عنوان : پاسخ آنتی بادی شتر مرغ به واکسن روغنی نیوکاسل تولید مؤسسه رازی

چکیده

شتر مرغ (Struthio camelus) از جمله گونه‌های حساس به نیوکاسل است که بنابر گزارش‌های وقوع آن در شتر مرغ در ایران می‌تواند از جمله بیماری‌های مشکل ساز برای این صنعت باشد. هدف اولیه از انجام این مطالعه ارزیابی پاسخ آنتی بادی شتر مرغ به برنامه و دوز مورد نظر از واکسن نیوکاسل تولیدی موسسه رازی بود. برای این منظور تعداد ۳۰ قطعه جوجه شتر مرغ نژاد گردن سیاه آفریقایی در ۵ تیمار مختلف بررسی شد. در سه گروه واکسن رازی به میزان ۵، ۱۰، و ۱۵ دوز و واکسن خارجی کشته نیوکاسل روغنی به میزان ۵ دوز در دو نوبت در ۲۸ روزگی و ۴۸ روزگی و گروه شاهد بدون واکسیناسیون بود. خون‌گیری در سه نوبت شامل پیش از هر نوبت واکسن و ۲۰ روز پس از واکسن دوم انجام شد. مقایسه آماری نتایج الیزای نیوکاسل نشان داد که میانگین تیتر مرحله دوم با اول و مرحله سوم با دوم اختلاف آماری معنی‌داری دارد. به عبارت دیگر روند تیتر در طول زمان دارای اختلاف آماری معنی‌داری است هر چند بین گروه‌های واکسینه اختلاف معنی‌داری مشاهده نمی شود. مقایسه آماری گروه غیر واکسینه نشان دهنده اختلاف معنی‌دار سطح تیتر آنتی بادی ضد نیوکاسل با سایر گروه‌های واکسینه با دوز های مختلف است. بر این اساس و با توجه به حجم واکسن تزریقی این مطالعه تزریق ۵ دوزی را در تزریق اول در سن ۴-۲ هفتگی و تزریق ۱۰ دوزی را در تزریقات بعدی در سنین بالاتر توصیه می‌کند.

واژه‌های کلیدی: شتر مرغ، بیماری نیوکاسل، الایزا، ممانعت از هماگلوتیناسیون، آنتی بادی، واکسن

مقدمه

نیوکاسل از جمله مهم‌ترین بیماری‌های عفونی پرندگان در سراسر دنیاست که توسط گونه‌های جنس *Avulavirus* از خانواده *Paramyxoviridae* ایجاد می‌شود. به دلیل حدت و میزان واگیری بالا، بیماری نیوکاسل در لیست A بیماری‌های سازمان OIE آورده شده است(۱۶). بیماری در ایران بسیار شایع است و عامل خسارت‌های فراوان در صنعت مرغداری است که به منظور پیش‌گیری از آن، واکسیناسیون در تمامی مزارع پرورش انجام می‌شود. در سال ۱۳۲۹ (۱۹۵۰ میلادی) بیماری نیوکاسل از سوی موسسه رازی با تزریق نمونه آلوده به ویروس از آلودگی در شهرستان تبریز به جوجه‌های مستعد و سپس تلقیح مواد مظنون به تخم مرغ‌های جنین‌دار و موفقیت در جداسازی و شناسایی ویروس بیماری نیوکاسل، رسماً گزارش گردید (۲). بیماری در شتر مرغ اولین بار در سال ۱۳۸۱ از سوی ممیز و همکاران در مؤسسه رازی شناسایی و گزارش گردید. شیوع بیماری در ایران هم‌زمان با افزایش پرورش طیور و توسعه صنعت مرغداری بود و به همین علت بیماری در مدت کوتاهی در سراسر ایران گسترش یافت. امروزه بیماری در ایران به صورت اندمیک و بعضی اوقات به صورت اپی‌زوتیک در ماکیان بروز می کند. شتر مرغ (*Struthio camelus*) نیز از جمله گونه‌های حساس به نیوکاسل است که گزارش‌های متعددی از وقوع بیماری در مزارع پرورش منتشر شده است. بنابر گزارش‌ها وقوع بیماری و جداسازی ویروس نیوکاسل از شتر مرغ در ایران و با توجه به توسعه و رشد مزارع پرورش شتر مرغ، این بیماری می تواند از جمله بیماری‌های مشکل ساز برای تولید کنندگان این صنعت به شمار آید. علایم عصبی مانند عدم توانایی در نگاه داشتن سر و گردن علایم درمانگاهی غالب در بیماری نیوکاسل در شتر مرغ هستند. معمولا شدت بیماری نیوکاسل در شتر مرغ در مقایسه با مرغ کمتر و میزان تلفات در آن متغیر است. بیماری نیوکاسل در شتر مرغ درگیری سیستم تنفسی ندارد؛ بنابراین انتقال بیماری از طریق هوا نیز اتفاق نمی‌افتد. با توجه به اندازه جثه بزرگ طول دوره پرورش و نوع نگه‌داری انتظار می‌رود که برنامه واکسیناسیون و از جمله دوز مصرف آن متفاوت از دوز مرغی باشد. آنتی‌بادی‌هایی که میزبان را در برابر بیماری محافظت می‌کنند را می‌توان با تست خنثی‌سازی ویروس (Virus Nutralization) تشخیص داد و اندازه‌گیری کرد (۱۴). با توجه به آنکه در خصوص ویروس نیوکاسل مشاهده شده که افزایش آنتی‌بادی‌های مسئول VN موازی با افزایش آنتی‌بادی‌های مسئول HI است، تست اخیر مکرراً برای

