

بررسی تغییرات هیستوپاتولوژیک و پاسخ ایمنی جوجه‌های عاری از عوامل بیماری‌زای خاص (SPF) پس از واکسیناسیون با واکسن‌های برونشیت عفونی ژنوتیپ‌های GI-1، GI-13 و GI-23

محمد اسلام‌پناه^۱، نجمه معتمد^{۲*}

۱. بخش پاتولوژی و اپیدمیولوژی دام، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج- ایران.
۲. بخش تحقیق و تولید واکسن‌های طیور، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج- ایران.

دریافت: ۹ اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۵ پذیرش: ۲۱ شهریورماه ۱۴۰۵

چکیده

بیماری برونشیت عفونی از طریق واکسیناسیون گسترده با واکسن‌های زنده یا غیرفعال کنترل می‌شود؛ اما آیا ممکن است این واکسن‌ها با وجود بررسی‌های متعدد در خصوص بی‌ضرری برای جوجه، عوارضی مانند مشکلات تنفسی در مزرعه ایجاد نمایند. هدف از این مطالعه ارزیابی آسیب‌شناسی و پاسخ ایمنی ناشی از واکسن با رژیم واکسیناسیون رایج در یک‌روزگی در جوجه‌های عاری از عوامل بیماری‌زای خاص (SPF) بود. چهار گروه ۲۰ تایی جوجه SPF در روز اول پس از تغریخ به روش بینی - چشمی با دو واکسن از دو سروتیپ ماساچوست و 793/B و نیز یک گروه ماساچوست با واریانت ۲ محصول شرکت‌های مختلف واکسن به‌صورت دی‌والان واکسینه شدند. گروه کنترل تنها همین مقدار سرم فیزیولوژی دریافت نمود. فعالیت مؤک‌های تنفسی، پاسخ پادتنی و تغییرات آسیب‌شناسی بافت‌های نای و کلیه و ریه در روزهای ۵ و ۸ پس از واکسیناسیون مورد ارزیابی قرار گرفت. پاسخ پادتنی در همه گروه‌های تیمار پس از واکسیناسیون افزایش مشهود داشت؛ اما بیشترین تیتراژ در گروه واکسن H120 + واریانت ۲ بود ($P < 0.05$). ضایعات آسیب‌شناسی از پرخونی، دژنراسیون تا کنده‌شدن سلول‌های اپی‌تلیال و سپس هایپرپلازی مخاط در همه گروه‌ها در نای، ریه و کلیه مشهود بود. از نتایج این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت واکسن برونشیت علاوه بر تحریک ایمنی ضایعاتی ایجاد می‌کند که با تمایل سویه ویروس به بافت هدف هماهنگ بوده و این امر باید موردتوجه مرغداران و دامپزشک مزرعه هنگام تزریق واکسن قرار گرفته و با درمان‌های حمایتی یا پیشگیرانه از بروز عفونت‌های ثانویه باکتریایی یا تلفات جلوگیری به عمل آید.

واژه‌های کلیدی: نای، کلیه، آسیب‌شناسی، پادتن، حفاظت، سویه

مقدمه

در همه سنین در سراسر دنیا بروز می‌کند، اما بروز علائم تنفسی و حتی مرگ تا ۳۰ درصد در گله‌های جوان و کاهش تولید و کیفیت داخلی و خارجی تخم‌مرغ در گله‌های مادر و تخم‌گذار سالیانه سبب خسارات اقتصادی سنگین در صنعت پرورش طیور تجاری در سراسر دنیا می‌شود. از آنجاکه ویروس در سراسر دنیا پراکنده است و پتانسیل موتاسیون و نوترکیبی آن نیز بالاست مکرراً واریانت‌های جدیدی در سطح مزرعه ظهور می‌کنند که ایمنی ناشی از واکسن‌های مادری یا

بیماری برونشیت عفونی یک بیماری حاد و مسری در ماکیان و عامل آن از جنس گاما کرونا ویروس خانواده کرونا ویریده است. ویروس برونشیت عفونی یک ویروس اپی‌تلیوتروپ بوده و در بافت‌های اپی‌تلیال تکثیر می‌کند. اگر چه هدف اولیه ویروس قسمت فوقانی دستگاه تنفس است؛ اما در ادامه ویروس تکثیر شده و به اندام‌های دیگر خصوصاً کلیه و اویداکت وارد شده و تکثیر می‌یابد (۳). بیماری در ماکیان



زنده در گله ایجاد نشود. البته به هر روی برخی از آسیب‌های ناشی از ویروس احتمالاً در بافت‌های هدف بروز می‌کند که در بین واکسن‌ها با سویه‌های متفاوت و برندهای مختلف موجود در بازار ممکن است متفاوت باشد. از آنجاکه در حال حاضر رژیم واکسیناسیون ترکیبی از دو تا سه واکسن خصوصاً در روز اول پس از تفریخ است حتماً عوارضی در بافت‌های هدف ویروس برونشیت عفونی از جمله نای، ریه و کلیه قابل انتظار است. اما آیا این عوارض در استفاده هم‌زمان دو واکسن از دو ژنوتیپ متفاوت با شرکت‌های متفاوت سازنده واکسن با هم اختلاف معنی‌داری دارند یا خیر و آیا اگر تغییرات پاتولوژی در بافت‌ها مشاهده شد می‌توان به واکسن و نوع واکسن نسبت داد؟ و یا این رژیم واکسن و تغییرات آسیب‌شناسی به دنبال آن سبب بروز علائم بالینی در جوجه‌های عاری از عوامل پاتوژن خاص در هفته اول پرورش در شرایط کنترل شده می‌شود؟ هدف این مطالعه، بررسی تغییرات پاتولوژی و بالینی ناشی از برنامه واکسیناسیون با واکسن‌های مختلف داخلی و وارداتی علیه ویروس برونشیت عفونی در جوجه‌های عاری از عوامل پاتوژن خاص بود.

