این مطالعه علائمی مشاهده نگردید (۶, ۲۰, ۲۷, ۴۸).

همانطور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود میانگین عیار پادتن در روز ۱۴ در گروه‌های مختلف آزمایشی فاقد اختلاف آماری معناداری می‌باشند، در گروه‌های کنترل که واکسنی دریافت نکرده بودند عیار پادتن بصورت عددی کمتر بدست آمد اما بصورت آماری اختلاف معنادار نبود، علت این امر را می‌توان، وجود پادتن‌های مادری در گروه‌های کنترل بیان نمود که تا روز ۱۴ بقایای آن مشاهده گردیده است. مطالعات مختلفی نیمه عمر پادتن‌های مادری طیور در بیماری‌های مختلف از جمله بیماری نیوکاسل را ۳ الی۱۰ روز گزارش کرده‌اند. اما در مورد بیماری نیوکاسل این زمان حتی تا ۲۱ الی ۲۸ روزگی نیزگزارش شده است (۲, ۱۲, ۳۰).

بر اساس نتایج حاصل از اندازه‌گیری عیار پادتن در روز ۲۸ پرورش، همه گروه‌های آزمایشی بطور معناداری عیار پادتن بالاتری نسبت به گروه کنترل که هیچ واکسنی دریافت نکرده بودند را نشان دادند (شکل ۲) همان‌طور که بیان شد عیار پادتن‌های مادری در طیور بخصوص جوجه‌های گوشتی نهایتا تا روز ۲۸ الی ۳۰ قابل رویت می‌باشند و در این مطالعه نیز عیار مورد نظر در گروه‌های کنترل ۱/۷ الی ۲ مشاهده گردید (۲, ۱۸, ۳۰). در ادامه همه گروه‌هایی که واکسن زنده همراه با واکسن غیرفعال را دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده واکسن زنده به تنهایی، بصورت معناداری عیار پادتن بالاتری را بدست آوردند. با توجه به گذشت ۱۸ روز از زمان دریافت واکسن کشته در گروه‌های آزمایشی و با بررسی نتایج در این مرحله می‌توان به نقش مهم واکسن‌های کشته در توسعه پاسخ‌های ایمنی هومورال پی برد. یاور روغنی همراه با واکسن‌های غیر فعال باعث آزاد شدن تدریجی آنتی‌ژن‌های موجود در واکسن و تحریک سیستم ایمنی هومورال در زمان طولانی می‌شود (۳۳, ۳۴, ۳۶, ۴۹). همچنین بر اساس یافته‌های سرولوژی در این مرحله، گروه‌هایی که فقط دریافت کننده واکسن زنده از طریق اسپری، قطره چشمی و آشامیدنی بودند اختلاف آماری معناداری را با هم نشان ندادند. در این مطالعه واکسن‌های استفاده شده در هر نوبت واکسیناسیون یکسان، اما با روش‌های مختلف تجویز گردید و با توجه به این نکته می‌توان گفت روش‌های قطره چشمی، اسپری و آشامیدنی تا این مرحله تاثیری بر پاسخ ایمنی هومورال نداشته‌اند. در مطالعه‌ایی عنوان شده است در نوبت‌های اولیه واکسیناسیون پاسخ‌های سرولوژی در برابر واکسن‌های

مختلف می‌تواند یکسان باشد و در نوبت‌های بعدی و استفاده از یادآورها بعضی از سویه‌ها می‌توانند عیار بالاتری را ایجاد نمایند (۲۱, ۳۹).

با توجه به نتایج عیار پادتن بدست آمده در انتهای مطالعه (۵۶ روزگی)، گروه‌های کنترل فاقد عیار پادتن قابل مشاهده بودند و بر اساس آزمایش HI به صفر رسید. همان‌طور که توضیح داده شد پادتن‌های انتقال یافته از مادر به جوجه تا ۳۰ روزگی قابل جداسازی و مشاهده می‌باشند و نهایتا تا هفته پنجم بطور کلی از بین می‌روند (۲, ۱۲). همچنین مانند نتایج روز ۲۸، در این مرحله نیز گروه‌های واکسینه شده با واکسن زنده همراه با واکسن غیرفعال در مقایسه با گروه‌هایی که فقط واکسن زنده دریافت کرده بودند، بصورت معناداری عیار پادتن بالاتری را نشان دادند. با توجه به گذشت حدود ۷ هفته از زمان تجویز واکسن غیرفعال، عیار در این گروه‌ها به سطوح بالایی رسیده‌اند. اصولا استفاده همزمان واکسن‌های زنده و کشته در طیور گوشتی نسبت به استفاده از واکسن‌های زنده، بطور معناداری عیار پادتن بالاتر و محافظت بیشتری را در مقابل سویه‌های وحشی ویروس بیماری نیوکاسل ایجاد می‌کند، در واقع می‌توان عنوان کرد که استفاده از واکسن غیرفعال در برنامه واکسیناسیون، سطوح بالایی از پادتن را ایجاد می‌کند و میزان تکثیر و دفع ویروس را کاهش می‌دهد (۳, ۲۱, ۲۴, ۲۶, ۲۸, ۴۴). همچنین گزارش شده است که واکسیناسیون گله با واکسن‌های زنده به تنهایی نمی‌تواند محافظت لازم را در برابر بیماری نیوکاسل ایجاد نماید (۵۰). محمدی و همکاران عنوان کردند که استفاده از واکسن زنده نیوکاسل به همراه واکسن‌های غیرفعال نسبت به حالتی که از واکسن زنده بصورت تنهایی استفاده می‌شود عیار پادتن بالاتری را تولید می‌کنند (۲۹). ادجوان‌ها یا یاورها محرک غیراختصاصی ایمنی ذاتی و اکتسابی می‌باشند. متداول‌ترین کاربرد ادجوان‌ها، استفاده در افزایش قدرت ایمونوژنی واکسن‌های توکسوئیدی و کشته شده است. ادجوان‌ها با نگهداری آنتی‌ژن در محل تزریق (دپو)، غلظت آن‌را برای مدت طولانی‌تری بالا نگه می‌دارند. ادجوان، تولید سیتوکین‌های التهابی از فاگوسیت کننده‌ها، تمایز لنفوسیت‌های T کمک کننده نوع یک (Th_1) و بیان MHC کلاس II در سلول‌های عرضه کننده آنتی‌ژن را افزایش می‌دهد. همچنین منجر به بیان بیشتر، کمک محرک‌ها و مولکول‌های چسبندگی روی لکوسیت‌ها می‌شود. مهم‌ترین ویژگی ادجوان‌ها، آزاد کردن تدریجی آنتی‌ژن محلول از محل تزریق و افزایش زمان دسترسی به آنتی‌ژن است (۱, ۴).