سنجش پاسخ ایمنی هومورال به‌ویژه بعد از واکسیناسیون به کار می‌رود. سرعت کاهش تیتر آنتی‌بادی‌ها بسته به تیتر ایجاد شده متفاوت است؛ ولی نسبت به تولیدشان بسیار کندتر صورت می‌گیرد به طوری که آنتی‌بادی‌های مسئول HI ممکن است تا مدت یک سال در طیور بهبود یافته از عفونت ناشی از سویه‌های مزوژنیک یا بعد از یک نوبت واکسیناسیون، قابل شناسایی باقی بمانند (۵و۸). آنتی‌بادی‌های در گردش به تنهایی قادر به جلوگیری از عفونت بافت پوششی دستگاه تنفس به ویروس نیوکاسل نیستند؛ ولی در محدود کردن عفونت به این مناطق و جلوگیری از پخش آن بسیار مؤثرند (۹و۱۰).

الف) تست‌های هماگلوتیناسیون(HA) و ممانعت از هماگلوتیناسیون(HI):

برای انجام تست HI ابتدا باید تست HA انجام شود و عیار ویروس آنتی ژن مشخص گردد.

تست HI: تیترهای HI برای ارزیابی وضعیت ایمنی گله استفاده می‌شود. در گله‌های واکسینه شده با بررسی سرولوژی با تست HI، این تیترها نشان دهنده وضعیت مصون بودن یا نبودن گله است (۵).

ب) تست الایزا ELISA

روش آزمایشگاهی الایزا، یکی از راه‌های دقیق تشخیص آنتی بادی ضد عامل بیماری نیوکاسل که امروزه کاربرد وسیعی پیدا کرده است.

هدف از این مطالعه ارزیابی پاسخ آنتی بادی شتر مرغ به دوزهای مختلف از واکسن کشته روغنی نیوکاسل تولیدی موسسه رازی و ارایه رژیم واکسیناسیون نیوکاسل مناسب در شتر مرغ به منظور ایجاد ایمنی محافظت کننده و مقاومت در برابر بیماری نیوکاسل بود.

مواد و روش کار

به منظور بررسی پاسخ آنتی بادی جوجه های شتر مرغ به دز های مختلف واکسن روغنی نیوکاسل تولید مؤسسه رازی، و واکسن تولیدی کمپانی خارجی به عنوان کنترل، از ۳۰ قطعه جوجه شتر مرغ نژاد گردن سیاه آفریقایی استفاده شد.

