نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران؛ ۱۴۰۰؛ ۱۵(۱): ۲۳-۳۴.

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

غلامحسین پورقنبری مروست[1*]

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

دریافت: ۲ دی‌ماه ۹۸ **پذیرش:** ۵ شهریورماه ۹۹

چکیده

نیوکاسل یک بیماری بسیار واگیر و کشنده در اکثر گونه‌های پرندگان از جمله کبک است. روش تجویز واکسن به‌عنوان یک شاخص مهم در مدیریت بیماری مورد نظر است. از سویی ترکیبات موجود در گیاهان به‌طور مستقیم و غیر مستقیم بر پاسخ‌های ایمنی اثرگذار هستند. در این مطالعه ۶۳۰ قطعه کبک به ۲۱ گروه تقسیم شدند و برنامه واکسیناسیون با واکسن‌های زنده (B۱، کلون و لاسوتا) و واکسن غیر فعال 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) پودر رزماری غنی‌سازی گردید، آن‌گاه در سن ۱۴، ۲۸ و ۵۶ روزگی با خون‌گیری از ورید بالی پرنده‌ها، سرم آن‌ها جمع‌آوری شد و آزمایش مهار هماگلوتیناسیون (HI) به‌منظور محاسبه عیار پادتن ضد ویروس بیماری نیوکاسل استفاده گردید. گروه‌های دریافت‌کننده واکسن‌های غیر فعال به همراه واکسن‌های زنده منجر به تولید عیار پادتن به میزان بالاتری نسبت به تجویز واکسن‌های زنده به‌صورت تنهایی گردید ($P<0/05$)، همچنین گروه‌های دریافت‌کننده واکسن 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 ($P<0/05$). تغذیه کبک‌ها با سطوح مختلف پودر رزماری تأثیری بر سطح عیار پادتن در گروه‌های مختلف نداشت. طبق نتایج این مطالعه، تجویز واکسن‌های زنده به روش اسپری و قطره چشمی به همراه واکسن غیر فعال می‌تواند عیار پادتن بالاتری را در گله‌های کبک ایجاد کند.

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

مقدمه

نیوکاسل یک بیماری بسیار واگیر و کشنده است و اکثر گونه‌های پرندگان می‌توانند درگیر این بیماری شوند. عامل ایجاد کننده این بیماری، از سویه‌های حاد متعلق به سروتیپ یک پارامیکسوویروس‌های پرندگان (APMV۱) است. پارامیکسوویروس‌های جدا شده از پرندگان بر حسب تست‌های سرولوژیکی و آنالیزهای فیلوژنوتیک به ۱۱ سروتیپ طبقه‌بندی و از ۱ تا ۱۱ نام‌گذاری شده‌اند (۲ و ۱۱). ژنوم این ویروس از ۶ ژن مختلف تشکیل شده است و در طبقه‌بندی دیگر بر اساس خصوصیات ژنومی قطعات کد کننده پروتئین F، این ویروس‌ها به‌کلاس I و II طبقه‌بندی شده‌اند. ویروس‌های کلاس I اکثراً در پرندگان وحشی، پرنده‌فروشی‌ها، پرندگان اهلی و خانگی یافت شده‌اند. اکثر سویه‌های موجود در این گروه دارای حدت کمی هستند. ویروس‌های کلاس II معمولاً از گله‌های طیور، پرندگان زینتی و خانگی و پرندگان وحشی آبزی جداسازی و به ۱۸ ژنوتیپ از XVIII طبقه‌بندی شده‌اند. سویه‌های موجود در واکسن‌های نیوکاسل و ویروس‌های حاد و بیماری‌زای نیوکاسل در این گروه قرار گرفته‌اند. ویروس‌های نیوکاسل بر اساس بیماری‌زایی به ویروس‌های بسیار بیماری‌زا (ولوژنیک)، با بیماری‌زایی متوسط (مزوژنیک)، با بیماری زایی بسیار ضعیف (لنتوژنیک) و غیر بیماری‌زا تقسیم‌بندی

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Hpourghanbari@ardakan.ac.ir

می‌شوند (۸، ۹، ۱۴و ۴۵).

مهم‌ترین و مؤثرترین رویکرد در مدیریت بیماری نیوکاسل، رعایت مسایل بهداشتی و اجرای برنامه واکسیناسیون است. به طور کلی هدف از انجام و اجرای برنامه واکسیناسیون، القا پاسخ ایمنی مناسب و محافظت-کننده در مقابل ویروس بیماری‌زای نیوکاسل است. نتیجه حاصل از واکسیناسیون تحت تأثیر 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، برنامه واکسیناسیون، روش و نحوه تجویز واکسن اشاره کرد (۴۸). با اجرای یک برنامه واکسیناسیون مناسب، می‌توان به سطوحی از عیار پادتن محافظت‌کننده در برابر ویروس بیماری‌زای نیوکاسل، دست پیدا کرد و یکی از عوامل مهم و تأثیرگذار بر پاسخ‌های ایمنی، روش تجویز واکسن است. بر همین اساس بررسی و مقایسه روش‌های مختلف تجویز واکسن‌ها امری ضروری به نظر می‌رسد (۲۰، ۳۴ و ۴۳).