در ادامه در مقایسه گروه‌هایی که فقط واکسن زنده را به روش اسپری، قطره چشمی و آشامیدنی دریافت کرده بودند (بدون واکسن کشته)، اختلاف آماری معناداری مشاهده نگردید. اما عیار پادتن در گروه‌های واکسینه شده با واکسن زنده به همراه واکسن کشته با هم تفاوت آماری داشتند، بدین صورت که گروه‌های واکسینه شده با روش اسپری و قطره چشمی بطور معناداری عیار بالاتری را نسبت به گروه واکسینه شده به روش آشامیدنی نشان دادند. خدایاری و فیض در مطالعه‌ایی روش‌های مختلف تجویز واکسن‌های بیماری نیوکاسل در طیور گوشتی را مقایسه کردند و در نهایت گزارش کردند که استفاده از واکسن‌های زنده بصورت قطره چشمی به همراه واکسن غیرفعال و همچنین روش اسپری به همراه واکسن غیرفعال می‌تواند بهترین پاسخ‌های ایمنی را اعمال نماید. که با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارد (۲۱). همچنین در یک تحقیق، روش‌های مختلف واکسیناسیون با واکسن‌های زنده لاسوتا و موکتسوار به روش‌های قطره چشمی و آشامیدنی مورد بررسی قرار گرفت و نهایتا عنوان شد که روش قطره چشمی به نسبت آشامیدنی عیار پادتن بالاتری را ایجاد می‌کند (۲۰, ۳۷). در مقایسه روش‌های آشامیدنی، داخل نایی و اسپری در طیور گوشتی، روش اسپری به عنوان موثرترین شیوه تجویز واکسن‌های زنده اعلام شده است (۳۲). به هرحال در مطالعات مختلف، علیرغم اینکه در روش اسپری عیار بالایی از پادتن تولید می‌شود اما نفوذ ذرات و قطرات ریز به اعماق دستگاه تنفسی و عوارض احتمالی آن و همچنین از دست رفتن ویروس در اثر تبخیر در هنگام اسپری کردن را به عنوان معایب این روش بیان کرده‌اند (۲۲, ۲۳). در مطالعه حاضر گروه‌های واکسینه شده به روش اسپری عوارضی را نشان ندادند. با توجه به برنامه واکسیناسیون استفاده شده در این مطالعه و طبق جدول ۲ در روزهای ابتدایی مطالعه، از واکسن‌های با حدت پایین استفاده گردیده است و با افزایش سن و تولید عیار پادتن محاظفت کننده در گروه‌های آزمایشی، واکسن لاسوتا تجویز گردید.

مطالعات مختلفی عنوان کرده‌اند که روش قطره چشمی نسبت به روش آشامیدنی موثرتر می‌باشد و این در حالی است که این روش گران‌تر و پرهزینه‌تر می‌باشد (۸, ۲۸, ۴۳). در واکسیناسیون به روش آشامیدنی با توجه اینکه میزان مصرف آب توسط هر پرنده قابل کنترل نمی‌باشد و به همین دلیل عیار پادتن در این روش نسبت به روش اسپری و قطره چشمی کمتر می‌باشد (۱۴, ۲۱, ۳۷). همچنین در این روش، ویروس واکسن می‌تواند وارد دستگاه گوارش شود و توسط ترشحات دستگاه گوارش تخریب گردد و از طرفی تمایل سویه‌های واکسن، بخصوص واکسن‌های استفاده شده در این مطالعه، سلول‌های دستگاه تنفسی پرنده می‌باشد که در روش آشامیدنی ویروس به سیستم تنفسی وارد نمی‌شود (۱۷, ۴۷). این در حالی است که در روش قطره چشمی علاوه بر اینکه هر پرنده یک دوز واکسن دریافت می‌کند، غدد هادرین در پشت چشم نیز تحریک می‌شود و منجر به تحریک ایمنی موضعی و تولید ایمونوگلوبولین‌های IgA و IgM می‌شود (۳۵, ۴۰-۴۲).