در این مطالعه ۳۰ قطعه جوجه شتر مرغ انتخابی که به صورت تصادفی از هر دو جنس بود، به‌طور تصادفی ۶ قطعه در هر تیمار قرار گرفت. همان‌گونه که در جدول ۱ نشان داده شده است، مجموعا پنج تیمار مختلف بررسی شد. هر تیمار شامل ۳ تکرار و در هر تکرار ۲ قطعه جوجه بود. (مجموعا ۱۵ واحد آزمایش و در هر واحد دو قطعه جوجه بود). به تمامی تیمارها بجز گروه شاهد، ۲ نوبت واکسن به روش زیر جلدی در ناحیه گردن در سنین ۲۸ و ۴۸ روزگی تزریق شد. به گروه شاهد ۲ میلی لیتر سرم فیزیولوژی زیر جلد ناحیه گردن تزریق شد. خون‌گیری از تمامی جوجه های تحت آزمایش در سن ۲۸ روزگی، پیش از تزریق اول و در سن ۴۸ روزگی، پیش از تزریق دوم و در سن ۶۸ روزگی، ۲۰ روز پس از تزریق دوم از ورید متاتارسال انجام شد. نمونه‌های گرفته شده ۲ ساعت در دمای آزمایشگاه نگه‌داری شده و سپس با ۱۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. سرم‌های جمع آوری شده به لوله اپندورف منتقل و تا زمان انجام آزمایش‌های سرولوژیک در دمای $-20^{\circ}C$ نگه‌داری شدند.

جدول۱- گروه بندی، زمانبندی و تیمارهای انجام شده روی جوجه های تحت آزمایش

روز (سن جوجه)	۲۸ روزگی	۲۸ روزگی	۴۸ روزگی	۴۸ روزگی	۶۸ روزگی	تعداد

عملیات	خون‌گیری اول	واکسن اول	خونگیری دوم	واکسن دوم	خون‌گیری سوم	جوجه
گروه اول: واکسن رازی ۵ دوز	+	+	+	+	+	۶ قطعه
گروه دوم: واکسن رازی ۱۰ دوز	+	+	+	+	+	۶ قطعه
گروه سوم: واکسن رازی ۱۵ دوز	+	+	+	+	+	۶ قطعه
گروه چهارم: واکسن خارجی ۵ دوز	+	+	+	+	+	۶ قطعه
گروه پنجم: شاهد غیر واکسینه	+	+	+	+	+	۶ قطعه

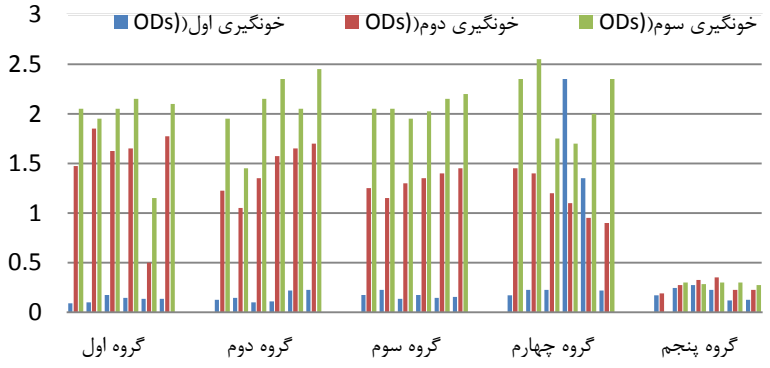
به منظور ارزیابی آنتی بادی‌های ضد ویروس نیوکاسل به دست آمده از واکسیناسیون در نمونه سرم‌های اخذ شده از روش‌های سرولوژیک آزمایش Haemagglutination Inhibition (HI) و ELISA، استفاده شد. بررسی آماری بین تیمارهای مختلف با روش GLM (General Linear Model) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزارهای EXCEL و SPSS انجام گرفت.