گیاهان و فرآورده‌های آن‌ها از طریق بهبود وضعیت میکروفلور طبیعی دستگاه گوارش و اثرات بیولوژیک مختلف از جمله خواص آنتی‌اکسیدانی، تأثیرات مثبت خود را بر سیستم ایمنی نیز اعمال می‌کنند (۱۵و ۳۵). رزماری به‌عنوان یک گیاه دارویی و معطر و طعم‌دهنده شناخته شده است. مهم‌ترین ترکیبات رزماری شامل فلاوونوئیدها، ترکیبات فنلی مانند کارنوسول، کارنوسیک اسید، رزمانول، کافئیک اسید، رزمارینیک اسید و تری‌ترپن‌ها هستند. مشتقات فنلی به‌عنوان مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدان در این گیاه شناخته شده‌اند (۱۰، ۱۱ و ۳۵). شواهدی مبنی بر تأثیر مثبت پودر و اسانس این گیاه بر سیستم ایمنی وجود دارد (۱۴)، همچنین عنوان شده است که این گیاه می‌تواند موجب بهبود پاسخ ایمنی سلولی و هومورال در بیماری نیوکاسل شود (۱۰ و ۱۹). عثمان و همکاران عنوان کردند که پودر رزماری به مقدار ۰/۵ درصد می‌تواند تولید پادتن ضد بیماری نیوکاسل را بهبود دهد، اما در غلظت ۱ درصد این اثر مثبت مشاهده نگردید (۲۸)؛ از سویی در مطالعات متعددی عنوان شده است که رزماری اثر مثبتی بر پاسخ‌های ایمنی هومورال ندارد (۳۵ و ۴۲). با توجه توسعه و رشد روزافزون صنعت پرورش کبک در مناطق مختلف، بیماری نیوکاسل به‌عنوان یک بیماری واگیر و کشنده اهمیت ویژه‌ای در این صنعت دارد. بر اساس شواهد موجود، اطلاعات اندک و گاهی متناقض در ارتباط با صنعت پرورش کبک و به‌خصوص اثر روش‌های مختلف واکسیناسیون وهمچنین اضافه کردن پودر رزماری به‌عنوان 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 سطوح مختلف پودر رزماری بر پاسخ ایمنی هومورال کبک نژاد چوکار در دوره آغازین بررسی شد.

مواد و روش‌کار

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 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 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 پودر رزماری تا ۸ هفتگی در قالب ۳ تیمار مختلف تغذیه شدند. ترکیب جیره در جدول ۱ درج شده است. در طی این مدت آب و غذا به‌صورت 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 شد. درجه حرارت روز اول ۳۵ درجه سانتی‌گراد بود و بعد از آن هر هفته ۲/۵ درجه تا رسیدن به دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت. در این مطالعه به‌منظور انجام واکسیناسیون واکسن زنده نیوکاسل سویه B۱، واکسن زنده نیوکاسل کلون سویه .IR۱۲Clone، واکسن زنده نیوکاسل سویه لاسوتا و واکسن غیر فعال روغنی نیوکاسل طیور (تولید مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی) و روش‌های قطره چشمی (E)، آشامیدنی (D)، اسپری (S) و تزریق (IN) در ناحیه زیر پوست گردن، طی روزهای ۱، ۸، ۱۰، ۲۰ و ۳۵، طبق یک برنامه واکسیناسیون مشخص که در جدول ۲ آمده است، استفاده گردید.

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

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

**: هر کیلوگرم مکمل دو قلوی ویتامینه و معدنی حاوی: ۱۸۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین A، ۴۰۰۰۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین D۳، ۳۶۰۰ واحد بین‌المللی ویتامین E، ۴۰۰ میلی‌گرم ویتامین K، ۳۶۰ میلی‌گرم تیامین، ۱۲۳۰ میلی‌گرم ریبوفلاوین، ۶۰۰۰ میلی‌گرم نیاسین، ۲۰۰۰ میلی‌گرم پانتوتونیک اسید، ۶۰۰ میلی‌گرم پیریدوکسین، ۲۰۰ میلی‌گرم فولیک اسید، ۳ میلی‌گرم کوبالامین، ۲۰ میلی‌گرم بیوتین، ۱۰۰ میلی‌گرم آنتی‌اکسیدان، ۸۰۰۰۰ میلی‌گرم کولین، ۱۰۰۰۰ میلی‌گرم آهن، ۲۰۰۰۰ میلی‌گرم منگنز، ۱۷۰۰۰ میلی‌گرم روی، ۲۰۰۰ میلی‌گرم مس، ۴۰ میلی‌گرم سلنیوم، ۲۰۰ میلی‌گرم ید.

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

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

در این مطالعه واکسن‌های زنده و غیرفعال روغنی نیوکاسل در روزهای مختلف و طبق برنامه ارایه شده در این جدول استفاده گردید. قابل ذکر است هر تیمار، سه جیره مختلف حاوی سطوح مختلف پودر رزماری را دریافت کرد.