در این مطالعه از جیره آغازین شامل سه سطح پودر رزماری به منظور بررسی تاثیر آن بر پاسخ ایمنی هومورال استفاده گردید. همان‌طور که در شکل ۱، ۲ و۳ مشاهده می‌شود سطوح مختلف رزماری تاثیری بر نتایج حاصل از تست مهار هماگلوتیناسیون و عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل ندارد. در مطالعه‌ایی عنوان شد که استفاده از پودر رزماری و ویتامین E تاثیر جزیی بر بهبود پاسخ های ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی دارد اما این پاسخ‌ها بصورت معنادار نمی‌تواند محافظت کننده باشد (۳۸). همچنین عنوان شده است که استفاده از غلظت بالای اسانس روغنی رزماری و سیر می‌تواند باعث افزایش لوکوسیت‌های خون و فعالیت بیگانه‌خواری گردد اما تاثیری بر عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل ندارد (۹). در هر صورت در مطالعات مختلف که اثر پودر رزماری را بر عیار پادتن ضد ویروس بیماری نیوکاسل در جوجه گوشتی را مورد بررسی قرار داده‌اند نتایجی مانند یافته‌های مطالعه حاضر را گزارش داده‌اند (۵, ۹, ۱۹, ۴۵). اما تا بحال مطالعه‌ایی مبنی بر استفاده از پودر رزماری در جیره کبک و تاثیرگذاری بر ایمنی هومورال انجام نگرفته است.

نتیجه گیری

در نهایت نتایج تحقیق حاضر نشان داد که تغذیه کبک با سطوح مختلف پودر رزماری تاثیری بر پاسخ ایمنی هومورال ندارد. طبق یافته‌های این مطالعه روش‌های مختلف واکسیناسیون در بیماری نیوکاسل می‌تواند بر پاسخ ایمنی هومورال تاثیرگذار باشد. بر همین اساس، استفاده از واکسن‌های غیرفعال به همراه واکسن‌های زنده منجر به تولید عیار پادتن به میزان بالاتری نسبت به استفاده از واکسن‌های زنده بصورت تنهایی می‌شوند. همچنین گروه‌های دریافت کننده واکسن‌های زنده به روش‌های قطره چشمی و اسپری به نسبت گروه‌های واکسینه شده به روش آشامیدنی قدرت بیشتری در تحریک سیستم ایمنی هومورال را دارند و به طور معناداری عیار پادتن در این گروه‌ها بالاتر بود. در این مطالعه با افزایش سن، تاثیر روش‌های واکسیناسیون بر پاسخ ایمنی هومورال قابل ملاحضه‌تر بود و بر همین اساس بررسی تاثیر روش‌های واکسیناسیون در دوره رشد و دوره تولید، لازم بنظر می‌رسد.

قدردانی و تشکر

بودجه مورد نیاز برای انجام این مطالعه از منابع مرتبط با پژوهانه دانشگاه اردکان تأمین گردید که بدینوسیله تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

1. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. Cellular and molecular immunology 8th edition. Philadelphia: Saunders Elsevier; 2015.

2. Adade E, Emikpe B, Folitse R, Boakye O, Adusei K, Debrah S. Pattern of waning of maternal antibodies against newcastle disease of chicks from selected hatcheries in Kumasi, Ghana. Bull Anim Health Prod Afr. 2017;65(2):305-311.

3. Alexander D. Newcastle disease and other avian paramyxoviruses. Rev Sci Tech. 2000;19(2):443-455.

4. Awate S, Babiuk LAB, Mutwiri G. Mechanisms of action of adjuvants. Front Immunol. 2013;4:114.

5. Bhargava K, Hanson R, Sunde M. Effects of threonine on growth and antibody production in chicks infected with Newcastle disease virus. Poult Sci. 1971;50(3):710-713.

6. Bwala DG, Abolnik C, Van Wyk A, Cornelius E, Bisschop S. Efficacy of a genotype 2 Newcastle disease vaccine (Avinew®) against challenge with highly virulent genotypes 5d and 3d. J S Afr Vet Assoc. 2009;80(3):174-178.

7. Capua I, Alexander DJ. Avian influenza and Newcastle disease: a field and laboratory manual: Springer Science & Business Media; 2009.

8. Collett SR, Smith JA, Boulianne M, Owen RL, Gingerich E, Singer RS, Johnson TJ, Hofacre CL, Berghaus RD, Stewart-Brown B. Principles of disease prevention, diagnosis, and control. Diseases of poultry. 2013:1-78.

9. El-Latif ASA, Saleh NS, Allam TS, Ghazy EW. The effects of rosemary (Rosemarinus afficinalis) and garlic (Allium sativum) essential oils on performance, hematological, biochemical and immunological parameters of broiler chickens. Br. Poult. Sci. 2013;2:16-24.

10. Erdmann ME, Lautenschlaeger R, Zeeb B, Gibis M, Weiss J. Effect of differently sized O/W emulsions loaded with rosemary extract on lipid oxidation in cooked emulsion-type sausages rich in n-3 fatty acids. Lwt-Food Sci Technol. 2017;79:496-502.

11. Getabalew M, Alemneh T, Akeberegn D, Getahun D, Zewdie D. Epidemiology, Diagnosis & Prevention of Newcastle Disease in Poultry.

