

چکیده پایان نامه

نام خانوادگی: مهر فرد	نام: علی
عنوان پایان نامه: مطالعه ایمنی‌زایی واکسن‌های بیماری گامبورو با حدت «متوسط» و «متوسط مثبت» در جوجه‌های گوشتی	
استاد راهنما: دکتر منصور میاحی	
درجه تحصیلی: دکتری عمومی	رشته: دامپزشکی
گرایش: دامپزشکی	
دانشگاه: شهید چمران اهواز	
دانشکده: دامپزشکی	
تاریخ فارغ التحصیلی: اسفند 1388	تعداد صفحه: 82
کلید واژه‌ها: بیماری گامبورو ، واکسن حدت متوسط ، واکسن حدت متوسط مثبت ، اندام‌های لنفاوی ، پاسخ ایمنی ، جوجه‌های گوشتی	
<p>گامبورو از جمله بیماری‌های ویروسی مهم و خطرناک طیور می‌باشد که سالیانه خسارات و صدمات فراوانی به مرغداری‌های کشور و سایر نقاط جهان وارد می‌کند. واکسن‌های مختلفی برای این بیماری موجود است که از نظر ایمنی‌زایی ، تضعیف ایمنی ، اثر بر روی اندام‌های لنفاوی ، میزان تلفات و تأثیر بر روی ضریب تبدیل با یکدیگر متفاوتند. در این مطالعه واکسن‌های حدت متوسط و حدت متوسط مثبت ، از نظر ایمنی‌زایی و اثر بر روی اندام‌های لنفاوی ، مورد بررسی و مقایسه قرار گرفتند. 150 جوجه‌ی یک روزه گوشتی سویه‌ی راس خریداری و به طور تصادفی به 3 گروه مساوی 50 قطعه‌ای تقسیم شدند. جوجه‌های گروه A با واکسن حدت متوسط در دو نوبت 15 و 22 روزگی و جوجه‌های گروه B با واکسن حدت متوسط مثبت در یک نوبت 15 روزگی واکسینه شدند. جوجه‌های گروه C به عنوان شاهد غیرواکسینه نگهداری شدند. قبل از واکسیناسیون و روزهای 7 ، 14 ، 21 و 35 بعد از واکسیناسیون ، به طور تصادفی از 10 قطعه جوجه‌ی هر گروه خون‌گیری از ورید بال به عمل آمد. همچنین در پایان آزمایش (49 روزگی) ، 5 قطعه جوجه از هر گروه به طور تصادفی انتخاب و وزن آن‌ها اندازه‌گیری شد. سپس آسان‌کشی شدند و بورس ، تیموس و طحال آن‌ها جدا گردید و توزین شد و نسبت وزن این اندام‌ها به وزن بدن محاسبه گردید. نتایج این مطالعه نشان داد عیار پادتن سرم خون جوجه‌های واکسینه شده با واکسن حدت متوسط مثبت نسبت به جوجه‌های واکسینه شده با واکسن حدت متوسط و گروه شاهد در سنین 28 ، 35 و 49 روزگی به طور معنی‌داری بیشتر بود ($P < 0.05$) و نسبت وزن بورس به وزن بدن در گروه واکسینه شده با واکسن حدت متوسط مثبت به طور معنی‌داری از دو گروه دیگر کمتر بود ($P < 0.05$). بنابراین می‌توان گفت واکسن حدت متوسط مثبت بیماری گامبورو با یکبار واکسیناسیون قادر به ایجاد ایمنی‌زایی بهتری نسبت به واکسن حدت متوسط بیماری گامبورو می‌باشد ولی منجر به آتروفی بورس فابریسیوس می‌شود.</p>	

مقدمه و هدف

همزمان با افزایش روزافزون جمعیت و بالارفتن نیازهای تغذیه‌ای جامعه، نقش صنعت طیور در تأمین پروتئین‌های حیوانی مورد نیاز انسان بیش از پیش آشکار می‌گردد. پایین بودن نسبی هزینه‌های تولید، بالا بودن بازده غذایی، کوتاه بودن دوره‌ی پرورش، برتری گوشت سفید بر گوشت قرمز از ابعاد مختلف تغذیه‌ای، اطمینان از کم بودن بیماری‌های مشترک و در نهایت سرعت رشد بالا سبب برتری چشم‌گیر صنعت طیور در مقایسه با دیگر رشته‌های دامپروری شده است.

افزایش تراکم نگهداری طیور و به کارگیری روش‌های مختلف افزایش تولید و استفاده از حداکثر ظرفیت‌های ژنتیکی طیور به منظور تولید بیشتر موجب گردیده تا بیماری‌های باکتریایی و ویروسی بیشتری طیور را در معرض خطر ابتلا قرار دهد.

در این میان بیماری گامبورو از جمله بیماری‌های ویروسی مهم و خطرناک طیور می‌باشد که سالیانه خسارات و صدمات فراوانی به مرغداری‌های کشور و سایر نقاط جهان وارد می‌کند؛ همچنین ویروس عامل آن موجب تضعیف سیستم ایمنی پرنده شده و زمینه را برای ابتلا به سایر بیماری‌ها فراهم نموده و در برنامه‌های واکسیناسیون نیز تداخل ایجاد می‌کند. واکسیناسیون و رعایت بهداشت مؤثرترین راه‌های پیش‌گیری از این بیماری می‌باشند. واکسن‌های مختلفی برای این بیماری موجود است که از نظر ایمنی‌زایی، تضعیف ایمنی، اثر بر روی اندام‌های لنفاوی، میزان تلفات و تأثیر بر روی ضریب تبدیل با یکدیگر متفاوتند.