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

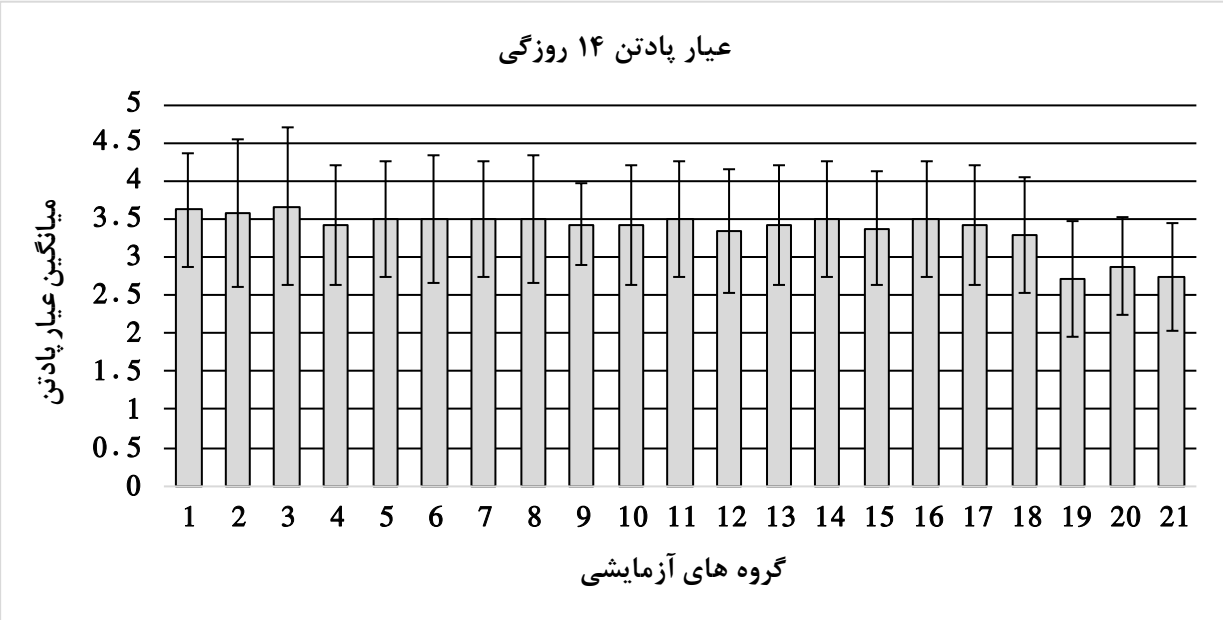
، **روش تجویز ۱: قطره چشمی (B_1)، **روش تجویز۲:** آشامیدنی (B_1)، **روش تجویز ۳:** اسپری (B_1)، **روش تجویز ۴:** قطره چشمی (B_1)، **روش تجویز ۵:** آشامیدنی (B_1)، **روش تجویز ۶:** اسپری (B_1)، **روش تجویز ۷:** تزریقی (واکسن غیر فعال روغنی نیوکاسل) **روش تجویز ۸:** قطره چشمی (کلون)، **روش تجویز ۹:** آشامیدنی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

نمونه‌های خونی در روزهای ۱۴، ۲۸ و ۵۶ با خون-گیری از ورید بالی ۵ پرنده در هر تکرار جمع‌آوری شد و با دستگاه سانتریفیوژ سرم نمونه‌ها جداسازی در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد. به‌منظور بررسی عیار سرمی پادتن نیوکاسل، آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون (HI) بر اساس استاندارد OIE (Office International des Epizooties or World Organization for Animal Health) انجام گرفت (۶). برای انجام آزمایش از میکروپلیت ۹۶ خانه‌ای و آنتی‌ژن ۴ واحدی ویروس نیوکاسل ساخت شرکت پسوک (پسوپاسل) استفاده گردید، همچنین گلبول قرمز ۱ درصد نیز از تعدادی کبک کاملاً سالم، کنترل‌شده از نظر بهداشتی و بدون دریافت هیچ‌گونه واکسن در طی دوره پرورش اخذ گردید. کلیه آزمایش‌ها در آزمایشگاه تشخیص بیماری‌های طیور دانشگاه اردکان انجام گرفت.

اطلاعات به‌دست آمده با برنامه SPSS نسخه ۲۲ و آنالیز واریانس یک‌طرفه تجزیه و تحلیل آماری شد، همچنین برای مقایسه میانگین گروه‌های آزمایشی، آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال خطای کمتر از ۵ درصد انجام شد.

نتایج

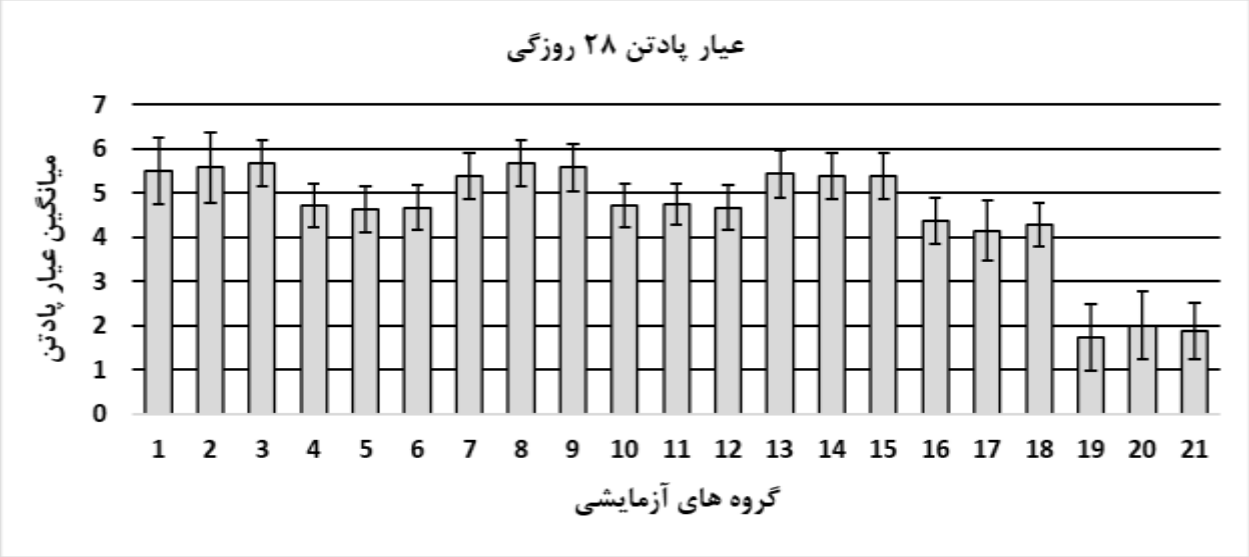
طبق نتایج به‌دست آمده از آزمایش مهار هماگلوتیناسیون در سن ۱۴ روزگی، تیمارهایی که واکسن‌ها را به روش قطره چشمی دریافت کرده بودند، بالاترین میانگین عیار پادتن (۳/۶۲±۰/۷۴) و گروه‌های کنترل که هیچ واکسنی دریافت نکرده بودند پایین‌ترین میانگین عیار پادتن (۲/۷۵±۰/۷) را نشان دادند، اما اختلاف آماری معنی‌دار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