مواد و روش کار

پیش از شروع مطالعه کد اخلاق از کمیته اخلاق در پژوهش مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به شماره IR.RVSRI.REC.1402.002 اخذ گردید. تعداد ۱۲۰ قطعه جوجه یک‌روزه عاری از عوامل بیماری‌زای خاص (SPF) از مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه شد. پیش از تقسیم، از قلب ۲۰ قطعه جوجه خون‌گیری به عمل آمد تا عیار پایه پادتن‌ها ثبت و از عدم وجود پادتن مادری در این سن اطمینان حاصل گردد. جوجه‌های باقی‌مانده به صورت تصادفی به پنج گروه ۲۰ قطعه‌ای تقسیم شدند: چهار گروه دریافت‌کننده واکسن و یک گروه شاهد غیر واکسینه (که در جدول ۱ مشخص شده‌اند). در روز اول، واکسن‌ها به روش داخل بینی - چشمی (Occulo-Nasal) و با میزان توصیه‌شده شرکت سازنده، به پرندگی‌های گروه‌های تیمار

واکسن‌های دوره پرورش را به دلیل نداشتن ایمنی متقاطع شکسته و از سد ایمنی عبور می‌کنند. همه رژیم‌های ترکیبی واکسن برونشیت، وسعت محافظت یکسانی را ارائه نمی‌دهند و مشخص نیست که کدام ترکیبات واکسن، بهترین محافظت را در برابر ویروس‌های خاص ارائه می‌دهد؛ بنابراین، باید اثرگذاری این ترکیبات واکسن در میزبان که به اصطلاح پروتکتوتیپ نامیده می‌شوند، برای هر واریانت جدید ارزیابی شود (۱۶). بر اساس مطالعات صورت گرفته و فرضیه پروتکتوتیپ در صورت استفاده از یک رژیم کامل واکسیناسیون متشکل از واکسن‌های ماساچوست و 793/B به همراه سروتیپ‌های رایج منطقه، ایمنی قابل قبولی در گله ایجاد می‌نماید (۲۲). در حال حاضر مهم‌ترین ابزار پیشگیری و کنترل بیماری واکسیناسیون با حداقل دو نوع سروتیپ متفاوت و در ادامه در سن ۱۴ روزگی و نیز پیش از تولید با دو تا سه سروتیپ متفاوت از نوبت اول تکرار واکسیناسیون انجام می‌گیرد. به دلیل مدت کوتاه نگهداری گله‌های گوشتی و بیشترین بار واکسیناسیون به واکسن‌های روز اول اختصاص داده می‌شود. در گذشته یک تیپ واکسن در یک‌روزگی و دومی در ۷ تا ۱۴ روزگی در گله با روش اسپری یا آشامیدنی استفاده می‌شد. این برنامه به دلیل تنوع بالای سروتیپ‌های شایع در دنیا و عدم ایجاد ایمنی کامل علیه سروتیپ هومولوگ، به برنامه جدیدی شامل تجویز دو تا سه سویه متفاوت واکسن زنده به روش اسپری یا قطره چشمی در روز اول تغییر یافت. امروزه انواعی از واکسن‌های زنده تخفیف حدت‌یافته و نیز کشته به صورت تجاری در نقاط مختلف دنیا استفاده می‌شود که بعضاً به صورت دو تایی یا سه تایی مصرف می‌شوند؛ اما آیا این مصرف هم‌زمان اثرات بیماری را تشدید می‌کند؟ آیا بر فعالیت مژک‌های تنفسی اثرات تخریبی شدیدتری دارد و یا باعث بیماری احتمالی می‌شود.

واکسن‌های زنده در واقع فرایند عفونت‌زایی ویروس وحشی را تقلید نموده و سبب ایجاد ایمنی سلولی و هومورال می‌شوند. با این تفاوت که انتظار می‌رود بیماری مشابه عفونت با ویروس فیلدی پس از واکسیناسیون در اثر ویروس واکسن



در جدول ۱ تهیه و خریداری شدند. در طول دوره آزمایش، جوجه‌های تمامی گروه‌ها به‌طور روزانه از نظر وضعیت بالینی مورد ارزیابی قرار گرفتند.

تلقیح شد. از آنجاکه هدف مطالعه ارزیابی رژیم رایج واکسن برونشیت عفونی (ماساچوست+793/B) در کشور علیه ویروس واریانت ۲ بود و باتوجه به موجودی بازار، واکسن‌های ذکر شده

جدول ۱- طرح آزمایش و گروه‌بندی مطالعه

گروه	واکسن زنده تخفیف حدت یافته IBV	شرکت سازنده واکسن
A	H120 + 793B	مؤسسه رازی
B	H120 + Phivax IBV206	مؤسسه رازی + Fibro Animal Health
C	Avishield IB H120 + Avishield® IB GI-13	Avishield
D	Cevac IBird® + CEVAC® BRON 120 L	Ceva
E	-	شاهد غیر واکسینه

بود، مثلاً آن پرنده به‌عنوان محافظت شده در برابر چالش، تلقی می‌شد (۲، ۱۳).

در روزهای ۵ و ۸ پس از واکسیناسیون، از هر گروه ۵ قطعه جوجه آسان‌کشی شدند. سپس بافت‌های نای، ریه و کلیه جمع‌آوری و به‌منظور ارزیابی آسیب‌شناسی در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت و تا زمان تهیه مقاطع بافت‌شناسی نگه‌داری شدند. بلوک‌های پارافینی تهیه شده به برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر برش داده شده و با هماتوکسیلین و ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. ضایعات با استفاده از میکروسکوپ نوری مشاهده و امتیازدهی شدند. به ضایعاتی مانند از بین رفتن اپیتلیوم، دژنراسیون، نکروز، تخلیه غدد مخاطی و نفوذ لنفوپلاسموسیتی به شرح زیر امتیاز داده شد: بدون ضایعه (۰)؛ ضایعه خفیف (۱)؛ ضایعه متوسط (۲)؛ ضایعه نسبتاً شدید (۳) یا ضایعه شدید (۴، ۵، ۸). میانگین امتیاز ضایعه با شمارش سلول‌های آسیب‌دیده در ۵ ناحیه میکروسکوپی با توزیع تصادفی به دست آمد. سپس میانگین امتیاز ضایعه از ۵ پرنده محاسبه شد (۴، ۱۷، ۲۰).

از One way ANOVA و آزمون توکی برای مقایسه میانگین امتیاز سیلیوستازی، هیستوپاتولوژی و یا تیترا انتی‌بادی استفاده و تفاوت‌ها زمانی معنی‌دار در نظر گرفته شدند که $P < 0.05$ باشد. تمام تجزیه و تحلیل‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۶ صورت پذیرفت.

جهت اطمینان از عدم وجود پادتن مادری علیه ویروس برونشیت عفونی ارزیابی سرولوژی پادتن علیه ویروس برونشیت عفونی با استفاده از کیت الایزا شرکت IDEXX Laboratories Inc., USA بر روی نمونه‌های خون اخذ شده از جوجه‌ها در روز اول و ۲۱ پس از تلقیح واکسن‌ها صورت گرفت.