12. Gharaibeh S, Mahmoud K. Decay of maternal antibodies in broiler chickens. Poult Sci. 2013;92(9):2333-2336.

13. Ghozlan S, El-Far A, Sadek K, Abourawash A, Abdel-Latif M. Effect of rosemary (Rosmarinus officinalis) dietary supplementation in broiler chickens concerning immunity, antioxidant status, and performance. Alex J Vet Sci. 2017;55(1):152-161.

14. Glisson J. Multicausal respiratory diseases. Diseases of Poultry 13th ed DE Swayne, JR Glisson, LR McDougald, LK Nolan, DL Suarez and V Nair (eds) Iowa: Wiley-Blackwell. 2013:1320-1322.

15. Hashemi S, Davoodi H. Herbal plants as new immuno-stimulator in poultry industry: A review. Asian J Anim Vet Adv. 2012;7(2):105-116.

16. Hines NL, Miller CL. Avian paramyxovirus serotype-1: a review of disease distribution, clinical symptoms, and laboratory diagnostics. Vet. Med. In. 2012;2012.

17. Irena LN, Mazija H, Šimpraga M, Štoković I, Tajana AZ, Vojta A. Effects of various application routes of Newcastle disease vaccine on specific antibody titres in ostriches. Acta Vet Brno. 2008;58.

18. Jalil M, Samad M, Islam M. Evaluation of maternally derived antibodies against Newcastle disease virus and its effect on vaccination in broiler chicks. Bangladesh j. vet. med. 2009;7(2):296-302.

19. Khaligh F, Sadeghi G, Karimi A, Vaziry A. Evaluation of different medicinal plants blends in diets for broiler chickens. J Med Plant Res. 2011;5(10):1971-1977.

20. Khodayari M, Feizi A. Evaluation of Different routes of vaccination by Avinew vaccine on humoral antibody response by HI and ELISA method. J. Livest. Sci. (ISSN online 2277-6214). 2017;8:216-220.

21. Khodayari M, Feizi A. Evaluation of different routes of vaccination by clone vaccine on humoral antibody response. Explor Anim Med Res. 2017;7(2):165-169.

22. Landman W, Vervaet C, Remon J, Huyge K, Van Eck J. Primary Newcastle disease vaccination of broilers: comparison of the antibody seroresponse and adverse vaccinal reaction after eye–nose drop or coarse spray application, and implication of the results for a previously developed coarse dry powder vaccine. Avian Pathol. 2017;46(4):451-461.

23. Lim M. Newcastle Disease Vaccines. Commercial Plant-Produced Recombinant Protein Products. 68. Berlin Heidelberg: Springer; 2014. DOI 101007/978-3-662-43836-7-10.

24. Lin M, Chung Y, Hung S, Cheng M, Sung H. Comparison of the immunity conferred by different vaccination programs and routes of commercial Newcastle disease vaccines against challenge with recent isolates of velogenic viscerotropic Newcastle disease virus from Taiwan. Journal of the Chinese Society of Veterinary Science. 1990;16(1):33-45.

25. Miller PJ, Afonso CL, El Attrache J, Dorsey KM, Courtney SC, Guo Z, Kapczynski DR. Effects of Newcastle disease virus vaccine antibodies on the shedding and transmission of challenge viruses. Dev Comp Immunol. 2013;41(4):505-513.

26. Miller PJ, Estevez C, Yu Q, Suarez DL, King DJ. Comparison of viral shedding following vaccination with inactivated and live Newcastle disease vaccines formulated with wild-type and recombinant viruses. Avian Dis. 2009;53(1):39-49.

27. Miller PJ, King DJ, Afonso CL, Suarez DL. Antigenic differences among Newcastle disease virus strains of different genotypes used in vaccine formulation affect viral shedding after a virulent challenge. Vaccine. 2007;25(41):7238-7246.

28. Miller PJ, Koch G. Newcastle disease. In: Swayne DE, Glisson, J.R., McDougald, L.R., Nolan, L.K., Suarez, D.L., Nair, V.L., editor. Diseases of poultry. 13 ed. Wiley-Blackwell in partnership with the American Association of Avian Pathologists.2013. p. 89-138.

29. Mohammadi A, Hooshmand-Rad P, Ahourae P, Momayies-Siahkal R, Taleb-Shooshtary A, Charkhkar S, Ebrahimil M, Ghodsian N. Development and Manufacture of an Inactive OH Emulsion Newcastle Disease Vaccine in Iran. Arch. Inst. RAZI 1996; 46/47: 91-96.

30. Oni O, Adedipe O. Role of maternally derived antibody in Newcastle disease vaccination. Niger Vet J. 2012;33(2).

31. Osman M, Yakout H, Motawe H, El-Arab WE. Productive, physiological, immunological and economical effects of supplementing natural feed additives to broiler diets. Egypt. Poult. Sci. J. 2010;30(1):25-53.

32. Partadiredja M, Eidson C, Kleven S. A comparison of immune responses of broiler chickens to different methods of vaccination against Newcastle disease. Avian dis. 1979:622-633.

33. Paulillo AC, Schmidt E, Denadal J, Lima FS, Dorretto L. Experimental vaccination against Newcastle disease in Japanese quails (Coturnix coturnix japonica): Clinical and immunological parameters. Int J Poult Sci. 2009;8(1):52-54.