نتایج

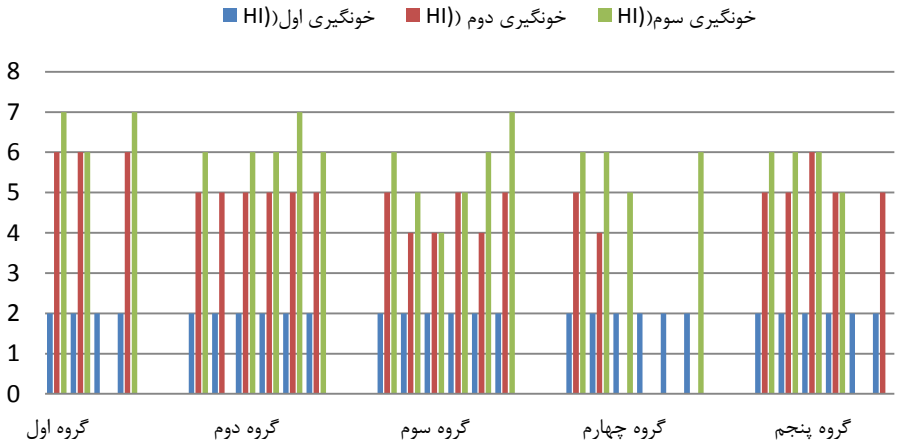
بر اساس نتایج آزمایش الایزا در خون‌گیری اول که پیش از واکسیناسیون انجام شده سطح آنتی بادی همه گروه‌ها از جمله شاهد پایین بوده است در این نوبت دو تا از جوجه‌های گروه چهارم تیتر بالاتری از بقیه داشته‌اند که احتمالا به دلیل حضور آنتی بادی مادری بوده است. در نوبت دوم خون‌گیری که سه هفته پس از تزریق اول انجام شده افزایش تیتر آنتی بادی به صورت معنی‌دار نسبت به نوبت اول خون‌گیری کاملا مشهود است. بیشترین و کمترین تیتر مربوط به گروه ۵ دوزی به ترتیب معادل ۱,۸۵ و ۰,۵است. در نوبت سوم خون‌گیری هم روند افزایشی مشاهده می‌شود و بیشترین تیتر یعنی ۲,۵۵ متعلق به گروه ۵ دوزی واکسن خارجی یعنی گروه چهارم و کمترین متعلق به گروه اول یعنی ۵ دوزی معادل ۱,۱۵می‌باشد. گروه ۱۰ دوزی واکسن موسسه رازی هم در نوبت سوم خون‌گیری تیتر بالا معادل ۲,۴۵ داشت. دو قطعه جوجه از گروه چهارم یعنی گروه واکسن خارجی به دلیل سرم کم تیترشان قابل اندازه گیری در نوبت سوم نبود (نمودار۱). اختلاف میانگین نتایج بین گروه ۱۰ و ۱۵ دوزی در نوبت سوم خون گیری معنی‌دار نبود. بنابراین می‌توان گفت طبق نتایج آزمایش الایزا روند افزایشی در طول کل دوره مطالعه مشاهده شد. میانگین تیتر الایزا نیوکاسل با نرم افزار SPSS در نمودار شماره ۳ نمایش داده شده است. طبق نتایج به دست آمده میانگین تیتر مرحله سوم با دوم اختلاف آماری معنی‌داری دارد. در مجموع در سه گروه یک، دو و سه که به ترتیب میزان دوز واکسن‌های تزریقی ۵ ، ۱۰، و ۱۵ دوز بود، سطح تیتر آنتی‌بادی روند افزایشی داشتند هرچند تفاوت معنی‌داری از نظر آماری مشاهده نشد(نمودار۳). مقایسه آماری گروه شاهد (غیر واکسینه) نشان دهنده اختلاف معنی‌دار سطح تیتر آنتی بادی ضد نیوکاسل با گروه‌های واکسینه می‌باشد به شکلی که هیچ‌گونه افزایش تیتر آنتی بادی در طول زمان انجام آزمایش مشاهده نشد.

آزمایش HI در نوبت اول به دلیل نبود سرم کافی روی سرم ۵ قطعه جوجه شتر مرغ یک ماهه بدون سابقه واکسن انجام و میانگین آن معادل عدد ۲ برای نوبت اول خون‌گیری در تمام گروه‌ها منظور شده است. در نوبت دوم خون‌گیری بین گروه‌های واکسن بیشترین تیتر در گروه چهارم و کمترین متعلق به گروه ۵ دوزی است. و در نوبت سوم بیشترین تیتر مربوط به گروه ۱۰ دوزی و کمترین متعلق به گروه ۵ دوزی است. نمونه‌های غیرقابل شناسایی در تست HI در همه گروه‌ها در هر سه مرحله وجود داشته است. مقایسه تیتر به دست آمده در دوره‌های مختلف تزریق با روش HI روند افزایش تیتر در طول زمان با وجود اختلافات به دست