این بررسی کوشش دارد تا دو واکسن متداول «دی-78»¹ از گروه واکسن‌های با حدت متوسط² و «آی بی دی ال»³ از گروه واکسن‌های با حدت متوسط مثبت⁴ را از نظر ایمنی‌زایی و اثر بر روی اندام‌های لنفاوی بورس فابریسیوس، تیموس و طحال مورد بررسی و مقایسه قرار دهد.

1-Nobilis Gumboro D₇₈ vaccine

2-Intermediate IBD vaccine

3-CEVAC IBD-L vaccine

4-Intermediate Plus IBD vaccine

الف - مروری بر بیماری گامبورو

الف - 1 - تعریف

بیماری گامبورو (بیماری بورس عفونی یا IBD)^۲ یکی از بیماری‌های ویروسی بسیار واگیر و خطرناک می‌باشد که از نظر بالینی معمولاً در سن 3 تا 6 هفتگی ماکیان جوان را مبتلا می‌کند. شکل حاد بیماری با شروع ناگهانی، دوره‌ی کوتاه، خونریزی روی عضلات، تخریب گسترده لنفوسیت‌ها به ویژه در بورس فابریسیوس^۳ و تضعیف سیستم ایمنی مشخص می‌گردد. اشکال خفیف تر بیماری و عفونت‌های تحت بالینی نیز وجود دارند ولی تمام اثرات نامطلوب خود را در سیستم ایمنی جوجه‌های جوان باقی می‌گذارند (3).

الف - 2 - تاریخچه

بیماری بورس عفونی اولین بار در سال 1957 میلادی در شهر کوچکی به نام گامبورو واقع در ایالت دلاوار^۴ در آمریکا مشاهده شد. شخصی به نام کاسگرو^۵ در سال 1962 میلادی این بیماری را تشخیص داد. او چنین تصور کرد که این بیماری، بیماری نفروز پرنندگان^۵ است؛ زیرا در تعداد زیادی از جوجه‌های مبتلا جراحات مشخص کلیوی مشاهده می‌شد و در عین حال تمام آزمایش‌های باکتریایی انجام گرفته روی آن‌ها منفی بود. کاسگرو عامل ایجاد کننده این بیماری را یک ویروس معرفی کرد.

1-Gumboro Disease (Infectious Bursal Disease)

2-Bursa of Fabrisius

3-Delaware

4-Cosgrove

5-Avian Nephrosis

در همان سال ، وینترفیلد^۱ و هیچنر^۲ یک نوع ویروس برونشیت با نام ویروس گری^۳ را از کلیه‌ی پرندگان مبتلا به برونشیت عفونی جدا کردند. تشابه بین جراحات بوجود آمده در کلیه‌ها توسط ویروس گری با آنچه در نفروز پرندگان به وسیله کاسگرو شرح داده شده بود ، این تصور را ایجاد کرد که ویروس گری عامل بیماری گامبورو است ، ولی مطالعات بعدی نشان داد جوجه‌هایی که در مقابل ویروس گری ایمنی پیدا کرده‌اند ، هنوز می‌توانند با عامل بیماری گامبورو آلوده شوند و جراحات را در بورس فابریسیوس که از خصوصیات این بیماری است ، نشان دهند (17).

در تحقیقات بعدی وینترفیلد در سال 1962 میلادی موفق شد ویروس مؤلد بیماری را در تخم مرغ جنین دار جدا کند و به این ترتیب ویروس جدا شده به عنوان عامل بیماری گامبورو شناخته شد. متعاقباً هیچنر اصطلاح بیماری بورس عفونی را برای هر بیماری که ضایعات مشخص در بورس فابریسیوس ایجاد می‌کند ، پیشنهاد کرد.

آن در سال 1972 میلادی گزارش کرد ویروس گامبورو در ابتدا و اوایل زندگی موجب تضعیف سیستم ایمنی و یا پدیده‌ی حذف ایمنی می‌شود که باعث توجه بیشتر به کنترل این عفونت شد. وجود دومین سروتیپ ویروس بیماری بورس عفونی در سال 1980 میلادی گزارش شد (17، 26، 28 و 36).

الف - 3 - شیوع و انتشار بیماری

آلودگی با سروتیپ 1 ویروس گامبورو دارای انتشار جهانی است و در مناطق عمده‌ی پرورش طیور وجود دارد.

سویه‌های فوق حاد بیماری اولین بار سال 1987 میلادی در اروپا مشاهده شدند و برای اولین بار در هلند جداسازی و شناسایی گردیدند (20).

1-Winterfield
2-Hitchner
3-Gray

سروتیپ 2 ویروس گامبورو نیز دارای انتشار جهانی بوده و در مرغ ، بوقلمون و اردک ایجاد آلودگی می نماید. هیچ کدام از سویه های این سروتیپ باعث بروز بیماری یا تضعیف سیستم ایمنی نمی گردند (26).