شکل ۱- مقایسه تأثیر روش‌های مختلف واکسیناسیون و سطوح مختلف پودر رزماری در جیره کبک‌های نژاد چوکار بر عیارپادتن ضد ویروس نیوکاسل به‌دست آمده توسط آزمایش مهارهماگلوتیناسیون در ۱۴ روزگی. (نتایج به‌صورت 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.

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 به‌دست آمد (شکل ۲). طبق تحلیل‌های آماری، گروه‌های مختلف آزمایشی اختلاف

آماری معنی‌دار را نشان دادند، به‌صورتی‌که در جوجه‌های دریافت‌کننده واکسن غیر فعال و جوجه‌های غیر واکسینه با واکسن غیر فعال، تفاوت آماری معنی‌دار دیده شد، اما روش‌های قطره چشمی، اسپری و آشامیدنی اختلاف آماری معنی‌داری را نشان ندادند، همچنین همه گروه‌های آزمایشی دارای اختلاف آماری معنی‌دار با گروه کنترل بودند (P<۰/۰۵). (شکل ۲).



شکل ۲- مقایسه تأثیر روش‌های مختلف واکسیناسیون و سطوح مختلف پودر رزماری در جیره کبک‌های نژاد چوکار بر عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل به‌دست آمده توسط آزمایش مهار هماگلوتیناسیون در ۲۸ روزگی. (نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف از معیار بیان شده است). قطره چشمی (**E**)، اسپری (**S**)، آشامیدنی (**D**)، غیر فعال 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.

همان‌طور که در شکل ۳ مشاهده می‌شود، بر اساس بررسی‌های انجام‌گرفته 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 معنی‌دار را نشان دادند، همچنین میانگین عیار پادتن در تیمارهای دریافت‌کننده واکسن غیر فعال در مقایسه با گروه‌هایی که واکسن غیر فعال استفاده نشده بود، به‌طور معنی‌داری بیشتر به‌دست آمد، همچنین تیمارهای دریافت‌کننده واکسن‌های زنده به روش‌های قطره چشمی و اسپری در مقایسه با روش آشامیدنی، به‌طور معنی‌دار میانگین عیار پادتن بالاتری را نشان دادند. در مقایسه گروه‌های مختلف آزمایشی بالاترین عیار پادتن (۷/۱۶±۰/۷۵ الی ۷/۵۷±۰/۵۳) در تیمارهای دریافت‌کننده واکسن غیر فعال و واکسن زنده به روش اسپری و قطره چشمی مشاهده شد (P<۰/۰۵) (شکل ۳).

شکل ۳- مقایسه تأثیر روش‌های مختلف واکسیناسیون و سطوح مختلف پودر رزماری در جیره کبک‌های نژاد چوکار بر عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل به‌دست آمده توسط آزمایش مهار هماگلوتیناسیون در ۵۶ روزگی. (نتایج به‌صورت میانگین ± انحراف از معیار بیان شده است). قطره چشمی (**E**)، اسپری (**S**)، آشامیدنی (**D**)، غیر فعال 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.

بر اساس نتایج به‌دست آمده سطوح مختلف پودر رزماری در این مطالعه، تأثیری بر میانگین عیار پادتن در سنین ۱۴، ۳۵ و ۵۶ روزگی در گروه‌های آزمایشی نداشت و در مقایسه با گروه‌های کنترل که پودر رزماری در جیره آن‌ها اضافه نشده بود تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۱، ۲ و۳) (P>۰/۰۵).

بحث

بیماری ویروسی نیوکاسل یکی از مهم‌ترین بیماری‌های طیور به‌لحاظ اقتصادی است. کشورهای فعال در زمینه صنعت طیور هزینه‌های بسیار زیادی را برای پیش‌گیری، کنترل و درمان بیماری نیوکاسل صرف می‌کنند (۲). با توجه به این که صنعت پرورش کبک در سال‌های اخیر رونق زیادی داشته است و از طرفی اطلاعات بسیار اندک در ارتباط با این پرنده از جمله روش‌های مختلف واکسیناسیون، پژوهش حاضر طراحی گردید. در این مطالعه پرندگان در همه گروه‌ها تحت شرایط امنیت-زیستی پرورش یافتند و به‌صورت روزانه معاینه و بررسی شدند 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 کند و گاهی علائم خفیفی را نشان می‌دهند که در این مطالعه علائمی مشاهده نگردید (۵، ۲۰، ۲۵ و ۴۳).