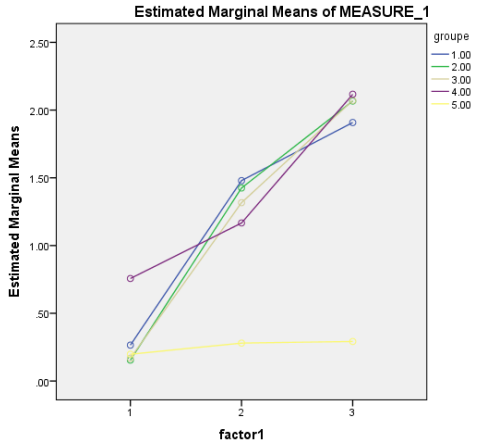
آمده اختلاف آماری معنی‌دار ندارد(نمودار ۲ و۴). مقایسه بین گروه‌های مختلف تحت آزمایش به روش HI نشان داد که تیتر آنتی بادی بین گروه ۱ (گروه واکسن ۵ دوزی رازی) با گروه ۳ (گروه واکسن ۱۵ دوزی رازی) اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد اما بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی داری وجود ندارد. میانگین تیتر HI نیوکاسل در نوبت‌های مختلف واکسیناسیون با نرم افزار SPSS در نمودار ۴ نمایش داده شده است.



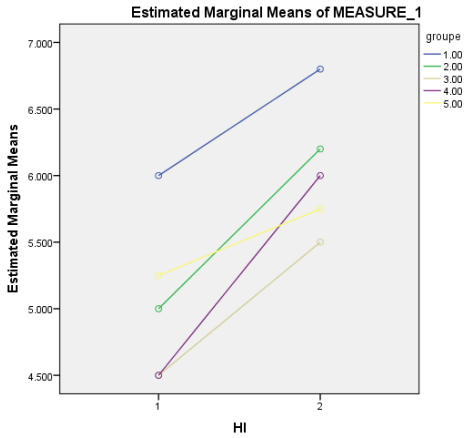
نمودار۱- سطوح تیتر آنتی بادی در سرم گروه های مختلف تحت آزمایش الایزا پس از خون گیری های اول، دوم، و سوم. (به ترتیب از چپ گروه های ۱ تا ۵)



نمودار۲- سطوح تیتر آنتی بادی در سرم گروه های مختلف تحت آزمایش HI پس از خون گیری های اول، دوم، و سوم. (به ترتیب از چپ گروه های ۱ تا ۵)



نمودار۳- نمودار میانگین تیتر الایزا نیوکاسل



نمودار۴- نمودار میانگین تیتر HI نیوکاسل

بحث

واکسیناسیون رایج‌ترین روش پیش‌گیری در برابر ابتلا به نیوکاسل است. برای این منظور از واکسن‌های مختلف زنده تخفیف حدت یافته و کشته، استفاده می‌شود. میزان تزریق و رژیم واکسیناسیون واکسن‌های مختلف بر اساس سه عامل وضعیت بیماری در منطقه، نوع و مشخصات واکسن و گونه میزبان تحت واکسیناسیون متغیر است(۸و۱۵). در این مطالعه نیز هدف دست یابی به برنامه و دوز مناسب واکسن نیوکاسل در گونه شتر مرغ و ارزیابی پاسخ آنتی بادی این پرنده‌ها به واکسن تولیدی موسسه رازی در مقایسه با واکسن مشابه خارجی بوده است. مقایسه و بررسی‌های آماری نتایج نشان دهنده توانایی واکسن‌های تحت آزمایش در افزایش سطح تیتر آنتی بادی های ضد نیوکاسل است. این افزایش در روش الایزا بسیار مشهودتر از روش HI بود که این تفاوت به دلیل حساسیت بیشتر این روش نسبت به روش HI در تعیین میزان آنتی بادی‌های ضد ویروس نیوکاسل است. بر این اساس این مطالعه روش الایزا را روش مناسب‌تری برای تعیین سطح آنتی بادی‌های ضد نیوکاسل در مطالعات واکسن معرفی می‌کند. دو قطعه از مجموع پنج قطعه جوجه تحت آزمایش گروه چهار (واکسن خارجی ۵ دوزی) قبل از تزریق واکسن سطح نسبتا بالای تیتر آنتی