الف - 4 - سبب شناسی^۱

عامل بیماری ، ویروسی از خانواده بیرناویریده و از جنس بیرناویروس است (17). برای نخستین بار در سال 1976 میلادی نیک^{۱۱} و گورزیفن^{۱۲} در آلمان خصوصیات دقیق ویروس IBD را تعریف کردند و آن را در این خانواده قرار دادند (43). ویروس عامل بیماری عفونی نکروز لوزالمعده ماهی^{۱۳} ، ویروس تلینا^{۱۴} در حلزون های دوکفه ای و ویروس ملانوگاستر دروزوفیلا^{۱۵} در مگس میوه از دیگر ویروس های این خانواده می باشند (17 و 26). ژنوم ویروس های این خانواده ریبونوکلیک اسید^{۱۶} دورشته ای است که اندازه ای این دوقطعه با هم یکسان نیست و به نام بخش A و B نام گذاری شده است و به همین دلیل بیرناویروس نامیده می شود (47 و 53). بر طبق برخی نظریه ها هر دو بخش ژنوم ویروس در بیماری زایی نقش دارند اما برخی آزمایش ها نشان می دهند بخش B اثر زیادی در بیماری زایی ندارد (52). قطر ویروس 55 تا 56 نانومتر ، فاقد پوشش ، تقارن آن 20 وجهی و دارای 32 کپسومر است (17، 32 و 50). ویروس دارای 5 پروتئین است که از 1 تا 5 (VP1، VP2، VP3، VP4 و VP5) نام گذاری شده است. علاوه بر این ، ویروس دارای یک پروتئین اضافی دیگر به نام VPX است که به عنوان پروتئین پیش ساز می باشد (13، 17، 28، 36 و 50).

1-Etiology
2-Nick
3-Gursiefen
4-Infectious Pancreatic Virus
5-Tellina virus
6-Drosophila melanogaster
7-Ribonucleic acid

در جدول 1-2 مقدار ، وزن مولکولی و نقش پروتئین‌های ویروس آورده شده است.

جدول 1-2- مقدار ، وزن مولکولی و نقش پروتئین‌های ویروس گامبورو

نوع پروتئین	مقدار (درصد)	وزن مولکولی (برحسب کیلو دالتون)	نقش
VP ₁	3	94	تکثیر (پلی‌مراز ریبونوکلیئیک اسید است)
VP ₂	51	54	حفاظت، پادتن خاص سروتیپ
VP ₃	40	31	حفاظت، پادتن خاص گروهی ^{۱۷}
VP ₄	6	29	پروتئاز ویروس
VP ₅	کمتر از 1	21	احتمالاً در آزادسازی و انتشار ویروس

ویروس IBD با کمک آزمایشات مختلف به دو سروتیپ اصلی تقسیم می‌شود (سروتیپ‌های I و II) که در سروتیپ I واریانتهای آنتی‌ژنیکی وجود دارند و از نظر حدت ، تنوع قابل توجه‌ای از سویه‌های غیربیماری‌زا تا بسیار حاد را دارا می‌باشند. این ویروس‌ها برخلاف ویروس‌های سروتیپ II تمایل زیادی به لنفوسیت‌های B جوان داخل بورس فابریسیوس دارند و باعث تهی شدن این اندام از لنفوسیت‌های B می‌شوند. سروتیپ II در ماکیان منجر به بیماری نمی‌شود. هر دو سروتیپ I و II ، بوقلمون و اردک را آلوده می‌کنند ولی در این پرندگان ایجاد بیماری نمی‌کنند (42 و 60).

ایمنی حاصله بر علیه سروتیپ II ویروس نمی‌تواند جلوی بیماری‌زایی ناشی از سروتیپ I را بگیرد . عکس این حالت را به علت بیماری‌زا نبودن سروتیپ II نمی‌توان مورد ارزیابی قرار داد (31). بر اساس تغییرات آنتی‌ژنی و حدت سویه‌ها سروتیپ I را می‌توان به چند گروه اصلی تقسیم نمود :

- 1- سویه‌های خیلی حاد : می‌توانند سطح بالای آنتی‌بادی مادری را شکسته و باعث مرگ و میر 60 تا 100 درصدی گردند. این سویه‌ها ضایعات مشخص ویروس گامبورو را ایجاد می‌کنند و از نظر آنتی‌ژن مشابه سویه‌های کلاسیک هستند.
- 2- سویه‌های حاد کلاسیک : موجب التهاب بورس فابریسیوس و نکروز شدید لنفوئیدی در ماکیان آلوده ، تضعیف سیستم ایمنی و مرگ و میر کم می‌شود. بیشترین درصد تلفات 3 روز پس از ابتلاست هر چند که ممکن است 5 تا 7 روز پس از ابتلا نیز مرگ و میر اتفاق افتد.
- 3- سویه‌های تضعیف‌شده : سویه‌هایی هستند که به رشد بر روی فیبروبلاست جنین ماکیان (CEF) یا سایر تیره‌های سلولی عادت کرده‌اند. این سویه‌ها باعث بیماری در ماکیان نمی‌شوند بنابراین برخی از آن‌ها به منظور تهیه‌ی واکسن زنده گامبورو مورد استفاده قرار می‌گیرند.
- 4- سویه‌های واریانت : بر اساس توانایی آن‌ها در فرار از خنثی‌سازی مقاطع توسط آنتی‌سرم‌های ضد سویه‌های کلاسیک شناخته می‌شوند. ماکیان آلوده به سویه‌های واریانت با آتروفی شدید بورس مشخص می‌شوند و این سویه‌ها موجب بزرگ شدگی بورس نمی‌شوند.

الف - 5 - مقاومت نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی

ویروس گامبورو فاقد پوشش و بسیار پایدار است. این ویروس نسبت به اثر و کلروفورم مقاوم بوده و PH 2 بر روی آن اثری ندارد. در دمای 56°C بعد از 5 ساعت زنده می‌ماند. دمای 60°C به مدت 30 دقیقه بر روی آن مؤثر نمی‌باشد. تیمروزال $125/0$ درصد و فنل $5/0$ درصد در دمای 30°C به مدت 1 ساعت بر روی ویروس اثر ندارد. ترکیبات یددار بر روی ویروس مؤثرند. در دمای 70°C به مدت 30 دقیقه ویروس از بین می‌رود. کلرامین $5/0$ درصد نیز بعد از 10 دقیقه ویروس را از بین می‌برد (17 و 36).