در روز پنجم پس از تلقیح واکسن برونشیت عفونی ۵ قطعه جوجه از هر گروه آسان‌کشی شده و بافت‌های نای جهت انجام تست سیلیوستازیس مقطع‌گیری شدند. از هر نای در سه ناحیه بالا و پایین سه حلقه و در وسط چهار حلقه با دقت جدا شدند. حلقه‌ها در یک پتری دیش حاوی محیط کشت حداقل ضروری (MEM) با ۱۰٪ سرم جنین‌گاو قرار داده شدند و با میکروسکوپ نوری معکوس از نظر یکپارچگی و حرکت مژکی سلول‌های اپیتلیال نای بررسی شدند. سپس فعالیت مژکی امتیازدهی شد؛ ۰، تمام مژک‌ها ضربان دارند؛ ۱، ۷۵ درصد ضربان دارند؛ ۲، ۵۰ درصد ضربان دارند؛ ۳، ۲۵ درصد ضربان دارند؛ و ۴، هیچ ضربانی ندارند (۱۰۰ درصد مژک‌ها متوقف شده‌اند). برای هر پرنده، از بین ۱۰ حلقه بررسی شده، حداکثر امتیاز مژک‌ها ۴۰ است که نشان‌دهنده فقدان کامل محافظت است (هیچ مژکی در هر ۱۰ حلقه ضربان ندارد) اگر امتیاز مژک‌های نای یک جوجه کمتر از ۲۰

نتایج

پس از تلقیح واکسن و تا پایان مطالعه در هیچ یک از گروه‌های کنترل و مطالعه تلفات گزارش نشد. روز اول تا سوم پس از تلقیح علائمی نظیر کزکردگی، تجمع جوجه‌ها و کاهش مصرف آب و خوراک مشاهده شد. هیچ‌گونه علامت بالینی اختصاصی بیماری برونشیت عفونی اعم از عطسه، سرفه و تنگی نفس و یا تلفات مشاهده نشد.

هیچ‌گونه ضایعه کالبدگشایی در پرندگان گروه کنترل در روزهای نمونه‌گیری یعنی ۵ و ۸ روز پس از تلقیح واکسن مشاهده نشد. در پرندگان واکسینه پرخونی خفیف ریه و مخاط نای در روز ۵ مشاهده شد؛ اما این ضایعات تا روز ۸ بطور کامل برطرف شده بودند. پرخونی و تورم خفیف در بافت کلیه گروه‌های دریافت‌کننده واکسن در روزهای ۵ و ۸ مشاهده شد. کیسه‌های هوایی، کبد، مغز و قلب ظاهر طبیعی داشتند. ترشحات در مجاری تنفسی وجود نداشت.

نتایج ارزیابی سرولوژی گروه‌های مطالعه و کنترل در روزهای صفر و ۱۴ روز پس از تلقیح در جدول شماره ۲ درج شده است. بالاترین تغییرات تیتسریمی در روز چهاردهم مربوط به گروه B که با واکسن H120 مؤسسه رازی و واریانت ۲ فیواکس واکسینه شده‌اند که اختلاف تیتسر مشاهده شده با سایر گروه‌ها و گروه کنترل معنی دار می‌باشد ($P < 0.05$). اختلاف سایر گروه‌ها با گروه کنترل نیز معنی دار بوده؛ اما باوجود تفاوت بین ۳ گروه مطالعه و مثلاً بالاتر بودن تیتسر پادتن در گروه C که واکسن‌های شرکت اویشیلد را استفاده کرده بودند اختلاف گروه A با C و D معنی دار نبود ($P < 0.05$). بالا بودن میزان ضریب پراکندگی یا Coefficient of Variance (CV) در تیترایزا در تمام گروه‌ها مشهود است. که احتمالاً به دلیل این است که در نوبت اول واکسیناسیون پاسخ‌ها متفاوت و غیر یکنواخت است و انتظار می‌رود که در نوبت‌های بعدی یا بوستر تیتراهای یکنواخت‌تر و با درصد CV کمتری ردیابی شوند.

جدول ۲- میانگین تیتسریمی برونشیت عفونی در گروه‌های مختلف دریافت‌کننده واکسن و گروه شاهد

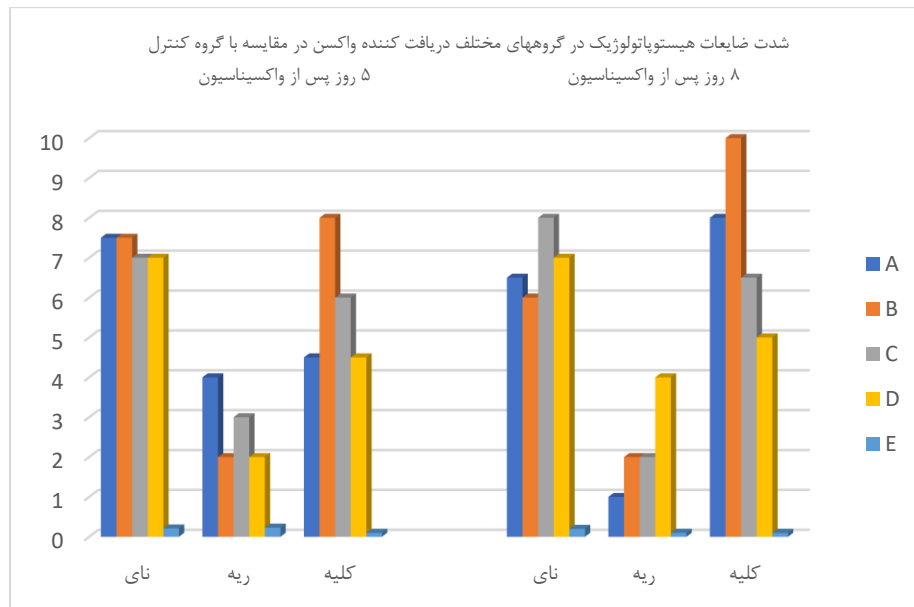
گروه	روز صفر	۲۱ روزگی	CV%
A	۱۰۲ (منفی)	۱۵۲۰ ± ۲۵۷۹	۵۹
B	۱۰۲ (منفی)	۱۶۱۳ ± ۳۵۸۵ *	۴۵
C	۱۰۲ (منفی)	۱۲۰۴ ± ۲۷۳۸	۴۴
D	۱۰۲ (منفی)	۲۲۰۹ ± ۲۶۱۵	۴۲
E		۵۸ (منفی)	

* تفاوت تیتسر در گروه دوم دریافت‌کننده واکسن برونشیت عفونی واریانت ۲ و H120 معنی دار بود ($P < 0.05$).

روز اول سبب استاز در سطح حساس شدن پرنده به عفونت نمی‌شود.

روند تغییر آسیب‌شناسی در سه بافت مورد مطالعه نای، کلیه و ریه در شکل ۱ نمایش داده شده است.