بادی داشتند که احتمالا به دلیل وجود آنتی‌بادی‌های مادری است ولی به نظر نمی‌رسد که وجود این آنتی‌بادی‌ها در این دو جوجه تاثیری در روند آزمایش ایجاد کرده باشند. با توجه به این که سطح تیتر آنتی‌بادی الایزا در گروه دو یعنی گروه ۱۰ دوزی فقط به میزان ناچیزی از گروه سه؛ یعنی گروه ۱۵ دوزی پایین‌تر بود، این مطالعه تزریق ۵ دوزی را در تزریق اول در سن ۴-۲ هفتگی و تزریق ۱۰ دوزی را در نوبت‌های بعدی در ۲ ، ۶ و ۱۲ ماهگی را توصیه می کند. این الگوی تزریق منطبق بر الگوی پیشنهادی آلکساندر است که بیشتر سازمان‌های دامپزشکی دنیا این جدول را توصیه می‌کنند(۳). مقایسه روند افزایش تیتر در دوره‌های مختلف تزریق با روش HI با وجودی که در طول زمان اختلاف معنی‌داری ندارد و ظاهرا در بیشتر موارد افزایش به شکل انفرادی بوده است، با روش الایزا که روند افزایشی در طول کل دوره مطالعه مشاهده شد. عدم حساسیت کافی روش HI نسبت به روش الایزا در ارزیابی پاسخ آنتی بادی شترمرغ به ویروس بیماری نیوکاسل را نشان می‌دهد. نامناسب بودن روش HI و عدم هم‌خوانی این روش با مقاومت در برابر ابتلا به بیماری از سوی پژوهشگران دیگری نیز گزارش شده است (۶ و ۹). هر چند قبلا هم‌خوانی قابل قبول بین این دو روش در شترمرغ گزارش شده است (۱۳). به هر حال این اختلاف نظرها نشان دهنده تاثیر تکنیک‌ها و شرایط مختلف بر نتایج HI در گونه شتر مرغ است. انتخاب نوع RBC استفاده شده در روش HI از سوی برخی پژوهشگران به عنوان عاملی اثر گذار بر کارآیی روش HI است به این دلیل در مطالعه حاضر از RBC شتر مرغ استفاده شد. با این حال مطالعه‌ای دیگر روی بلدرچین نشان داد که نوع RBC تفاوتی در نتایج HI ایجاد نمی‌کند(۱). برخی مطالعات سرولوژیک در شتر مرغ حاکی از مناسب‌تر بودن روش خنثی‌سازی ویروس virus neutralization (VN) در مقایسه با سایر روش‌های سرولوژیک به دلیل ارتباط بیشتر با محافظت (protection) است (۱۵). تکنیک VN پیچیدگی‌ها و مشکلاتی دارد، زیرا در آن از کشت سلول اولیه فیبروبلاست استفاده می‌شود که تهیه آن زمان‌بر است و نتایج به دست آمده اختلافاتی (variation) را نشان می‌دهد؛ به همین دلیل در مطالعه حاضر علی‌رغم تلاش اولیه برای استفاده از تکنیک VN پس از مواجه با مشکلات تکنیکی، تصمیم به استفاده از تکنیک الایزا شد که پس از راه‌اندازی آن خوشبختانه به خوبی جواب گرفته شد.

مقایسه بین گروه‌های مختلف تحت آزمایش به روش HI نشان داد که تیتر آنتی‌بادی بین گروه ۱ (گروه واکسن ۵ دوزی رازی) با گروه ۳ (گروه واکسن ۱۵ دوزی رازی) اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد اما بین سایر گروه‌ها اختلاف معنی‌داری وجود ندارد. این اختلاف نشان دهنده ارتباط مستقیم بین دوز مصرفی واکسن و سطح تیتر ایجاد شده می‌باشد که امری کاملا پیش بینی شده است و بر اساس همین فرضیه آزمایش‌های این پروژه طراحی شد. این اختلاف نشان دهنده مناسب بودن دوز ۱۰ برای تزریق در شتر مرغ است.