قطعاً طبیعت سرسخت این ویروس یکی از دلایل بقای ویروس در مرغداری‌ها حتی به دنبال پاکسازی و ضدعفونی آن‌ها می‌باشد (55).

الف - 6 - میزبانان طبیعی

سروتیپ‌های 1 و 2 ویروس قادرند ماکیان ، بوقلمون و اردک را آلوده کنند ولی سروتیپ 1 فقط مربوط به ماکیان بیماری‌زاست و تا کنون بیماری در بوقلمون و اردک گزارش نشده است. در حقیقت ماکیان تنها گونه‌ای است که از نظر ابتلا به عفونت طبیعی مورد توجه می‌باشد. همه نژادها مبتلا می‌شوند و بسیاری از محققان شدت بیماری و بالاترین تلفات را در نژاد لگهورن سفید^{۱۹} گزارش کرده‌اند (17، 36 و 46).

الف - 7 - انتقال بیماری

بیماری گامبورو بسیار واگیر است و ویروس آن دو هفته بعد از عفونت همراه مدفوع دفع می‌شود و یکی از منابع مهم انتشار ویروس می‌باشد. با توجه به مقاومت ویروس در محیط ، علاوه بر مدفوع آلوده ، انتقال از طریق آب ، دان و بستر آلوده نیز انجام می‌گیرد. ویروس از راه هوا^{۲۰} و تخم- مرغ منتقل نمی‌شود و پرندگان بهبودیافته به عنوان حامل باقی نمی‌مانند. سوسک‌های بستر ، جوندگان و پرندگان آبی و وحشی می‌توانند ویروس را از محلی به محل دیگر انتقال دهند (2، 13، 29 و 42).

مقاومت ویروس در برابر گرما و ضدعفونی‌کننده‌ها ارتباط مستقیمی با بقای ویروس در محیط در بین دو شیوع بیماری دارد (21).

بیماری ممکن است توسط کفش و لباس و دست کارگران و یا استفاده از وسایل آلوده در مرغداری‌های مختلف انتقال یابد. بنابراین بازدیدهای مکرر از مرغداری باعث ایجاد بسیاری از واگیری‌های بیماری بوده است. انتقال غذای مرغداری آلوده به مرغداری غیرآلوده خطرناک بوده و خیلی زود استفاده از این غذا باعث ظهور بیماری می‌گردد (33 و 44).

الف - 8 - بیماری‌زایی^{۲۱}

عفونت طبیعی معمولاً از راه دهان ایجاد می‌شود؛ اما قسمت فوقانی دستگاه تنفس و ملتحمه‌ی چشم نیز ممکن است در این امر نقش داشته باشد. ویروس 4 ساعت بعد از عفونت در ماکروفاژها و سلول‌های لنفوئید سکوم و 5 ساعت بعد از عفونت در ماکروفاژها و سلول‌های لنفوئید دوازدهه و ژژنوم قابل تشخیص است. همچنین 5 ساعت بعد از عفونت در سلول‌های کوپفر کبد و 11 ساعت بعد از عفونت در سیتوپلاسم سلول‌های پوششی لوله‌ای کلیه وجود دارد. احتمال می‌رود ویروس از طریق وریدهای باب به این اندام‌ها برسد. ویروس احتمالاً به وسیله‌ی گردش خون به بورس می‌رسد؛ اگرچه انتشار مستقیم از روده‌ها را نمی‌توان از نظر دور داشت. سلول‌های آلوده از نوع ماکروفاژ هستند و در بافت پیوندی بین فولیکولی یا در حد فاصل قشر مرکزی قرار دارند. این حالت منجر به دومین ویرمی مشخص و دومین تکثیر ویروس در دیگر اندام‌ها می‌شود. ویروس به طور پیوسته می‌تواند برای 2 تا حداقل 8 روز بعد از عفونت از بورس، تیموس، طحال، کلیه و لوزه‌های سکومی جدا گردد (17).

از نظر سن ابتلا بیشترین حساسیت در سنین 3 تا 6 هفتگی می‌باشد. جوجه‌های حساس با سن کمتر از 3 هفته معمولاً هنگام ابتلا به ویروس IBD عوارض بالینی رانشان نمی‌دهند ولی دچار

عفونت تحت بالینی شده که از نظر اقتصادی بسیار مهم می‌باشد و منتج به یک ضعف شدید سیستم ایمنی در جوجه می‌شود (58).

لنفوسیت‌های B که ایمینوگلوبولین ^{22}M را در سطح خود دارند و به طور فعال تقسیم می‌شوند، سلول‌های اصلی برای عفونت می‌باشند. در حالی که لنفوسیت‌هایی که ایمینوگلوبولین G را در سطح خود دارند ، 4 روز بعد از عفونت کاهش می‌یابند. کاهش لنفوسیت‌های B وابسته به سن است و پرندگان که در یک روزگی مبتلا می‌شوند ، نسبت به پرندگانی که در 3 هفتهگی مبتلا می‌شوند ، حداکثر کاهش را نشان می‌دهند. لنفوسیت‌های T موقتاً و به طور جزئی کاهش می‌یابند؛ ولی به شدت لنفوسیت‌های B نخواهد بود (17).

الف - 9 - نقش بورس فابریسیوس در بیماری‌زایی

بورس فابریسیوس نقش اصلی را در بیماری‌زایی گامبورو دارد و هدف ویروس بیماری می‌باشد. در مطالعه‌ای بیماری‌زایی بیماری گامبورو در جوجه‌های تازه تولد یافته که با روش شیمیایی توسط سیکلوفسفامید بورسکتومی شده و سپس با تعداد مختلفی از سلول‌های بورس تلقیح شده بودند ، مورد بررسی قرار گرفت. جوجه‌های بورسکتومی شده که با تعداد حداکثر $25/6 \times 10^6$ یا کمتر سلول بورس تلقیح شده بودند ، شکل بالینی گامبورو را نشان ندادند؛ بنابراین می‌توان گفت وجود تعداد زیادی سلول‌های بورس عامل ضروری در بروز شدت بیماری گامبورو است (17، 45 و 55).