همان‌طور که در شکل ۱ مشاهده می‌شود میانگین عیار پادتن در روز ۱۴ در گروه‌های مختلف آزمایشی فاقد اختلاف آماری معنی‌دار هستند. در گروه‌های کنترل که واکسنی دریافت نکرده بودند عیار پادتن به‌صورت عددی کمتر به‌دست آمد، اما به‌صورت آماری اختلاف معنی‌دار نبود؛ علت این امر را می‌توان وجود پادتن‌های مادری در گروه‌های کنترل بیان کرد 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 الی ۱۰ روز گزارش کرده‌اند، اما در ارتباط با بیماری نیوکاسل این زمان حتی تا ۲۱ الی ۲۸ روزگی نیز گزارش شده است (۱، ۱۳ و ۲۷).

بر اساس نتایج حاصل از اندازه‌گیری عیار پادتن در روز ۲۸ پرورش، همه گروه‌های آزمایشی به‌طور معنی‌دار 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 به‌خصوص جوجه‌های گوشتی نهایتاً تا روز ۲۸ الی ۳۰ قابل رؤیت هستند و در این مطالعه نیز عیار پادتن در گروه‌های کنترل ۱/۷ الی ۲ مشاهده گردید (۱، ۱۸ و ۲۷). در ادامه همه گروه‌هایی که واکسن زنده همراه با واکسن غیر فعال را دریافت کرده بودند در مقایسه با گروه‌های دریافت کننده واکسن زنده به تنهایی، به‌صورت معنی‌دار عیار پادتن بالاتری را به‌دست 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 موجب آزاد شدن تدریجی آنتی‌ژن‌های موجود در واکسن و تحریک سیستم ایمنی هومورال در زمان طولانی می‌شود (۳۰، ۳۱، ۳۳ و ۴۴)، همچنین بر اساس یافته‌های سرولوژی در این مرحله، گروه‌هایی که فقط دریافت‌کننده واکسن زنده از طریق اسپری، قطره چشمی و آشامیدنی بودند، اختلاف آماری معنی‌داری را با هم نشان ندادند. در این مطالعه واکسن‌های استفاده‌شده در هر نوبت واکسیناسیون یکسان بود، اما با روش‌های مختلف تجویز گردید، با توجه به این نکته، استفاده از روش‌های قطره چشمی، اسپری و آشامیدنی تا این مرحله تأثیر متفاوتی بر پاسخ ایمنی هومورال نداشته‌اند. در مطالعه‌ای عنوان شده است در نوبت‌های اولیه واکسیناسیون، پاسخ‌های ایمنی در برابر واکسن‌های مختلف یکسان است، اما ممکن است در نوبت‌های بعدی و کاربرد واکسن‌های یادآور و حاوی سویه‌های متفاوت، عیار بالاتری را ایجاد کنند (۲۱ و ۳۶).

با توجه به نتایج عیار پادتن به‌دست آمده در انتهای مطالعه (۵۶ روزگی)، گروه‌های کنترل فاقد عیار پادتن قابل مشاهده بود 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 هستند و نهایتاً تا هفته پنجم به‌طور کلی از بین می‌روند، این‌گونه به نظر می‌رسد که در مورد گونه کبک هم از الگوی مشابه‌ای مانند جوجه‌های گوشتی پیروی می‌کند (۱ و ۱۳)، همچنین مانند نتایج روز ۲۸، در این مرحله نیز گروه‌های واکسینه شده با واکسن زنده و واکسن غیر فعال، در مقایسه با گروه‌هایی که فقط واکسن زنده دریافت کرده بودند، به‌صورت معنی‌داری عیار پادتن بالاتری را نشان دادند. با توجه به گذشت حدود ۷ هفته از زمان تجویز واکسن غیر فعال، عیار در این گروه‌ها به سطوح بالایی رسیده‌اند. اصولاً استفاده هم‌زمان واکسن‌های زنده و غیر فعال در طیور گوشتی نسبت به استفاده از واکسن‌های زنده، به‌طور معنی‌داری عیار پادتن بالاتر و محافظت بیشتری را در مقابل سویه‌های وحشی ویروس بیماری نیوکاسل ایجاد می‌کنند؛ در واقع می‌توان عنوان کرد که استفاده از واکسن غیر فعال در برنامه واکسیناسیون، سطوح بالایی از پادتن را ایجاد می‌کند و میزان تکثیر و دفع ویروس را کاهش می‌دهد (۲، ۲۱، ۲۳، ۲۴ و ۴۱)، همچنین گزارش شده است که واکسیناسیون گله با واکسن‌های زنده به تنهایی نمی‌تواند محافظت لازم را در برابر بیماری نیوکاسل ایجاد کند (۴۶). Mohammadi و همکاران عنوان کردند که کاربرد واکسن‌های زنده نیوکاسل به‌همراه واکسن‌های غیر فعال نسبت به حالتی که واکسن زنده به‌صورت تنهایی استفاده می‌شود، عیار پادتن بالاتری را تولید می‌کنند (۲۶). ادجوان‌ها یا یاورها محرک غیر اختصاصی ایمنی ذاتی و اکتسابی هستند. افزایش قدرت ایمونوژنی واکسن‌های توکسوئیدی و غیر فعال به‌عنوان مهم‌ترین فایده ادجوان‌هاست. ادجوان‌ها باعث افزایش ماندگاری آنتی‌ژن در محل تزریق واکسن غیر فعال، می‌شوند و غلظت آن را برای مدت طولانی‌تری بالا نگه می‌دارند، همچنین این ترکیبات با تحریک تولید سیتوکین‌های التهابی، کمک به تمایز لنفوسیت‌های T و افزایش بیان MHC (Major histocompatibility complex) کلاس II، باعث تقویت سیستم ایمنی می‌شوند. مهم‌ترین ویژگی ادجوان‌ها، آزاد کردن تدریجی آنتی‌ژن محلول از محل تزریق و افزایش زمان دسترسی به آنتی‌ژن است (۳).