ارزیابی محافظت مژک‌ها در ارزیابی اثربخشی واکسن IBV مهم است. ۵ روز پس از واکسیناسیون در تمام گروه‌های دریافت‌کننده واکسن داخلی و وارداتی، امتیاز سیلیو استازیس مشابه گروه کنترل کمتر از ۲۰ بود، بدین معنی که تلقیح هم‌زمان دو نوع واکسن زنده تخفیف‌حادث یافته برونشیت در



شکل ۱- نمودار تغییرات مجموع امتیاز ضایعات هیستوپاتولوژی در سه اندام (کلیه، ریه، نای) جوجه‌های واکسینه شده و گروه شاهد. محور افقی نشان‌دهنده روز نمونه‌گیری (۵ و ۸ پس از واکسیناسیون) و محور عمودی مجموع شدت ضایعات است. خطوط رنگی هر اندام را نشان می‌دهند. مشاهده می‌شود که شدت ضایعات کلیه و نای در گروه‌های C و D بالاتر از سایر گروه‌ها بوده، درحالی‌که گروه شاهد حداقل ضایعات را نشان داد.

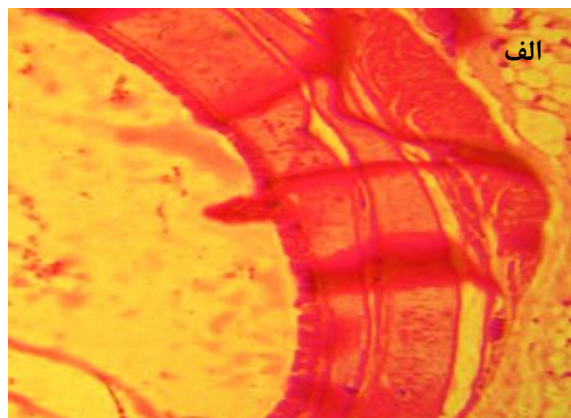
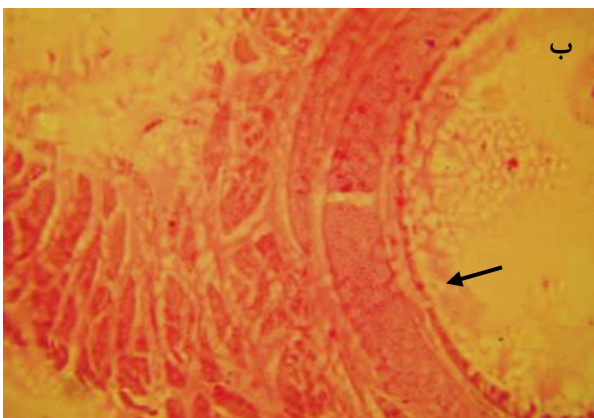
دژنراسیون و ریزش سلول‌های اپیتلیال مژکدار، کاهش و ریزش سلول‌های جامی ترشح‌کننده مخاط، نفوذ خفیف تا متوسط سلول‌های تک‌هسته‌ای به لامینا پروپریا، وجود ترشحات التهابی، سلول‌های اپیتلیال جدا شده و تجمع مخاط در لومن نای مشاهده شد. در این مرحله، روند التهاب در همه گروه‌ها روند کاهشی نشان داد و تصاویر بافتی بیانگر کاهش چشمگیر نفوذ سلول‌های التهابی، شروع بازسازی اپیتلیوم و افزایش تدریجی تعداد سلول‌های مژکدار و علائم اولیه هایپرپلازی ترمیمی اپیتلیوم در برخی گروه‌ها بود (شکل ۲- ب).

در جوجه‌های گروه شاهد، ساختار نای طبیعی بوده و اپیتلیوم مژکدار ستون‌دار با مژک‌های سالم و منظم و غدد مخاطی فعال مشاهده شد (شکل ۲- الف).

در تمامی گروه‌های واکسینه شده تغییرات آسیب‌شناسی قابل‌توجهی مشاهده گردید که اگرچه الگوی کلی ضایعات مشابه بود، اما شدت و پایداری ضایعات میان سویه‌های مختلف واکسن متفاوت بود.

به‌طور کلی، ضایعات بافتی در بازه زمانی مطالعه را می‌توان در دو مرحله اصلی دسته‌بندی کرد:

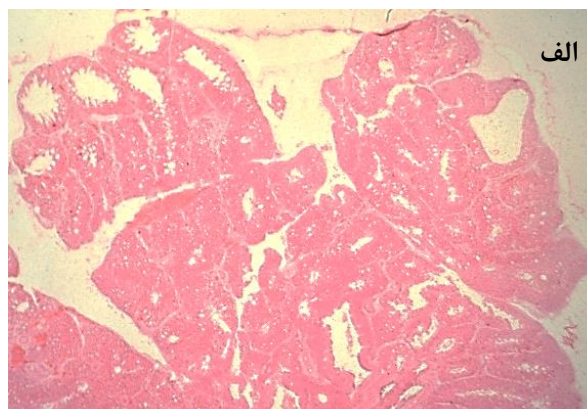
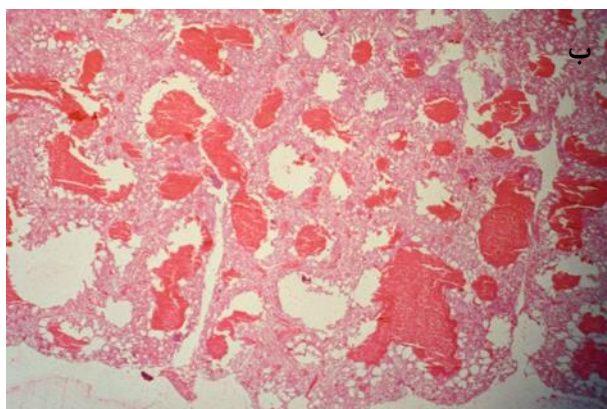
مرحله دژنراتیو و مرحله هایپرپلاستیک / ترمیمی: در تمام گروه‌های واکسینه شده، ضایعات شاخص و بارزی شامل



شکل ۲- الف. بافت نای جوجه گروه شاهد، فاقد تغییر آسیب‌شناختی (سمت راست)، ب. بافت نای جوجه گروه واکسن - کنده شدن موضعی سیلیا و ادم زیرمخاط در مقطع میکروسکوپی مشاهده شد (سمت چپ)، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، $\times 100$.

مرتبط با عفونت شدید بودند. تا پایان روز پنجم پس از واکسیناسیون، پرخونی همچنان قابل توجه بود؛ با این حال نفوذ سلول‌های التهابی خفیف و محدود بود. نکروز بافتی در لایه‌های مختلف ریه چشمگیر یا ثابت نبود. به‌طور کلی، تفاوت قابل توجهی در شدت ضایعات بین سویه‌های مختلف واکسن مشاهده نشد (شکل ۳- ب).