الف - 10 - نسبت وزن بورس فابریسیوس به وزن بدن

در مرغان تخم‌گذار وزن بدن 200 برابر وزن بورس و در مرغان گوشتی وزن بدن 400 برابر وزن بورس است. برای محاسبه‌ی نسبت وزن بورس به وزن بدن از فرمول ذیل استفاده می‌شود (17).

1- وزن کردن پرنده قبل از کالبدگشایی

2- برداشت بورس و وزن کردن به طور جداگانه

$$\text{نسبت وزن بورس به وزن بدن} = \frac{\text{وزن بورس بر حسب گرم}}{\text{وزن بدن بر حسب گرم}} \times 1000$$

الف - 11 - نشانه‌های بالینی

دوره کمون کوتاه است و 2 تا 3 روز طول می‌کشد. بیماری در گله‌های بسیار حساس به طور ناگهانی ظاهر می‌شود و میزان ابتلا زیاد است و معمولاً به 100 درصد می‌رسد. عموماً مرگ و میر 3 روز بعد از آلودگی شروع می‌شود و در یک دوره‌ی 5 تا 7 روزه به حداکثر رسیده ، سپس کاهش می‌یابد. مرگ و میر ممکن است وجود نداشته باشد ، ولی گاهی در حدود 20 تا 30 درصد خواهد بود. خصوصیات برخسته بیماری شامل شروع ناگهانی ، بالا بودن میزان ابتلا و شکل خاص منحنی مرگ و میر^{۲۴} و بهبودی سریع است (17).

از اولین علائم بیماری در گله ، نوک زدن به ناحیه کلواک یا به عبارتی خارش این ناحیه است. اسهال سفید ، کثیف بودن پرهای اطراف مقعد ، کم اشتهایی ، ضعف ، ژولیدگی پرها ، لرزش گردن و بدن ، عدم تعادل در حرکت ، دهیدراتاسیون ، کاهش درجه حرارت بدن در انتهای دوره‌ی بیماری ، زمین‌گیری و در نهایت مرگ از نشانه‌های دیگر این بیماری است (17 و 29). این علائم معمولاً از

سن 21 روزگی به بعد بروز می‌کند. گاهی به علت خونریزی در بورس فابریسیوس ، مدفوع خون‌آلود یا پره‌های اطراف کلواک آغشته به خون می‌شود (10 و 46).

معمولاً وقوع بیماری برای اولین بار در یک مرغداری ، شدیدتر از موارد بعدی است و موارد بعدی ابتلا یا حتی سالن‌های بعدی شدت کمتری از بیماری را نشان می‌دهند و در خیلی از موارد ابتلا به ویروس IBD مشخص نمی‌شود. برخی از عفونت‌ها نامشخص هستند و به سن پرنده (کمتر از 3 هفته) ، عفونت با سویه‌های غیربیماری‌زای موجود در مرغداری یا وجود پادتن‌های مادری بستگی دارند (26).

الف - 12 - جراحات کالبدگشایی

ماکیان مبتلا به بیماری گامبورو آب بدن خود را از دست می‌دهند و عضلات سینه‌ی آنها تیره می‌شود. غالباً خونریزی در عضلات سینه و ران وجود دارد و موکوس روده زیاد می‌شود. در طیور تلف شده یا در مراحل پیشرفته‌ی بیماری ، تغییرات کلیوی ممکن است برجسته باشد. این جراحات به احتمال زیاد نتیجه‌ی از دست دادن شدید آب بدن است. در پرندگانی که در طول دوره‌ی بیماری برای آزمایش کشته و یا کالبدگشایی می‌شوند کلیه‌شان هیچ جراحاتی را نشان نمی‌دهد. بورس فابریسیوس به عنوان اولین بافت هدف برای ویروس خواهد بود. وقتی طیور برای تشخیص معاینه می‌شوند ، این که ترتیب تغییرات مورد توجه قرار گیرند ، اهمیت می‌یابد. در دومین و سومین روز پس از آلودگی ، سطح سروزی بورس توسط ترانسودای ژلاتینی زرد رنگ پوشیده می‌شود. خطوط طولی در بورس برجسته می‌گردد و رنگ سفید آن به کرم تبدیل می‌شود. وقتی اندازه‌ی بورس طبیعی می‌گردد ترانسودا ناپدید می‌شود. سپس بورس در مدت تحلیل رفتن خاکستری رنگ می‌گردد. در سومین روز بعد از آلودگی اندازه و وزن بورس فابریسیوس به دلیل ادم و پرخونی شروع به افزایش می‌کند و وزن بورس در روز چهارم 2 برابر وزن طبیعی شده ، سپس اندازه آن کوچک

می‌شود. در روز پنجم وزن بورس به وزن طبیعی برمی‌گردد و تحلیل آن ادامه می‌یابد و در روز هشتم به $\frac{1}{3}$ وزن اولیه می‌رسد. همه انواع ویروس‌های گامبورو جدا شده پاسخ التهابی ایجاد نمی‌کنند. بنابراین بزرگ شدن ابتدایی بورس و ترانسودای ژلاتینی زرد رنگ ممکن است مشاهده نگردد. طحال ممکن است اندکی بزرگ شده باشد و اکثراً کانون‌های نکروزه خاکستری رنگ کوچک و متحدالشکل به صورت پراکنده روی سطح آن دیده می‌شود. گاهی خونریزی‌هایی در مخاط محل اتصال پیش‌معه به سنگدان و در سطح قلب مشاهده می‌گردد (17).