در ادامه در مقایسه گروه‌هایی که فقط واکسن زنده را به روش اسپری، قطره چشمی و آشامیدنی دریافت کرده بودند (بدون واکسن غیر فعال)، اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نگردید، اما عیار پادتن در گروه‌های واکسینه شده با واکسن زنده به همراه واکسن غیر فعال با هم تفاوت آماری داشتند، بدین‌صورت که گروه‌های واکسینه شده با

روش اسپری و قطره چشمی به‌طور معنی‌داری عیار بالاتری را نسبت به گروه واکسینه شده به روش آشامیدنی نشان دادند. خدایاری و فیض (۲۱) در مطالعه‌ای روش‌های مختلف تجویز واکسن‌های بیماری نیوکاسل در طیور گوشتی را مقایسه کردند و در نهایت گزارش کردند که استفاده واکسن‌های زنده به‌صورت قطره چشمی به‌همراه واکسن غیر فعال و همچنین روش اسپری به‌همراه واکسن غیر فعال می‌تواند بهترین پاسخ‌های ایمنی را اعمال کند که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. همچنین در یک بررسی، روش‌های مختلف واکسیناسیون با واکسن‌های زنده لاسوتا و موکتسوار به روش‌های قطره چشمی و آشامیدنی بررسی شده و نهایتاً عنوان شده است که روش قطره چشمی به نسبت آشامیدنی عیار پادتن بالاتری را ایجاد می‌کند (۲۰ و ۳۴). در مقایسه روش‌های آشامیدنی، داخل نایی و اسپری در طیور گوشتی، روش اسپری به عنوان مؤثرترین شیوه تجویز واکسن‌های زنده اعلام شده است (۲۹). به هرحال علی‌رغم این که در روش اسپری عیار بالایی از پادتن تولید می‌شود، اما این روش دارای مخاطرات خاص خود است (۲۲). در مطالعه حاضر با توجه به برنامه واکسیناسیون، در گروه‌های واکسینه شده به روش اسپری عوارضی را نشان ندادند.

مطالعات مختلفی عنوان کرده‌اند که روش قطره چشمی در مقایسه با روش آشامیدنی مؤثرتر است (۷ و ۴۰). در روش آشامیدنی عواملی مانند عدم یک‌نواختی در توزیع و دریافت واکسن، تخریب ویروس واکسن در دستگاه گوارش، تفاوت در تمایل بافتی سویه‌های واکسن، بر عیار آنتی‌بادی تولید شده روش مؤثر هستند (۱۷، ۲۱ و ۳۴). این در حالی است که در روش قطره چشمی علاوه بر این که 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 (۳۲، ۳۷، ۳۸ و ۳۹).

در این مطالعه جیره آغازین شامل سه سطح پودر رزماری به‌منظور بررسی تأثیر آن بر پاسخ ایمنی هومورال استفاده گردید. همان‌طور که در شکل ۱، ۲ و ۳ مشاهده می‌شود سطوح مختلف رزماری تأثیری بر نتایج حاصل از تست مهار هماگلوتیناسیون و عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل ندارد. گیاهان از طریق تحریک تولید سیتوکین‌ها، افزایش فعالیت ماکروفاژها و لنفوسیت‌ها و گاهاً اثرات ضد التهابی سیستم ایمنی را تقویت می‌کنند (۴۷). در مطالعات مختلفی عنوان شده است که استفاده پودر رزماری با توجه به ترکیباتی نظیر رزمارنیک اسید و ... موجب بهبود پاسخ ایمنی سلولی و هومورال در بیماری نیوکاسل می‌شود (۱۰، ۱۴، ۱۹، ۲۸)، از سوی دیگر در مطالعه‌ای مشاهده شده است که پودر رزماری به همراه ویتامین E تأثیر جزئی بر بهبود پاسخ‌های ایمنی هومورال جوجه‌های گوشتی دارند، اما این پاسخ‌ها به‌صورت معنی‌داری محافظت‌کننده نیستند (۳۵)، همچنین عنوان شده است که استفاده از غلظت بالای اسانس روغنی رزماری و سیر می‌تواند موجب افزایش لوکوسیت‌های خون و فعالیت بیگانه‌خواری گردد، اما تأثیری بر عیار پادتن ضد ویروس نیوکاسل ندارد (۱۰). در هر صورت، نتایج مطالعات متعددی با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌خوانی دارند (۴، ۱۰، ۱۹، ۳۵ و ۴۲). از دلایل عدم تأثیر پودر رزماری بر ایمنی هومورال می‌توان به مواردی از جمله، میزان پودر رزماری استفاده شده، کیفیت نامناسب پودر رزماری، سلامت پرنده، وضعیت بهداشتی محل نگه‌داری و شرایط پرورشی و کیفیت ترکیبات استفاده شده در جیره، اشاره کرد. قابل ذکر است که تا به حال مطالعه‌ای مبنی بر کاربرد پودر رزماری در جیره کبک و تأثیرگذاری بر ایمنی هومورال انجام نگرفته است (۴۷).