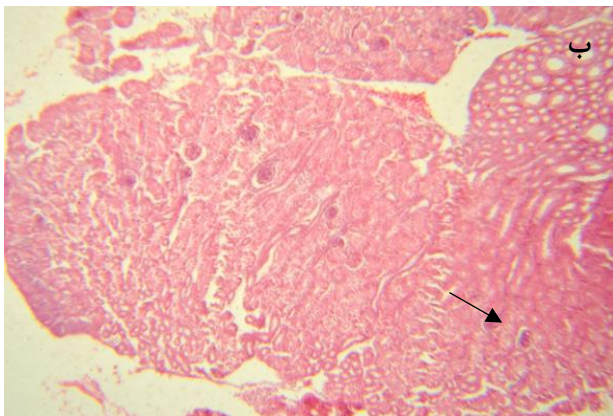
در گروه شاهد، ساختمان ریه طبیعی گزارش شد و هیچ‌گونه تغییرات آسیب‌شناختی قابل توجهی مشاهده نگردید (شکل ۳- الف). در مقابل، در تمامی گروه‌های واکسینه شده، ضایعات بافتی عمدتاً شامل پرخونی گسترده در بافت ریه، ضایعات ملایم در برونش‌های اولیه و ثانویه و بافت بینابینی، الگوی ضایعات متغیر و فاقد ویژگی اختصاصی



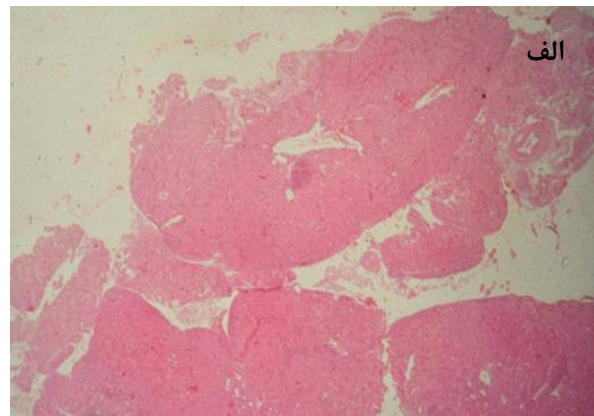
شکل ۳- الف. بافت ریه جوجه گروه شاهد- تغییر آسیب‌شناختی مشاهده نشد (سمت راست)، ب. بافت ریه جوجه گروه تیمار- پرخونی گسترده در بافت -ضایعات ملایم در برونش‌های اولیه و ثانویه و بافت بینابینی در مقطع میکروسکوپی مشاهده شد (سمت چپ)، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، $\times 40$.



تغییرات برجسته‌تر شامل ادم خفیف بینابینی، اتساع ملایم توبول‌ها همراه با تجمع مایع و شدت التهاب متغیر با توزیع کانونی تا منتشر بودند. در برخی نمونه‌ها دژنراسیون واکوئلی سلول‌های اپیتلیال نیز مشاهده شد. هیچ‌گونه نکروز توبولی در مراحل بررسی‌شده گزارش نگردید (شکل ۴-ب).



در گروه شاهد، ساختار بافتی کلیه طبیعی بوده و هیچ تغییر آسیب‌شناختی مشاهده نشد (شکل ۴-الف). در گروه‌های واکسینه شده، شاخص‌ترین ضایعات شامل دژنراسیون اپیتلیوم توبول‌های کلیوی و ساختارهای نفرونی، پرخونی در عروق بافتی و نفوذ سلول‌های تک‌هسته‌ای در درجات خفیف تا متوسط بودند. در نوبت اول نمونه‌گیری،



شکل ۴-الف. بافت کلیه جوجه گروه شاهد- تغییر آسیب‌شناختی مشاهده نشد، (سمت راست)، X40. **ب.** بافت کلیه جوجه گروه تیمار- دژنراسیون اپیتلیوم لوله‌های کلیوی و ساختارهای نفرونی، ادم خفیف بینابینی و اتساع ملایم توبول‌ها (پیکان) در مقطع میکروسکوپی (سمت چپ) مشاهده شد، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین، X 100.

بحث

به دلیل پتانسیل بالای تغییر و ظهور سویه‌های جدید ویروس برونشیت عفونی، حتی باوجود واکسیناسیون گسترده کنترل بیماری بسیار دشوار است (۸). جوجه‌های جوان به دلیل حساس بودن و خطر بروز خسارت اقتصادی سنگین طی دوره پرورش، حداقل یک یا دو بار با استفاده از ۲ تا ۳ سویه ویروس واکسن علیه بیماری IB در هفته‌های اول پس از تفریخ باید واکسینه شوند. (۱۵).

باتوجه به ضرورت واکسیناسیون با بیش از یک سروتیپ ویروس برونشیت عفونی، لزوم ارزیابی پاسخ‌های پرنده به واکسن و نیز عوارض ناشی از واکسن از سروتیپ‌های مختلف

در بافت‌های هدف که احتمالاً زمینه‌ساز عفونت‌های ثانویه می‌شود وجود دارد.

سروتیپ‌های (GI-13) 793/B و ماساچوست (GI-1) شایع‌ترین سویه‌های برونشیت عفونی با گستردگی جهانی بوده و از رایج‌ترین سویه‌های واکسن محسوب می‌شوند که علاوه بر ایجاد حفاظت مناسب علیه ویروس‌های هومولوگ (مشابه)، توانایی آن‌ها در ایجاد حفاظت در برابر سایر سروتیپ‌ها، در مطالعات متعدد نشان داده شده است (۶، ۲۴).

پس از ورود ویروس برونشیت عفونی در بدن پرنده از طریق ماکروفاژ و مونوسیت‌های خون نای در سراسر بدن پرنده منتشر و سبب بروز جراحات مختلف بافتی می‌شود و



dpi روند کاهشی داشته و با بهبودی کامل در ۱۲ *dpi* محو می‌شوند.

در مطالعه حاضر پرخونی و ازبین‌رفتن موضعی مژک‌های تنفسی در برخی حلقه‌های نای، دژنراسیون سلول‌های اپیتلیال مخاطی، همراه با کنده‌شدن سلول‌های اپیتلیال در لومن نای، مشاهده شد. همین عوارض به‌صورت شدیدتر به همراه نفوذ شدید سلول‌های تک‌هسته‌ای منتشر، ادم، احتقان و خونریزی در زیر مخاط و لامینا پروپریا در مطالعه El Nemr و همکاران در سال ۲۰۲۵ که پاتولوژی ویروس برونشیت عفونی در نای را در ۲۸۷ رخداده برونشیت عفونی، در مصر با امتیاز ۲ گزارش شده است (۸). پرخونی، ادم و نفوذ سلول‌های التهابی در نای جنین‌های تلقیح شده با واکسن برونشیت عفونی M41، نیز گزارش شده است (۱۱). تغییراتی از جمله ازبین‌رفتن سلول‌های گابلت، اتساع غدد مخاطی و نفوذ سلول‌های تک‌هسته‌ای به لامینا پروپریا در نای علاوه بر موارد فوق در تحقیقات دیگر نیز آمده‌است (۱۹). واکسیناسیون علیه برونشیت عفونی و به دنبال آن محافظت از حرکات مژک‌های تنفسی نای (Ciliary Protection) احتمال وقوع عفونت‌های باکتریایی ثانویه را کاهش می‌دهد. ضمناً واکسیناسیون علیه بیماری برونشیت می‌تواند سبب کاهش عفونت و تکثیر ویروس *IBV* و همچنین کاهش انتقال افقی و جهش ویروس گردد (۷).