الف - 13 - جراحات ریزبینی (هیستوپاتولوژی^{۲۵})

بورس فابریسیوس در این بیماری دچار بیشترین تغییرات می‌گردد. به این صورت که بعد از گذشت یک روز از عفونت، دژنراسیون و نکروز لنفوسیت‌ها در فضای میانی فولیکول‌های بورس همراه با ازدیاد در تعداد سلول‌های مرده مشاهده می‌شود و به دنبال آن تخلیه‌ی سلولی در این اندام‌ها رخ می‌دهد (24).

در مراحل اولیه تیموس دچار آتروفی و نکروز فولیکول‌های لنفاوی ناحیه قشری و هیپرتروفی بافت هم‌بند بین فولیکولی می‌گردد. طحال دچار هیپوپلازی سلول‌های رتیکولواندوتلیال در اطراف سرخرگ‌ها شده و در روز سوم نکروز در فولیکول‌های لنفاوی مشاهده می‌شود (31 و 33). در غدد هاردین میزان پلاسماسل‌ها در جوجه‌های آلوده به دلیل نکروز کاهش می‌یابد اما این کاهش نیز گذرا می‌باشد. در کبد گاهی نفوذ خفیف منوسیت در اطراف عروق دیده می‌شود (31).

الف - 14 - سیستم ایمنی در بیماری گامبورو

الف - 14 - 1 - ساختمان سیستم ایمنی

سیستم ایمنی ماکیان شامل بورس فابریسیوس ، تیموس ، مغز استخوان ، طحال ، غدد هاردین ، لوزه‌های سکومی و عقده‌های لنفاوی اولیه می‌باشد. اعمال اصلی سیستم ایمنی توسط لنفوسیت‌هایی که توسط سیستم رتیکولواندوتلیال حمایت می‌شوند ، انجام می‌گیرد. سیستم ایمنی با سلول‌های دودمان لنفوسیت‌ها که در خلال اولین هفته انکوباسیون از کیسه‌ی زرده‌ی جنین منشأ می‌گیرند ، آغاز می‌گردد. سلول‌های دودمان به تیموس و بورس رفته و در تیموس به لنفوسیت T و در بورس به لنفوسیت B تبدیل و بالغ می‌گردند. تیموس و بورس به عنوان بافت‌های مرکزی تلقی شده و فراهم کننده‌ی سلول‌های T و B برای سایر بافت‌های لنفاوی می‌باشند. 2 یا 3 روز قبل از خروج جوجه از تخم ، سلول‌های T شروع به ترک تیموس می‌کنند. آزاد شدن لنفوسیت‌های T از تیموس تا مرحله‌ی بلوغ جنسی ادامه می‌یابد. لنفوسیت‌های B تقریباً از روز 15 انکوباسیون مهاجرت از بورس را آغاز می‌کنند. مهاجرت اصلی لنفوسیت‌های B قبل از سن 9 هفتگی صورت می‌پذیرد و فعالیت بورس قبل از بلوغ جنسی از بین می‌رود. مقدار لنفوسیت‌های T و B در جریان خون به ترتیب 70 و 30 درصد می‌باشد (5، 7 و 9).

الف - 14 - 1 - 1 - ایمنی سلولی^{۲۶}

لنفوسیت‌های T بالغ یک سیستم شناسایی آنتی‌ژنی را بوجود آورده ، همچنین توانایی تولید برخی از مواد را دارند که در ایمنی سلولی نقش مهمی ایفا می‌نمایند. در ضمن لنفوسیت‌های T در فعال ساختن لنفوسیت‌های B دخالت دارند (14). به دنبال عفونت ، لنفوسیت‌های T با تولید سلول‌های زیر نسبت به عفونت پاسخ می‌دهند :

1- سلول‌های خاطره‌ای^{۲۷}

2- سلول‌های عمل‌کننده‌ی اختصاصی (لنفوسیت‌ها)^{۲۸}

3- سلول‌های مهارکننده^{۲۹}

الف - 14 - 1 - 2 - ایمنی همورال^{۳۰}

لنفوسیت‌های T بالغ تا سن 8 هفتگی به مهاجرت خود از بورس به سایر اعضای لنفاوی ادامه می‌دهند. سطح لنفوسیت B در زمان خروج از بورس با پادتن‌های غیراختصاصی پوشیده شده است. این سلول‌ها در پاسخ به عفونت، دو نوع سلول را تولید می‌کند:

1- سلول‌های خاطره‌ای

2- سلول‌های تولیدکننده پادتن (پلاسماسل‌ها)^{۳۱}

پادتن تولید شده در پاسخ اولیه علیه عفونت IgM می‌باشد و به دنبال آن IgG تولید می‌گردد. در صورت تکرار عفونت توسط عامل عفونی مشابه، عمده‌ترین پادتن تولید شده از نوع IgG می‌باشد. برخی از پلاسماسل‌ها در مناطق زیرین بافت پوششی مستقر بوده و IgA را در پیش‌گیری از تهاجم سطحی تولید می‌نمایند (5، 7 و 9).