34. Paulillo AC, Schmidt EMdS, Silva GSd, Denadai J, Junior LD, Meireles MV. Clinical and immunological aspects of Newcastle disease vaccination in partridges (Rhynchotus rufescens). Int J Poult Sci. 2008;7:1011-1012.

35. Payne A. The harderian gland: a tercentennial review. J Anat. 1994;185(Pt 1):1.

36. Rad MD, Behbahan NGG, Jula GM. Serological Survey of Newcastle Disease Virus in Chukar Partridges by Vaccination with Inactivated Oil Adjuvant Vaccine Following Use of Live Vaccines. Int J Anim Vet Adv. 2012;4(3):176-180.

37. Rehmani SF. Newcastle disease vaccination: a comparison of vaccines and routes of administration in Pakistan. Prev Vet Med. 1996;25(3-4):241-248.

38. Rostami H, Seidavi A, Dadashbeiki M, Asadpour Y, Simões J, Shah AA, Laudadio V, Losacco C, Perillo A, Tufarelli V. Supplementing dietary rosemary (Rosmarinus officinalis L.) powder and vitamin E in broiler chickens: evaluation of humoral immune response, lymphoid organs, and blood proteins. Environ Sci Pollut Res. 2018;25(9):8836-8842.

39. Roy P, Koteeswaran A, Sridevi P, Venugopalan A. Comparison of Newcastle disease vaccines by serology using serum, tears and feather pulp samples. Trop Anim Health Pro. 1998;30(1):31-35.

40. Russell P. Newcastle disease virus: virus replication in the Harderian gland stimulates lacrimal IgA; the yolk sac provides early lacrimal IgG. Vet Immunol Immunopathol. 1993;37(2):151-163.

41. Russell P, Koch G. Local antibody forming cell responses to the Hitchner B1 and Ulster strains of Newcastle disease virus. Vet Immunol Immunopathol. 1993;37(2):165-180.

42. Salam R, Aslam A, Khan S, Saeed K, Saleem G. Effect of different routes of vaccination against new-castle disease on lymphoid organs of broilers. Pak Vet J. 2003.

43. Sasipreeyajan J, Areeraksakul P, Khanda S. Protective Efficacy of Live LaSota Strain Newcastle Disease Virus Vaccine in Layer-type Chickens. Wetchasan Sattawaphaet. 2016;46(2):195-200.

44. Senne D, King D, Kapczynski° D. Control of Newcastle disease by vaccination. Dev Biol Basel. 2004;119:165-170.

45. Soltani M, Tabeidian SA, Ghalamkari G, Adeljoo AH, Mohammadrezaei M, Fosoul SSAS. Effect of dietary extract and dried areal parts of Rosmarinus officinalis on performance, immune responses and total serum antioxidant activity in broiler chicks. Asian Pac J Trop Dis. 2016;6(3):218-222.

46. Swayne DE, Glisson JR. Diseases of poultry. Ames, Iowa: Wiley-Blackwell; 2013.

47. Tizard IR. Veterinary Immunology-E-Book: Elsevier Health Sciences; 2013.

48. van Boven M, Bouma A, Fabri TH, Katsma E, Hartog L, Koch G. Herd immunity to Newcastle disease virus in poultry by vaccination. Avian pathol. 2008;37(1):1-5.

49. Warden D, Furminger I, Robertson W. Immunising chicks against Newcastle disease by concurrent inactivated oil-emulsion and live B1 vaccines. Vet Rec. 1975;96(3):65-66.

50. Yi J, Liu C, Chen B, Wu S. Molecular characterization of a virulent genotype VIId strain of Newcastle disease virus from farmed chickens in Shanghai. Avian dis. 2011;55(2):279-284.

51. Zhang L, Wang W, Wang S. Effect of vaccine administration modality on immunogenicity and efficacy. Expert Rev Vaccines. 2015;14(11):1509-1523.

جدول-۱: ترکیب جیره استفاده شده در گروه‌های مختلف کبک در دوره آغازین

اجزای جیره (٪)	*تیمارها مختلف		
	۱	۲	۳
ذرت	۵۰/۸	۵۰/۸	۵۰/۸
کنجاله سویا	۳۸/۸	۳۸/۸	۳۸/۸
پودر ماهی	۴/۴	۴/۴	۴/۴
دی کلسیم فسفات	۰/۸	۰/۸	۰/۸
کربنات کلسیم	۱/۲	۱/۲	۱/۲
چربی	۲/۵	۲/۵	۲/۵
دی- ال- متیونین	۰/۲	۰/۲	۰/۲
ال- لیزین	۰/۱	۰/۱	۰/۱
***مکمل ویتامینی و معدنی	۱	۱	۱
نمک طعام	۰/۲	۰/۲	۰/۲
پودر رزماری	۰	۰/۵	۱/۵
ترکیبات محاسبه شده			
انرژی(کیلوکالری/کیلوگرم)	۲۹۰۰	۲۹۰۰	۲۹۰۰
پروتئین (٪)	۲۴	۲۴	۲۴
کلسیم (٪)	۱	۱	۱
فسفر قابل دسترس (٪)	۰/۴۹	۰/۴۹	۰/۴۹
متیونین (٪)	۰/۶	۰/۶	۰/۶
لیزین (٪)	۱/۵۳	۱/۵۳	۱/۵۳
متیونین+ سیتئین (٪)	۰/۹	۰/۹	۰/۹