در مطالعه حاضر ضایعات ریه صرفاً به ادم خفیف بینابینی و پرخونی اطراف برونش‌ها محدود بود به دنبال آلودگی با ویروس‌های پاتوژن فیلدی آسیب‌های بافت ریه به‌صورت احتقان شدید، ادم، خونریزی و نفوذ سلول‌های تک‌هسته‌ای در بافت بینابینی و در پارانشیم ریه، خونریزی داخل لومن پارابرونشیال مشاهده می‌شود. برونش‌های ثانویه و پارابرونش‌ها، اپیتلیوم دژنره شده، نفوذ سلول‌های تک‌هسته‌ای و ادم در مخاط و زیر مخاط را با امتیاز ۲ نشان دادند (۸، ۱۱). هیپرپلازی اپیتلیوم پوشاننده برونش‌های ثانویه و نفوذ با تراکم بالا سلول‌های التهابی در دیواره بین برونشی از دیگر عوارض ویروس در بافت ریه‌ها است (۱۹).

بسته به تمایل بافتی آسیب‌شناسی آن فرق می‌کند. از آنجاکه بافت هدف تکثیر ویروس برونشیت عفونی دستگاه تنفسی و خصوصاً قسمت فوقانی این دستگاه هست، انتظار می‌رود که ضایعات در نای شدیدتر و مشخص‌تر از نواحی تحتانی دستگاه تنفسی باشد. در مطالعه حاضر ضایعات نای در مقایسه با گروه کنترل در تمام گروه‌های واکسینه مشهود و قابل توجه بود. ضایعات شامل التهاب پرخونی، دژنراسیون سلول‌های اپیتلیال و کنده‌شدن مخاط به همراه سلول‌های گابلت در نوبت اول نمونه‌گیری دیده شد که در نوبت دوم با افزایش سلول‌های گابلت و هیپرپلازی قابل توجه زیر مخاط ادامه پیدا کرد. وجود ضایعات در ریه گروه‌های تیمار متمایز از گروه کنترل غیر واکسینه بود. هر چند که ضایعات ریه در مجموع خفیف‌تر و غیراختصاصی بودند و ادم و پرخونی غالب بود. نکته قابل توجه این است که هیچ شواهدی از بروز نکروز در سلول‌های ریه دیده نشد.

ویروس برونشیت عفونی نفروتروپیک، باعث آسیب شدید در کلیه با نکروز سلول‌های اپیتلیال لوله‌ای، التهاب و نارسایی کلیه می‌شود. پرخونی و نفوذ سلول‌های التهابی در کلیه با تأکید و شدت بیشتر در گروه دریافت‌کننده واکسن واریانت ۲ (این سویه متعلق به ژنوتیپ GI-23 است) (۲۱) که یک ویروس نفروپاتوژن هست از جمله تفاوت‌های اندک مابین ضایعات ایجاد شده توسط واکسن‌ها در بین گروه‌های تیمار بود. ضایعات کلیه شامل نفوذ سلول‌های التهابی در گروه B بیشتر و مشهودتر از سایر گروه‌ها بود.

یافته‌های این مطالعه بیانگر پاسخ متفاوت بافتی به واکسن‌های متفاوت حتی از یک سروتیپ و ژنوتیپ را بیان و لزوم انتخاب صحیح برنامه واکسیناسیون باتوجه به مانیتورینگ‌های متعدد در سطح منطقه را برجسته‌تر می‌سازد، درک پیامدهای اثرات واکسن در سلامت گله نیاز به تحقیقات دقیق و وسیع‌تری دارد (۲۳).

در عفونت با ویروس‌های مختلف برونشیت عفونی عموماً حداکثر شدت علائم بالینی مرتبط در بازه بین ۲ تا ۷ روز پس از تلقیح (*dpi*) دیده می‌شود (۱۸). این جراحات از ۷



منظم نیست، بلکه در معرض یک سویه ویروس وحشی قرار گرفته است. هر چند که در مطالعه حاضر پس از اولین نوبت واکسن تیتراها بالا رفته اما یکنواختی زیادی بین تیترا در جوجه های یک گروه نیست و CV یا همان پراکندگی تیترا بالای بیست درصد می باشد. بررسی ها نشان داده که در نوبت اول واکسن معمولاً پاسخ ها در جوجه های یک گله متغیر بوده و در نتیجه پراکندگی تیترا یا همان CV هم بالا می رود (۹، ۱۰). اما در نوبت های بعدی و بویستتر تیتراها یکنواخت تر بوده و به سطح قابل قبولی از حفاظت خواهند رسید.

طبق مطالعات Huang و همکاران در سال ۲۰۲۵ میانگین مقادیر تیترا پس از عفونت باید به طور قابل توجهی، حداقل دو برابر، در مقایسه با سطوح پس از واکسیناسیون یا تیتراهای پایه قبل از عفونت افزایش یابد (۱۳). نوع کیت و فواصل بین واکسن تا نمونه گیری در تیترا پادتن مؤثر است مثلاً Fallah و همکاران گزارش نمودند که پس از دو نوبت واکسیناسیون با دو نوع سروتیپ مختلف واکسن کمترین میانگین تیترا مربوط به گروه دریافت کننده H120 در دو نوبت صفر و ۱۴ روزه بوده و بیشترین میانگین تیترا در گروه H120-4/91 با کیت پروفلاک (Proflock) ردیابی شد که در مقایسه با کیت های IDEXX و Biocheck حساس تر و سطح پادتن بالاتری را نشان داد (۱۰). پاسخ های آنتی بادی هومورال پس از واکسیناسیون که توسط ELISA و HI اندازه گیری می شوند، اغلب برای نظارت بر مصرف واکسن استفاده می شوند. اگرچه قبلاً نشان داده شده است که سطوح آنتی بادی هومورال در گردش خون از اهمیت کمی در محافظت در برابر عفونت IBV برخوردارند، در مطالعه حاضر، گروهی که واریانت ۲ و H120 را به عنوان واکسن دریافت نمودند سطوح بالاتری از آنتی بادی های هومورال در مقایسه با گروه های دیگر داشتند که احتمالاً به دلیل فاصله زیاد ژنتیکی ژنوتیپ GI-13 با GI-23 تحریک ایمنی بیشتر بوده و پاسخ پادتنی در مقایسه با سایر گروه های تیمار و نیز کنترل بهتر تحریک شده است. اگر چه