الف - 14 - 1 - 3 - ایمنی فعال^{۳۲}

ایمنی فعال در گله‌هایی که در معرض ویروس گامبورو قرار گیرند و یا توسط واکسن‌های غیرفعال و یا زنده واکسینه گردند، تحریک می‌شود. میزان عیار پادتن به وسیله‌ی چندین روش، مانند خنثی‌سازی ویروس^{۳۳}، رسوب در ژل آگار^{۳۴} و الیزا^{۳۵} اندازه‌گیری می‌شود. میزان عیار پادتن

2-Memory cell

3-Specific effector cells

4-Suppressor cells

5-Humoral immune

1-Plasma cell

2-Active immunity

3-Virus Neutralization

بعد از در معرض قرار گرفتن در مزرعه و یا انجام واکسیناسیون خیلی بالا می‌رود و عیارهای اندازه-گیری شده به وسیله‌ی آزمایش خنثی کردن بیش از $\frac{1}{1000}$ است. پرنده‌گان بالغ نسبت به آلودگی از راه خوراکی مقاوم‌اند ، اما بعد از تزریق داخل عضلانی یا زیرجلدی ویروس گامبورو ، می‌توانند پادتن تولید کنند (17).

الف - 14 - 1 - 4 - ایمنی غیرفعال^{۳۶}

پادتن انتقال یافته از مادر به کیسه زرده تخم‌مرغ ، قادر است جوجه‌ها را در مقابل عفونت زودرس ویروس بیماری گامبورو و در نتیجه از اثرات تضعیف ایمنی ویروس ، محافظت نماید. نیمه عمر پادتن‌های مادری علیه ویروس گامبورو بین 3 تا 5 روز است. بنابراین اگر عیار پادتن جوجه‌ها مشخص شود ، زمانی را که جوجه‌ها مستعد و حساس‌اند می‌توان پیش‌بینی کرد.

پادتن‌های مادری ، که از مادر به جنین منتقل می‌شوند ، سبب مصونیت جوجه‌ها در چند روز یا چند هفته‌ی اول زندگی در مقابل اکثر عفونت‌هایی که مادر به آنها مبتلا شده ، می‌گردد. این نوع ایمنی به نام « ایمنی مادری » یا « ایمنی غیرفعال » نامیده می‌شود.

پادتن مادری موجود در جریان خون جوجه‌ی تازه تفریخ شده ، نسبتاً با سرعت از بین می‌رود. در پرنده‌گانی که تمام پادتن‌های زرده پس از تفریخ جذب شده است ، بالاترین عیار پادتن مادری را در سن یک روزگی گزارش کرده‌اند. جوجه‌های یک روزه به طور متوسط 80 درصد از عیار پادتن-های موجود در گردش خون مادر را دریافت می‌دارند. با کاهش عیار پادتن مادری ، طول مدت مقاومت جوجه‌ها به عفونت و سنی که جوجه‌ها برای مرتبه اول به عفونت حساس می‌شوند ، کاهش می‌یابد. طول مدت زمانی که در جوجه‌ها مقاومت وجود دارد ، بین حداقل 3 و حداکثر 4 هفته بعد از تولد می‌باشد. از طرف دیگر ، این مدت زمان ، به مدت و میزان حضور ویروس در محیط و عفونت-

4-Agar gel precipitin test

5-ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay)

1-Passive immunity

های همراه وابسته است. برای محافظت از جوجه‌ها تا سن 34 روزگی، لازم است که این جوجه‌ها در سن یک روزگی عیاری برابر 12800 در آزمایش الیزا داشته باشند (17).

الف - 14 - 2 - تضعیف ایمنی

هر چه سن ابتلا به ویروس IBD کمتر باشد، شدت تضعیف ایمنی بیشتر خواهد بود. به طوری که بیشترین اثرات منفی در سن 1 روزگی و بعد از آن در سن 7 روزگی می‌باشد که می‌تواند برای مدت طولانی پایدار بماند. ابتلا در سن 14 یا 21 روزگی موجب تضعیف ایمنی در حد کم شده و این تضعیف سیستم ایمنی گذرا خواهد بود. تضعیف سیستم ایمنی ناشی از آلودگی با IBDV به طور عمده به دلیل تأثیر ویروس بر سیستم ایمنی همورال است که لنفوسیت‌های B مسئول ایجاد آنها هستند. اما در ماکیان جوان که به بیماری مبتلا می‌شوند تضعیف موقت ایمنی با واسطه سلولی را نیز گزارش کرده‌اند که لنفوسیت‌های T مسئول ایجاد آن می‌باشند. غدد هاردین که جزئی از سیستم ایمنی موضعی پرندگان است نیز در IBD تحت تأثیر قرار می‌گیرد (58).

از آنجایی که شدت تخلیه لنفوسیتی پس از آلودگی با ویروس IBD وابسته به سن آلوده شدن جوجه‌ها می‌باشد، می‌توان نتیجه گرفت که حساسیت سلول‌های پیش‌ساز لنفوسیت‌های B به ویروس IBD خیلی بیشتر از لنفوسیت‌های بالغ می‌باشد. به طور مشخص ویروس IBD تمایل به تکثیر در سلول‌های فعال (دارای توانایی تکثیر زیاد) را دارد. بنابراین در جوجه‌های مبتلا به IBD به علت تخریب لنفوسیت‌های B تولیدکننده پادتن میزان IgG کم شده و IgM به شکل مونومر^{۳۷} تولید می‌گردد (10).

هیرای و همکاران^{۳۸} نشان دادند که پاسخ پادتن همورال علیه سایر واکسن‌ها نیز کاهش می‌یابد و جوجه‌هایی که در سنین اولیه به ویروس گامبورو مبتلا می‌گردند، نه تنها باعث تضعیف پاسخ

ایمنی علیه واکنش‌ها می‌شوند ، بلکه نسبت به عفونت‌های دیگر نظیر تورم عفونی کبد ، کوکسیدیوز ، مارک ، آنمی آپلاستیک هموراژیک ، تورم پوست قانقاریایی ، تورم عفونی نای ، کم‌خونی عفونی جوجه‌ها ، سالمونلوز و کلی‌باسیلوز حساس تر می‌گردند (17).