*: میزان اقلام خوراکی استفاده شده بر حسب کیلوگرم در هر ۱۰۰ کیلوگرم دان می باشد

**: در این مطالعه از سه جیره با سطوح مختلف از پودر رزماری در دروه آغازین استفاده گردید.

***: هر کیلوگرم از مکمل دوقلوی ویتامینه و معدنی حاوی: ۱۸۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین A، ۴۰۰۰۰۰ واحد بین المللی ویتامین D۳، ۳۶۰۰ واحد بین المللی ویتامین E، ۴۰۰ میلی گرم ویتامین K، ۳۶۰ میلی گرم تیامین، ۱۲۳۰ میلی گرم ریبوفلاوین، ۶۰۰۰ میلی گرم نیاسین، ۲۰۰۰ میلی گرم پانتوتونیک اسید، ۶۰۰ میلی گرم پیریدوکسین، ۲۰۰ میلی گرم فولیک اسید، ۳ میلی گرم کوبالامین، ۲۰ میلی گرم بیوتین، ۱۰۰ میلی گرم آنتی اکسیدان، ۸۰۰۰۰ میلی گرم کولین، ۱۰۰۰۰ میلی گرم آهن، ۲۰۰۰۰ میلی گرم منگنز، ۱۷۰۰۰ میلی گرم روی، ۲۰۰۰ میلی گرم مس، ۴۰ میلی گرم سلنیوم، ۲۰۰ میلی گرم ید.

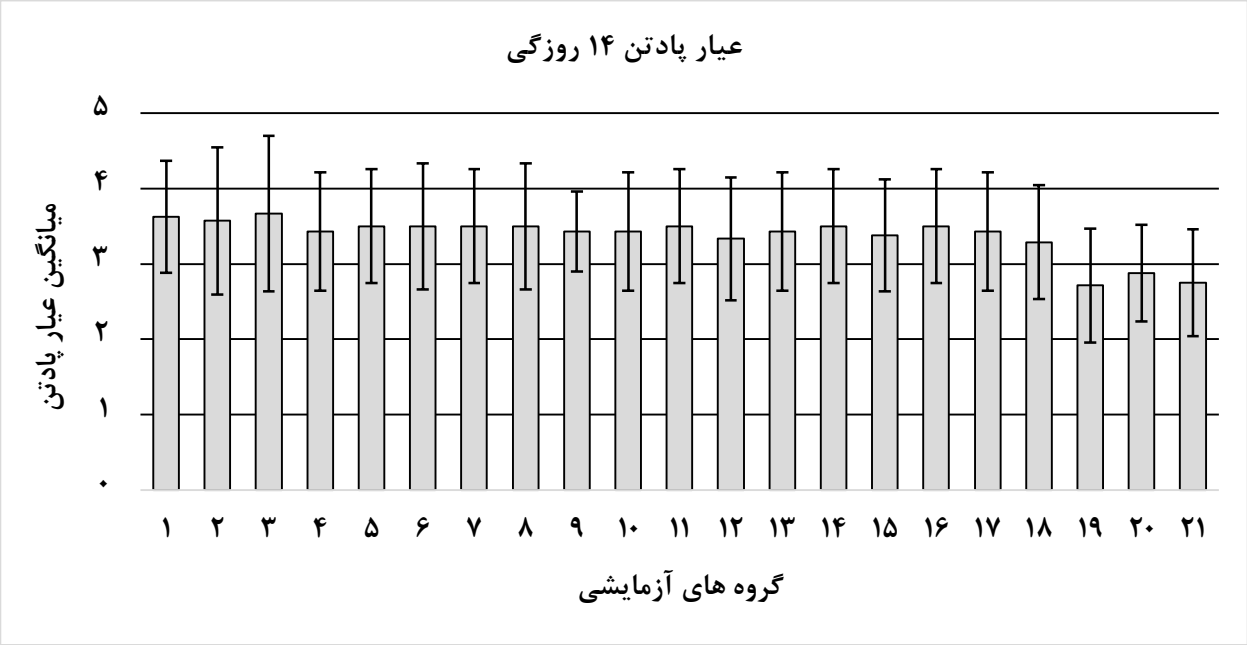
جدول-۲: برنامه واکسیناسیون، روش‌های تجویز و نوع واکسن‌های استفاده شده در روزهای مختلف در دروه آغازین جوجه‌های کبک نژاد چوکار

	سن (روز)													
	۱			۸			۱۰			۲۰			۳۵		
**روش تجویز و نوع واکسن	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	۱۳
*تیمار													
۱	+	−	−	+	−	−	+	+	−	−	+	−	−
۲	+	−	−	+	−	−	−	+	−	−	+	−	−
۳	−	+	−	−	+	−	+	−	+	−	−	+	−
۴	−	+	−	−	+	−	−	−	+	−	−	+	−
۵	−	−	+	−	−	+	+	−	−	+	−	−	+
۶	−	−	+	−	−	+	−	−	−	+	−	−	+
۷	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−	−

در این مطالعه از واکسن های زنده و غیرفعال روغنی نیوکاسل در روزهای مختلف و طبق برنامه ارائه شده در این جدول استفاده گردید. قابل ذکر است هر تیمار، سه جیره مختلف حاوی سطوح مختلف پودر رزماری را دریافت نمود.