در نهایت نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تغذیه کبک با سطوح مختلف پودر رزماری استفاده شده در این مطالعه تأثیری بر پاسخ ایمنی هومورال ندارد و بررسی‌های بیشتری در این مورد لازم است. طبق یافته‌های این مطالعه، روش‌های مختلف واکسیناسیون در بیماری نیوکاسل بر پاسخ ایمنی هومورال تأثیرگذار است. بر همین اساس استفاده واکسن‌های غیر فعال به همراه واکسن‌های زنده منجر به تولید عیار پادتن به میزان بالاتری نسبت به استفاده از واکسن‌های زنده به‌صورت تنهایی می‌شوند، همچنین گروه‌های دریافت‌کننده 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 به‌طور معنی‌دار عیار پادتن در گروه‌های واکسینه شده به روش‌های قطره چشمی و اسپری بالاتر بود. در این مطالعه با افزایش سن،

تأثیر روش‌های واکسیناسیون بر پاسخ ایمنی هومورال قابل ملاحظه‌تر بود و بر همین اساس بررسی تأثیر روش‌های واکسیناسیون در دوره رشد و دوره تولید، لازم به نظر می‌رسد.

قدردانی و تشکر

بودجه و هزینه‌های این پژوهش از منابع مرتبط با پژوهانه دانشگاه اردکان تأمین گردید و نویسنده مقاله مراتب سپاس و قدردانی خود را از دانشکده پیرادامپزشکی دانشگاه اردکان به‌دلیل فراهم کردن امکان انجام این مطالعه، اعلام می‌کند.

منابع

1- Adade, E; Emikpe, B; Folitse, R; Boakye, O; Adusei, K. and 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: 305-311.

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

3- Awate, S; Babiuk, L. A. B. and Mutwiri, G; Mechanisms of action of adjuvants. Front Immunol.; 2013; 4: 114.

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

5- Bwala, D G; Abolnik, C; Van Wyk, A; Cornelius, E. and 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: 174-178.

6- Capua, I. and Terregino, C; Conventional diagnosis of Newcastle disease virus infection. In: Avian influenza and Newcastle disease: A Field and Laboratory Manual, eds Capua, I. and Alexander, D. J; Milano: Springer. 2009; pp: 123-125.

7- Collett, S. R; Smith, J. A; Boulianne, M; Owen, R. L; Gingerich, E; Singer, R. S; Johnson, T. J; Hofacre, C. L; Berghaus, R. D. and Brown, B. S; Principles of disease prevention, diagnosis, and control. In: Diseases of poultry, eds Swayne D. E; USA: Wiley-Blackwell. 2013. pp: 1-78.

8- Diel, DG; da Silva, LH; Liu, H; Wang, Z; Miller, PJ; Afonso, CL; Genetic diversity of avian paramyxovirus type 1: proposal for a unified nomenclature and classification system of Newcastle disease virus genotypes. Infect Genet Evol.; 2012;12:1770-1779.

9- Dimitrov, KM; Abolnik, C; Afonso, CL; Albina, E; Bahl, J; Berg, M; Briand, FX; Brown, IH; Choi, KS; Chvala, I; Diel, DG; Updated unified phylogenetic classification system and revised nomenclature for Newcastle disease virus. Infect Genet Evol.; 2019; 74:103917. doi.org/10.1016/j.meegid.2019.103917

10- El-Latif, A .S. A; Saleh, N. S; Allam, T. S. and Ghazy, E W; The effects of rosemary (Rosemarinus afficinalis) and garlic (Allium sativum) essential oils on performance,hematological,biochemical and immunological parameters of broiler chickens. Br. Poult.; 2013; 2: 16-24.

11- Erdmann, M. E; Lautenschlaeger, R; Zeeb, B; Gibis, M. and 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.

12- Getabalew, M; Alemneh, T; Akeberegn, D; Getahun, D. and Zewdie, D; Epidemiology, Diagnosis & Prevention of Newcastle Disease in Poultry. Am. J. Biomed. Sci.; DOI:10.34297/AJBSR.2019.03.000632.

13- Gharaibeh, S. and Mahmoud, K; Decay of maternal antibodies in broiler chickens. Poult. Sci.; 2013; 92: 2333-2336.