مقایسه آماری نتایج HI نیوکاسل نشان داد که میانگین تیتر مرحله سوم با دوم اختلاف آماری معنی‌داری دارد. این اختلاف معنی-دار آماری نشان دهنده توانایی واکسیناسیون نوبت دوم در افزایش تیتر آنتی‌بادی‌ها به روش HI است. متاسفانه به دلیل کم بودن حجم نمونه سرم‌های گرفته شده در نوبت اول واکسیناسیون یعنی سن ۲۸ روزگی امکان انجام آزمایش به روش HI وجود نداشت و فقط پس از رقیق کردن سرم‌ها آن‌ها برای آزمایش به روش الایزا مصرف شدند. برای جبران این نقیصه تعداد ۵ نمونه سرم جوجه شترمرغ با سن یک ماهه اخذ شد و آزمایش HI انجام گرفت که همه تیتر ۲ داشتند (نتایج نشان داده نشده است). این امر نشان دهنده توانایی دوز تزریقی نوبت اول واکسن در گروه تحت آزمایش است ولی به لحاظ این که تیتر اندازه‌گیری نشده مربوط به جوجه‌های تحت آزمایش نیست پس داده‌های مربوط در جدول نتایج آورده نشد. در یک مطالعه در آفریقای جنوبی روی سرم‌های تهیه شده از شتر مرغ با روش الایزای غیر مستقیم و HI مشخص شد که روش الایزا از جهت حساسیت و ویژگی نسبت به روش HI ارجح است به طوری که روش الایزا حداقل ۱۰ بار حساس‌تر از روش HI در تعیین مقادیر کم آنتی‌بادی‌های نیوکاسل در شتر مرغ عمل می‌کند(۱۲).

برخی برنامه‌های واکسیناسیون برای شتر مرغ قبلا توصیه شده است مثلا واکسیناسیون با واکسن کشته پارامیکسوویروس که به میزان یک سی‌سی توصیه می شود. این واکسن به جوجه شترمرغ‌ها تزریق، و نوبت دوم آن شش هفته بعد تکرار می‌شود؛ سپس هر

شش ماه یک بار واکسن یادآور نیوکاسل استفاده می‌شود. در فلسطین اشغالی استفاده از واکسن زنده (لاسوتا به طریقه اسپری چشمی) همراه با واکسن کشته نتایج مطلوبی به همراه داشته است (۹).

مطالعه‌ای در آفریقای جنوبی به منظور ایجاد عفونت تجربی نیوکاسل در شتر مرغ‌های کشتاری واکسینه شده و واکسینه نشده انجام یافت، نتایج این پژوهش نقش محافظتی واکسن نیوکاسل را به خوبی نشان داد(۱۱).

در مجموع ضرورت استفاده از واکسن‌های رایج طیور و به طریقه صحیح به گله‌داران باید تفهیم شود؛ زیرا درمانی برای این بیماری در شترمرغ در نظرگرفته نمی‌شود.

منابع

1- Abdel Rhman, S.S; Al Jassem, A.H; Hussein, G.M. and Al Blowi, M.H; Comparison between Hemagglutination Inhibition Test and Enzyme Linked Immune Sorbent Assay in Evaluation of Newcastle disease Antibodies in Japanese Quails. Journal of World's Poultry Research; 2013; 3(3):83-88,.

2- Aghakhan, S.M; Abshar, N; Rasoul Nejad, S; Fereidouni, C. and Khodashenas, M; Studies on avian viral infections in Iran; Archive of Razi Institute; 45: 1-10

3- Alexander, D.J; Newcastle Disease in ostriches (*Struthio camelus*)- a review. Avian pathology; 1994;29: 95-100.

4- Alexander, D.J; Senne, D.A; Newcastle Disease and Other Avian Paramyxoviruses. *In*: A Laboratory Manual for the Isolation, Identification and Characterization of Avian Pathogens; Dufour-Zavala L. (Editor in Chief) Swayne D.E; Glisson J.R; Jackwood M.W; Pearson J.E; Reed W.M. and Woolcock P.R; 4th Ed; American Association of Avian Pathologists, Athens, GA; 2008; Pp: 135–141.