*، **تیمار ۱:** قطره چشمی + واکسن غیرفعال، **تیمار ۲:** قطره چشمی و بدون واکسن غیرفعال، **تیمار ۳:** آشامیدنی + واکسن غیرفعال، **تیمار ۴:** آشامیدنی + بدون واکسن غیرفعال، **تیمار ۵:** اسپری + واکسن غیرفعال، **تیمار ۶:** اسپری + بدون واکسن غیرفعال، **تیمار ۷:** کنترل (بدون واکسن).

، **روش تجویز ۱: قطره چشمی (B_1)، **روش تجویز۲:** آشامیدنی (B_1)، **روش تجویز ۳:** اسپری (B_1)، **روش تجویز ۴:** قطره چشمی (B_1)، **روش تجویز ۵:** آشامیدنی (B_1)، **روش تجویز ۶:** اسپری (B_1)، **روش تجویز ۷:** تزریقی (واکسن غیرفعال روغنی نیوکاسل) **روش تجویز ۸:** قطره چشمی (کلون)، **روش تجویز ۹:** آشامیدنی (کلون)، **روش تجویز ۱۰:** اسپری (کلون)، **روش تجویز ۱۱:** قطره چشمی (لاسوتا)، **روش تجویز ۱۲:** آشامیدنی (لاسوتا)، **روش تجویز۱۳:** اسپری (لاسوتا).

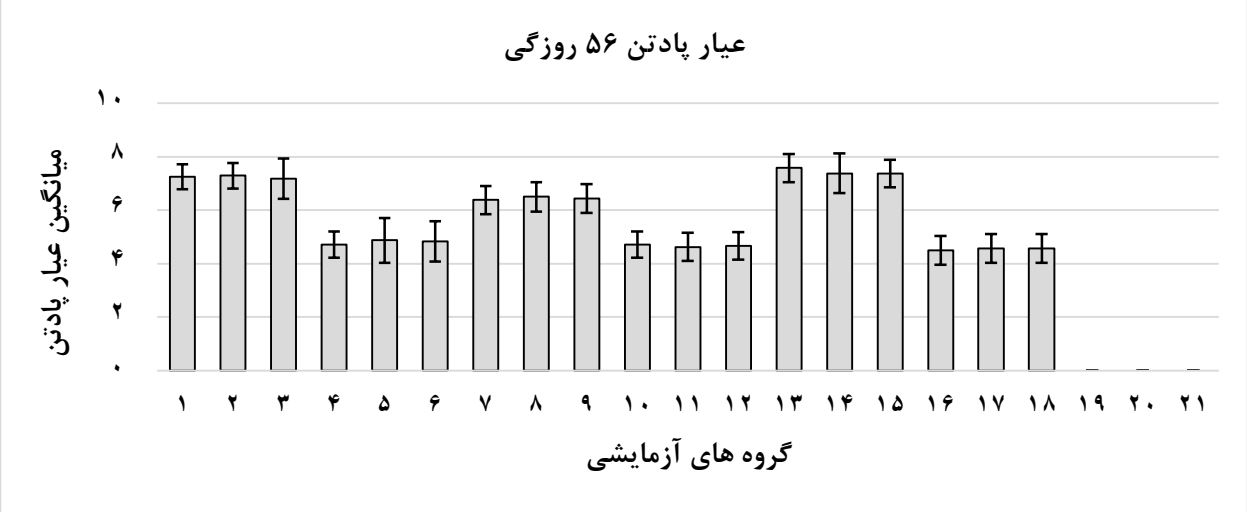


شکل-۱: مقایسه تاثیر روش‌های مختلف واکسیناسیون و سطوح مختلف پودر رزماری در جیره کبک‌های نژاد چوکار بر عیارپادتن ضد ویروس نیوکاسل بدست آمده توسط آزمایش مهارهماگلوتیناسیون در ۱۴ روزگی. (نتایج بصورت میانگین ± انجراف از معیار بیان شده است). قطره چشمی (**E**)، اسپری (**S**)، آشامیدنی (**D**)، غیرفعال تزریقی (**IN**)، پودر رزماری ۰٪ (**R۱**)، پودر رزماری۰/۵٪ (**R۲**)، پودر رزماری ۱/۵٪ (**R۳**). کنترل (**C**).

گروه ۱: E، IN، R۱ ؛ **گروه ۲**: E، IN، R۲؛ **گروه ۳**: E، IN، R۳؛ **گروه ۴**: E، R۱ ؛ **گروه ۵**: E، R۲؛ **گروه ۶**: E، R۳؛ **گروه ۷**: D، IN، R۱؛ **گروه ۸**: D، IN، R۲؛ **گروه ۹**: D، IN، R۳؛ **گروه ۱۰**: D، R۱؛ **گروه ۱۱**: D، R۲؛ **گروه ۱۲**: D، R۳؛ **گروه ۱۳**: S، IN، R۱؛ **گروه ۱۴**: S، IN، R۲؛ **گروه ۱۵**: S، IN، R۳؛ **گروه ۱۶**: S، R۱؛ **گروه ۱۷**: S، R۲؛ **گروه ۱۸**: S، R۳؛ **گروه ۱۹**: C، R۱؛ **گروه ۲۰**: C، R۲؛ **گروه ۲۱**: C، R۳.