جراحات میکروسکوپی بافت کلیه شامل نواحی چند کانونی دژنراسیون و نکروز اپیتلیوم توبولی کلیوی، نفوذ خفیف سلول های تک هسته ای و ادم در بافت بینابینی با امتیاز ۱ در کلیه در مطالعه El Nemr و همکاران گزارش شده است (۸). در تحقیق Barari و همکاران ضایعات هیستوپاتولوژیک سویه H120 و ۴/۹۱، IB88 مطالعه شدند. سویه ۴/۹۱ نتایج قابل مقایسه اما با شدت کمتر H120 در کلیه ایجاد کرد، در حالی که سویه های IB88 اثر نفروپاتوژنیک کمتری نشان دادند که نشان دهنده تمایل محدود آنها به کلیه است. ضایعات کلیوی در مطالعات تجربی با ویروس فیلدی و واکسن ممکن است چندان برجسته یا شدید نباشند (۱۲، ۱۴). علاوه بر این، اندوتلیوز در رگ های خونی با ادم اطراف عروق و ارتشاح لکوسیت ها در اندام های مختلف به همراه ادم در قلب، نای و ریه ها از شاخص های هیستوپاتولوژی برونشیت عفونی می تواند باشد (۱). بررسی آسیب شناسی برخی مطالعات نشان داد که ضایعات در سیستم تنفسی شدیدتر از کلیه بودند که ممکن است به دلیل گرایش متفاوت بافتی سویه های مختلف ویروس برونشیت عفونی، ایمنی و سن پرندگان مبتلا باشد (۱۹).

پاسخ ایمنی هومورال پرنده های واکسینه شده در این مطالعه به روش الایزا ارزیابی شدند. تست الایزا (ELISA) به دلیل مقرون به صرفه بودن و سرعت در ارائه نتایج، روش مناسبی برای پایش روتین برونشیت عفونی و تشخیص آنتی بادی ها در گله های طیور پس از عفونت یا بعد از واکسیناسیون هست (۷). تیتراهای آنتی بادی بالا و یکنواخت نشان دهنده واکسیناسیون مناسب و کافی است. تیتراهای پایین، نامساوی و کوتاه مدت نشان دهنده عدم موفقیت واکسیناسیون و احتمالاً به دلیل کاربرد نادرست یا کیفیت پایین واکسن است. طبق مطالعات صورت گرفته، اگر تیتراها به طور قابل توجهی بالاتر از حد انتظار باشند، باید به عفونت مزرعه ای مشکوک شد، به این معنی که سطح آنتی بادی شناسایی شده در خون نتیجه یک برنامه واکسیناسیون



- 3- Arshad S, Al Salihi K, Noordin MM. "Ultrastructural pathology of trachea in chicken experimentally infected with infectious bronchitis Virus-MH-5365/95,". *Annals of Microscopy*, vol 3, pp 43–47, 2002. 2002;3.
- 4- Barari M, Khorrami S, Mortazavi SP, Bahonar A, Charkhkar S. Comparative histopathology of three Serotypes of live infectious bronchitis vaccine (IB88 – 4/91 – H120) in broiler chickens. *Journal of Poultry Sciences and Avian Diseases*. 2024;2(4):9–18.
- 5- Benyeda Z, Szeredi L, Mató T, Süveges T, Balka G, Abonyi-Tóth Z, et al. Comparative histopathology and immunohistochemistry of QX-like, Massachusetts and 793/B serotypes of infectious bronchitis virus infection in chickens. *Journal of comparative pathology*. 2010;143(4):276–83.
- 6- Cook JK, Orbell SJ, Woods MA, Huggins MB. Breadth of protection of the respiratory tract provided by different live-attenuated infectious bronchitis vaccines against challenge with infectious bronchitis viruses of heterologous serotypes. *Avian pathology : journal of the WVPA*. 1999;28(5):477–85.
- 7- De Wit JJ. Detection of infectious bronchitis virus. *Avian pathology : journal of the WVPA*. 2000;29(2):71.۹۳–
- 8- El Nemr AI, Talat Hamad R, Ali El-Shemy A, Abdelkhalek A, Abdelgaber Mohamed2 M. Pathological, Immunohistochemical, and Molecular Study of Avian Infectious Bronchitis Virus in Egypt %J *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*. 2025;56(1):79–89.
- 9- Fallah Mehrabadi MH, Bahonar A, Mirzaei K, Ghalyanchi Langeroudi A,

پادتن‌های سرمی با محافظت در برابر برونشیت ارتباط مستقیمی ندارند، اما به‌صورت کلی سطوح بالاتر پادتن در تست الایزا بیانگر پاسخ بهتر به واکسن و احتمالاً شاخصی مناسب در پیش‌بینی پاسخ ایمنی پرنده و معادل حضور ایمنی اکتسابی فعال در پرنده‌ها می‌باشد. گزارش شده که سلول‌های T سیتوتوکسیک در مراحل اولیه عفونت *IBV* فعالیت ضد ویروسی مهمی دارند، درحالی‌که *IgG* سرم در مراحل پایانی عفونت *IBV* بسیار مهم است.

سنگ بنای اقدامات پیشگیرانه در مبارزه با *IB*، امنیت زیستی بوده که شامل اجرای دقیق اقدامات امنیت زیستی خارجی و داخلی برای کنترل مسیر حرکت حیوانات، افراد، مواد و ضایعات در مزرعه پرورش یا تولید است. مدیریت خوب، تراکم مناسب، کیفیت هوای سالن و افزایش زمان استراحت بین چرخه‌های تولید می‌تواند کنترل *IB* را بهبود بخشد (۱۸).

قدردانی و تشکر

از همکاران محترم بخش تحقیق و تشخیص بیماری‌های طیور مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی که در مراحل اجرای این پروژه همکاری نموده‌اند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- 1- Abou El-Fetouh M, Mohamed MH, Refat N, Ahmed M, El-Zanaty AE. Pathological Studies on Infectious Bronchitis Disease in Chickens %J *Zagazig Veterinary Journal*. 2016;44(3):248–59.
- 2- Ali A, Kilany W, Zain El Abideen M, Sayed M, El-Kady M. Safety and efficacy of attenuated classic and variant 2 infectious bronchitis virus candidate vaccines. *Poultry Science*. 2018;97:4238–44.