14- Ghozlan, S; El-Far, A; Sadek, K; Abourawash, A. and 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: 152-161.
15- Hashemi, S. and Davoodi, H; Herbal plants as new immuno-stimulator in poultry industry: A review. Asian J Anim Vet Adv.; 2012; 7: 105-116.
16- Hines, N. L. and Miller, C. L; Avian paramyxovirus serotype-1: a review of disease distribution, clinical symptoms, and laboratory diagnostics. Vet. Med. In.; 2012; 2012.
17- Irena, L. N; Mazija, H; Šimpraga, M; Štoković, I; Tajana, A. Z. and Vojta, A; Effects of various application routes of Newcastle disease vaccine on specific antibody titres in ostriches. Acta Vet Brno.; 2008; 58: 159-165.
18- Jalil, M; Samad, M. and 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: 296-302.
19- Khaligh, F; Sadeghi, G; Karimi, A. and Vaziry, A; Evaluation of different medicinal plants blends in diets for broiler chickens. J Med Plant Res.; 2011; 5: 1971-1977.
20- Khodayari, M. and Feizi, A; Evaluation of Different routes of vaccination by Avinew vaccine on humoral antibody response by HI and ELISA method. J. Livest. Sci.; 2017; 8: 216-220.
21- Khodayari, M. and Feizi, A; Evaluation of different routes of vaccination by clone vaccine on humoral antibody response. Explor Anim Med Res.; 2017; 7: 165-169.
22- Landman, W; Vervaet, C; Remon, J; Huyge, K. and 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: 451-461.
23- Lin, M; Chung, Y; Hung, S; Cheng, M. and 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: 33-45.
24- Miller, P. J; Estevez, C; Yu, Q; Suarez, D. L. and King, D. J; Comparison of viral shedding following vaccination with inactivated and live Newcastle disease vaccines formulated with wild-type and recombinant viruses. Avian Dis.; 2009; 53: 39-49.
25- Miller, P. J; King, D. J; Afonso, C. L. and Suarez, D. L; Antigenic differences among Newcastle disease virus strains of different genotypes used in vaccine formulation affect viral shedding after a virulent challenge. Vaccine, 2007; 25: 7238-7246.
26- Mohammadi, A; Hooshmand-Rad, P; Ahourae, P; Momayies-Siahkal, R; Taleb-Shooshtary, A; Charkhkar, S. and Ghodsian, N; Development and Manufacture of an Inactive OH Emulsion Newcastle Disease Vaccine in Iran. Arch. Inst. RAZI.; 1996; 46/47: 91-96.
27- Oni, O. and Adedipe, O; Role of maternally derived antibody in Newcastle disease vaccination. Niger Vet J.; 2012; 33: 499-504.
28- Osman, M; Yakout, H; Motawe, H. and El-Arab, W E; Productive, physiological, immunological and economical effects of supplementing natural feed additives to broiler diets. Egypt. Poult. Sci. J.; 2010; 30: 25-53.
29- Partadiredja, M; Eidson, C. and Kleven, S; A comparison of immune

responses of broiler chickens to different methods of vaccination against Newcastle disease. Avian Dis.; 1979; 23: 622-633.

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

31- Paulillo, A. C; Schmidt, E. M. d. S; Silva, G. S. d; Denadai, J; Junior, L. D. and Meireles, M. V; Clinical and immunological aspects of Newcastle disease vaccination in partridges (Rhynchotus rufescens). Int J Poult Sci.; 2008; 7: 1011-1012.

32- Payne, A; The harderian gland: a tercentennial review. J Anat.; 1994; 185: 1-49.

33- Rad, M. D; Behbahan, N. G. G. and Jula, G. M; 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: 176-180.

34- Rehmani, S. F; Newcastle disease vaccination: a comparison of vaccines and routes of administration in Pakistan. Prev Vet Med.; 1996; 25: 241-248.

35- Rostami, H; Seidavi, A; Dadashbeiki, M; Asadpour, Y; Simões, J; Shah, A. A. and 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: 8836-8842.

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

37- 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: 151-163.

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

39- Salam, R; Aslam, A; Khan, S; Saeed, K. and Saleem, G; Effect of different routes of vaccination against new-castle disease on lymphoid organs of broilers. Pak Vet J.; 2003; 23: 78-83.

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

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

42- Soltani, M; Tabeidian, S. A; Ghalamkari, G; Adeljoo, A. H; Mohammadrezaei, M. and Fosoul, S. S. A. S; 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: 218-222.

43- Van Boven, M; Bouma, A; Fabri, T. H; Katsma, E; Hartog, L. and Koch, G; Herd immunity to Newcastle disease virus in poultry by vaccination. Avian Pathol.; 2008; 37: 1-5.

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

45- Xue, C; Cong, Y; Yin, R; Sun, Y; Ding, C; Yu, S; Liu, X; Hu, S; Qian, J; Yuan, Q; Yang, M; Genetic diversity of the genotype VII Newcastle disease virus: identification of a novel VIIj sub-genotype.Virus Genes.;2017; 53: 63-70.

46- Yi, J; Liu, C; Chen, B. and Wu, S; Molecular characterization of a virulent genotype VIId strain of Newcastle disease virus from farmed chickens in Shanghai. Avian Dis.; 2011; 55: 279-284.
47- Zaki, MM; Abd El-Ghany, WA; Korany, RM; Effect of certain phytobiotics on the immune response of newcastle disease vaccinated broiler chickens. Asian J Poult Sci.; 2016;10:134-40.
48- Zhang, L; Wang, W. and Wang, S; Effect of vaccine administration modality on immunogenicity and efficacy. Expert Rev Vaccines.; 2015; 14: 1509-1523.

Vol.15/No.2
Spring-Summer 2021

Iran. J. Vet. Clin. Sci.; 2021; 15(1): 23-34

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

Gholamhosein Pourghanbari Marvast[1*]

1. Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ardakan University, Ardakan- Iran.

Received: 23 December 2019 ***Accepted:*** 3 July 2020

Summary

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. 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

* Corresponding Author E-mail: Hpourghanbari@ardakan.ac.ir