شکل-۲: مقایسه تاثیر روش‌های مختلف واکسیناسیون و سطوح مختلف پودر رزماری در جیره کبک‌های نژاد چوکار بر عیارپادتن ضد ویروس نیوکاسل بدست آمده توسط آزمایش مهارهماگلوتیناسیون در ۲۸ روزگی. (نتایج بصورت میانگین ± انحراف از معیار بیان شده است) .قطره چشمی (E)، اسپری (S)، آشامیدنی (D)، غیرفعال تزریقی (IN)، پودر رزماری ۰٪ (R۱)، پودر رزماری۰/۵٪ (R۲)، پودر رزماری ۱/۵٪ (R۳). کنترل (C).

گروه ۱: E، IN، R۱ ؛ **گروه ۲**: E، IN، R۲؛ **گروه ۳**: E، IN، R۳؛ **گروه ۴**: E، R۱ ؛ **گروه ۵**: E، R۲؛ **گروه ۶**: E، R۳؛ **گروه ۷**: D، IN، R۱؛ **گروه ۸**: D، IN، R۲؛ **گروه ۹**: D، IN، R۳؛ **گروه ۱۰**: D، R۱؛ **گروه ۱۱**: D، R۲؛ **گروه ۱۲**: D، R۳؛ **گروه ۱۳**: S، IN، R۱؛ **گروه ۱۴**: S، IN، R۲؛ **گروه ۱۵**: S، IN، R۳؛ **گروه ۱۶**: S، R۱؛ **گروه ۱۷**: S، R۲؛ **گروه ۱۸**: S، R۳؛ **گروه ۱۹**: C، R۱؛ **گروه ۲۰**: C، R۲؛ **گروه ۲۱**: C، R۳.



شکل-۳: مقایسه تاثیر روش‌های مختلف واکسیناسیون و سطوح مختلف پودر رزماری در جیره کبک‌های نژاد چوکار بر عیارپادتن ضد ویروس نیوکاسل بدست آمده توسط آزمایش مهارهماگلوتیناسیون در ۵۶ روزگی. (نتایج بصورت میانگین ± انحراف از معیار بیان شده است). قطره چشمی (**E**)، اسپری (**S**)، آشامیدنی (**D**)، غیرفعال تزریقی (**IN**)، پودر رزماری ۰٪ (**R۱**)، پودر رزماری۰/۵٪ (**R۲**)، پودر رزماری ۱/۵٪ (**R۳**). کنترل (**C**).

گروه ۱: E، IN، R۱ ؛ **گروه ۲**: E، IN، R۲؛ **گروه ۳**: E، IN، R۳؛ **گروه ۴**: E، R۱ ؛ **گروه ۵**: E، R۲؛ **گروه ۶**: E، R۳؛ **گروه ۷**: D، IN، R۱؛ **گروه ۸**: D، IN، R۲؛ **گروه ۹**: D، IN، R۳؛ **گروه ۱۰**: D، R۱؛ **گروه ۱۱**: D، R۲؛ **گروه ۱۲**: D، R۳؛ **گروه ۱۳**: S، IN، R۱؛ **گروه ۱۴**: S، IN، R۲؛ **گروه ۱۵**: S، IN، R۳؛ **گروه ۱۶**: S، R۱؛ **گروه ۱۷**: S، R۲؛ **گروه ۱۸**: S، R۳؛ **گروه ۱۹**: C، R۱؛ **گروه ۲۰**: C، R۲؛ **گروه ۲۱**: C، R۳.

Efficacy of Newcastle Disease Vaccination Routs and Enrichment of the Diet by Rosemary Powder on Humoral Immune Response in Chukar Partridges

Abstract

Newcastle is a highly contagious and deadly disease in the bird species, including partridges. Vaccine administration is one of the most important indicators of disease management. On the other hand, immune responses could be influenced direct or indirect by different herbal ingredients. In this study 630 Chukar partridges were divided into 21 groups. Then, live (B1, Clone and Lasota) and inactivated Newcastle disease vaccines were used at 1, 8, 10, 20 and 35 days of age by spray, eye drop, drinking and injection methods. The birds were fed with diets containing different levels of rosemary powder (0.5, 1, 1.5 %) till to 56 days of age as starter diet. Next, blood samples were collected from the wing vein of the birds at 14, 28 and 56 days of age, and antibody titer was calculated by using Hemagglutination Inhibition (HI) test. Treatments that were vaccinated with live and inactivated vaccines, demonstrated higher antibody production compared to live vaccines alone ($P < 0.05$). Also, groups receiving live vaccines by eye drop and spray methods showed more potency in stimulating the humoral immune system than those vaccinated by drinking ($P < 0.05$). Feeding partridges with different levels of rosemary powder had no effect on the level of antibody in different groups. According to the results of this study, the higher antibody titer could be produced by using live vaccines through the spray and eye drop approaches in combination with the inactivated vaccine than drinking water.

Keywords: Newcastle disease, partridge, vaccine, administration route, antibody, rosemary

Abbreviation

HI: Hemagglutination Test

E: Eye Drop

D: Drinking water

S: Spray

IN: Injection

R: Rosemary Powder

APMV1: Avian Paramyxovirus serotype 1

L: large polymerase protein

F: Fusion glycoprotein

OIE: Office International des Epizooties or World Organization for Animal Health

PBS: Phosphate-buffered saline

SPF: Specific-Pathogen-Free

Th1: T-helper lymphocyte type one

MHC: Major histocompatibility complex

IgM: Immunoglobulin M

IgA: Immunoglobulin G