5- Berinstein, A; Vazquez-rovere, C; Asurmendi, S; Gomez, E; Zanetti, F. and Zabal, O; Mucosal and systemic immunization elicited by Newcastle disease virus (NDV) transgenic plants as antigens.Vaccine; 2005; 23: 5583–5589.

6- Brown, J; Resurreccion, R.S. and Dikson, T.G; The relationship between the hemagglutination-inhibition test and the enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of antibody to Newcastle disease. Avian Diseases; 1990; 34 (3): 585–587.

7- Dimitrov Kiril, M; Afonso Claudio, L; Qingzhong, Y; Patti, M. J; Newcastle disease vaccines—A solved problem or a continuous challenge?. Veterinary Microbiology; 2016; 28:343-347

8- Haddas, R; Meir, R; Perk, S; Horowitz, I; Lapin, E; Rosenbluth, E. and Lublin, A; Newcastle disease virus in little owls (*Athene noctua*) and African penguins (*Spheniscus demersus*) in an Israeli zoo. Transbound Emerging Disease; 2014; 61(6):79-82.

9- Koch, G; Czifra, G.B. and Engstrom, E; Detection of Newcastle disease virus-specific antibodies in ostrich sera by three serological methods. Veterinary Record; 1998; 143:10-12.

10- King, D.J; Foreign animal diseases; Boca Raton; FLorida United States Animal Health Association; 2008; p: 343-349

11- Madeiros, C; Vaccination of ostriches against Newcastle disease. Veterinary Record; 1997; 140-188

12- Moro de Sousa, R.L; Montassier, H.J. and Panito, A.A; Detection and quantification of antibodies to Newcastle disease virus in ostrich and Rhea sera using liquid phase

blocking Enzyme Linked Immunosorbant Assay. Clinical Diagnostic Laboratory Immunology; 2000; 7: 940-944

13- Newcastle Disease; Avian Paramyxovirus-1 Infection; Iowa State University, College of Veterinary Medicine; 2016 www.cfsph.iastaete.edu/IICAB

14- Sakai, K; Sakabe, G; Tani, O; Nakamura, M. and Takehara, K; Antibody Responses in Ostriches (*Struthio camelus*) Vaccinated with Commercial Live and Killed Newcastle Disease Vaccines. Journal of Veterinary Medical Science; 2006; 68(6): 627-629.

15- Śmietanka, K; Olszewska, M; Domańska-Blicharz, K; Bocian, A.L. and Minta, Z; Experimental infection of different species of birds with pigeon paramyxovirus type 1 virus-evaluation of clinical outcomes, viral shedding, and distribution in tissues. Avian Diseases; 2014 ;58(4):523-30.

16- World Organization for Animal Health [OIE]. Manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. Paris: OIE; 2012. Newcastle disease. http://2.03.14_NEWCASTLE_DIS.pdf.

٢٢٦

٢٢٧

Summary:

Ostrich (*Struthio camelus*) is also among sensitive species from which NDV isolated and reported in Iran shows the significance of the disease as a potential problem for this growing industry. The first aim of this study was evaluation of the ostrich antibody response to different doses of ND oil-adjuvanted vaccine produced by Razi vaccine and serum research institute (RVSRI), Karaj, Iran. 30 of African black neck ostrich chicks in Five different treatments were used in this experiment. In three groups Razi vaccine was injected with 5, 10, and 15 doses, one group received 5 doses of an oil-adjuvanted vaccine produced by another company, and a control non vaccinated group. All vaccinated groups received 2 injections at the ages of 28, and 48 days. Blood samples were taken three times before each vaccination and also 20 days after the second vaccination. Results were suggestive of an increasing trend of seral antibody levels after first and second vaccination in all vaccinated groups measured by ELISA an HI. There was no significant difference between all four vaccinated groups. Comparison between non-vaccinated group with all vaccinated groups showed significant difference. According to the results, and regarding the volume of the inoculums, the present study suggests the 5-dose in first vaccination at the age of 2-4 weeks and the 10-dose in repeating vaccinations thereafter in higher ages.

Key words: Ostrich, Newcastle Disease, ELISA, HI, Antibody, vaccine