- strains against a challenge with Malaysian variant and QX-like IBV strains. *Journal of veterinary science*. 2020;21(6):e76.
- 16- Jackwood MW, Jordan BJ, Roh HJ, Hilt DA, Williams SM. Evaluating Protection Against Infectious Bronchitis Virus by Clinical Signs, Ciliostasis, Challenge Virus Detection, and Histopathology. *Avian diseases*. 2015;59(3):368–74.
- 17- Khataby K, Kichou F, Loutfi C, Ennaji MM. Assessment of pathogenicity and tissue distribution of infectious bronchitis virus strains (Italy 02 genotype) isolated from moroccan broiler chickens. *BMC veterinary research*. 2016;12:94.
- 18- Lunge VR, Kipper D, Streck AF, Fonseca ASK, Ikuta N. Emergence and Dissemination of the Avian Infectious Bronchitis Virus Lineages in Poultry Farms in South America. 2025;12(5):435.
- 19- Najimudeen SM, Hassan MSH, Goldsmith D, Ojkic D, Cork SC, Boulianne M, et al. Molecular Characterization of 4/91 Infectious Bronchitis Virus Leading to Studies of Pathogenesis and Host Responses in Laying Hens. *Pathogens* (Basel, Switzerland). 2021;10.(°)
- 20- S MN, Barboza-Solis C, Ali A, Buharideen SM, I MI, Hassan MSH, et al. Pathogenesis and host responses in lungs and kidneys following Canadian 4/91 infectious bronchitis virus (IBV) infection in chickens. *Virology*. 2022;566:75–88.
- 21- Shoushtari H, Motamed N. False layer syndrome in a commercial layer flock associated with infectious bronchitis virus variant. *Exploratory Animal and Medical Research*. 2023;13:277–82.
- Ghafouri SA, Tehrani F, et al. Serological Survey of Avian Influenza (H9N2) in Commercial Ostrich Farms in Iran, 2015 %J *Archives of Razi Institute*. 2018;73(4):325–30.
- 10- FallahMehrababdi MH, Ghafouri S, Ghalyanchilangeroudi A, Hosseini H, Khaltabadi Farahani R, Maghsoudloo H, et al. Evaluation of the Antibody Titration in Vaccinated Chickens Against Infectious Bronchitis Virus Using Three Commercial ELISA Kits %J *Iranian Journal of Virology*. 2018;12(2):13–8.
- 11- Farhadi F, Farshid AA, Alavi MH, Ameghi A, Mahmoudi SS. Histopathological evaluation of trachea, lung, and mesonephros in specific pathogen free-eggs embryos inoculated for titration of avian infectious bronchitis virus M41 strain. *Veterinary research forum : an international quarterly journal*. 2025;16(3):161–6.
- 12- Hasan, II, Rasheed ST, Jasim NA, Shakor MK. Pathological effect of infectious bronchitis disease virus on broiler chicken trachea and kidney tissues. *Veterinary world*. 2020;13(10):2203–8.
- 13- Huang B, Chen S, Wang Z, Feng K, Teng Y, Li R, et al. Development and immunoprotection assessment of novel vaccines for avian infectious bronchitis virus. *Virologica Sinica*. 2025;40(3):462–76.
- 14- Hussein aM, jumma qs. Diagnosis of Infectious Bronchitis Infection in Broiler Chicken Farms in Salah Al-Din Governorate %J *Egyptian Journal of Veterinary Sciences*. 2024;55(6):1619–26.
- 15- Ismail MI, Tan SW, Hair-Bejo M, Omar AR. Evaluation of the antigen relatedness and efficacy of a single vaccination with different infectious bronchitis virus





- 24- Terregino C, Toffan A, Beato MS, De Nardi R, Vascellari M, Meini A, et al. Pathogenicity of a QX strain of infectious bronchitis virus in specific pathogen free and commercial broiler chickens, and evaluation of protection induced by a vaccination programme based on the Ma5 and 4/91 serotypes. *Avian pathology : journal of the WVPA*. 2008;37(5):487-93.
- 22- Smialek M ,Tykalowski B, Dziewulska D, Stenzel T, Koncicki A. Immunological aspects of the efficiency of protectotype vaccination strategy against chicken infectious bronchitis. *BMC veterinary research*. 2017;13(1):44.
- 23- Sultan HA, Ali A, El Feil WK, Bazid AHI, Zain El-Abideen MA, Kilany WH. Protective Efficacy of Different Live Attenuated Infectious Bronchitis Virus Vaccination Regimes Against Challenge With IBV Variant-2 Circulating in the Middle East. *Front Vet Sci*. 2019;6:341.





Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2026; 20(1): 21-33.
<http://doi.org/10.22034/ijvcs.2026.15000.1098>

Investigation of Histopathological Changes and Immune Response of Specific Pathogen-Free (SPF) Chickens after Vaccination with *Infectious Bronchitis* Vaccines of Genotypes GI-1, GI-13 and GI-23

Mohammad Islampanah¹; Najmeh Motamed^{2*}

1. Department of Pathology and Epidemiology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj- Iran.
2. Department of Poultry Vaccine Research and Production, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Karaj- Iran.

Received: 22 April 2026

Accepted: 12 September 2026

Summary

Infectious bronchitis is controlled by widespread vaccination with live or inactivated vaccines, but despite numerous studies on their safety for chicks, these vaccines may cause complications such as respiratory problems in the field. The aim of this study was to evaluate the pathology and immune response induced by the vaccine with the current vaccination regimen at one day of age in specific pathogen-free (SPF) chicks. Four groups of 20 SPF chicks were vaccinated intranasally on the first day after hatching with two vaccines from two serotypes, Massachusetts and 793/B, and one group of *Massachusetts* with variant 2 from different vaccine companies as a bivalent vaccine. Respiratory ciliary activity, antibody response, and pathological changes in tracheal, kidney, and lung tissues were evaluated on days 5 and 8 after vaccination. Antibody response increased significantly in all treatment groups after vaccination, but the highest titer was in the H120 + variant 2 vaccine group. Pathological lesions ranging from hyperemia, degeneration to detachment of epithelial cells and then mucosal hyperplasia were evident in all groups in the trachea, lungs and kidneys. It can be concluded that the bronchitis vaccine, in addition to stimulating immunity and protection, produces lesions that are consistent with the affinity of the virus strain to the target tissue, and this should be taken into account by poultry farmers and farm veterinarians when injecting the vaccine and the occurrence of secondary bacterial infections or deaths should be prevented with supportive or preventive treatments.

Keywords: Trachea, Kidney, Histopathology, Antibody, Protection, Strain

* Corresponding Author drmotamed95@gmail.com ; n.motamed@rvsri.ac.ir