اثرات بیماری گامبورو روی سیستم ایمنی سلولی زودگذر و ناپایدار است و نسبت به پاسخ ایمنی خونی کمتر مشهود خواهد بود.

اثرات اصلی تضعیف ایمنی ناشی از عفونت اولیه گامبورو را می‌توان به صورت زیر خلاصه نمود :

فقدان پاسخ صحیح پس از واکسیناسیون علیه بیماری‌های نیوکاسل ، برونشیت عفونی و یا بیماری مارک و افزایش زمان پاسخ به واکسیناسیون ، به ویژه واکنش نیوکاسل و برونشیت عفونی. اثر تقویتی واکسیناسیون مجدد در سنین بعدی تضعیف می‌گردد. (برای مثال واکنش‌های نیوکاسل و برونشیت عفونی). کاهش مقاومت به عوامل بیماری‌زا نظیر اشرشیاکلی ، مایکوپلازما گالی‌سپتیکوم و در نتیجه افزایش تورم کیسه‌های هوایی ، افزایش شیوع بیماری‌های وابسته به گامبورو (به طور مثال ، تورم کبد و ویروسی و درماتیت قانقاریایی طیور). در گله‌های گوشتی موجب توقف رشد ، افزایش مرگ و میر و واژده‌ها می‌شود. در یک گله آلوده حدت بیماری به عوامل متعددی نظیر سن طیور مبتلا ، حدت ویروس مزرعه ، میزان پادتن مادری و سالم بودن گله بستگی دارد (17).

الف - 15 - تشخیص

شیوع شکل بالینی حاد بیماری گامبورو ، در گله‌های حساس به آسانی قابل تشخیص است و تشخیص اولیه را به راحتی می‌توان انجام داد. شروع سریع بیماری ، تعداد زیاد مبتلایان ، شکل خاص منحنی تلفات و بهبود سریع (5 تا 7 روز) از نشانه‌های مشخص بیماری هستند. تأیید تشخیص بیماری با انجام آزمایش‌های کالبدگشایی و بر اساس مشاهده‌ی جراحات و تغییرات مشخص در بورس فابریسیوس صورت می‌گیرد. همواره باید توجه داشت که در طی دوره آلودگی ،

تغییرات مشخصی از نظر رنگ و اندازه در بورس وجود خواهد داشت. به عنوان مثال بزرگ شدن بورس به علت تغییرات التهابی و متعاقب آن آتروفی بورس است (17).

عفونت در جوجه‌های خیلی جوان یا جوجه‌هایی که دارای پادتن مادری هستند، معمولاً به شکل تحت بالینی است. تشخیص، متعاقب کالبدگشایی و مشاهده تغییرات میکروسکوپی و آتروفی بافت بورس انجام می‌گیرد. عفونت جوجه‌ها در هر سنی با جدایه‌های واریانت ویروس گامبورو فقط به وسیله آزمایش‌های هیستوپاتولوژی و یا جداکردن ویروس تشخیص داده می‌شود. سابقه، نشانه‌های بالینی و جراحات شدید ایجاد شده، برای تشخیص موارد حاد بیماری کافی هستند. در موارد غیرحاد بیماری یا در مواردی که جراحات مشخص بورس فابریسیوس مشاهده نمی‌شود، تشخیص تفریقی ضروری است. تأیید تشخیص ممکن است با استفاده از بورس‌های له شده‌ی پرندگان مبتلا به عنوان پادکن سرم‌های مثبت استاندارد انجام گیرد. مشاهده‌های میکروسکوپی مقاطع بورس از نظر وجود جراحات مشخص و یا اثبات وجود پادکن‌های ویروسی در مقاطع بورس توسط ایمینوفلورسانس، روش‌های دیگر تأیید تشخیص خواهد بود. در مورد پادتن‌های خنثی‌کننده و رسوب‌دهنده باید گفت که این پادتن‌ها حتی به هنگام بهبودی از بیماری حضور دارند و نیز ممکن است وجودشان مربوط به عفونت تحت بالینی و یا در نتیجه‌ی واکسیناسیون باشد و از طرف دیگر، برخی عوامل می‌توانند تراکم و تداوم پادتن‌ها را تحت تأثیر قرار دهند؛ از جمله این عوامل، می‌توان حدت بیماری یا جدایه به کار رفته در واکسیناسیون، حضور پادتن‌های مادری به هنگام واکسیناسیون و احتمالاً نژاد پرنده را نام برد (17).

پادتن ضدویروس IBD با آزمایش‌های رسوب در ژل آگار ، خنثی کردن ویروس و الیزا قابل جستجو می‌باشد.

آزمایش رسوب در ژل آگار تفاوت بین سروتیپ‌ها را تعیین نمی‌نماید و تنها پادگن اختصاصی گروه^{۳۹} را اندازه‌گیری می‌کند (17). این آزمایش دارای حساسیت^{۴۰} کم ولی ویژگی^{۴۱} خوبی است. اشکال این روش نداشتن استاندارد خاص می‌باشد که باعث می‌شود نتایج آزمایشگاهی مختلف را با هم تطبیق داد. بسته به حساسیت مواد و روش کار استفاده شده در آزمایش و واکنش IBD بکار رفته در گله از نوع کم حدت ، دارای حدت متوسط و حدت زیاد نتایج متفاوت در آزمایش رسوب در ژل مشاهده خواهد شد. جهت بدست آوردن پادگن برای آزمایش رسوب در ژل باید بورس مبتلا را به نسبت هم حجمش با سرم فیزیولوژی سلایه کرده و با دور گُند (حدود 300×g) سلایه بدست آمده را سانترفیوژ نموده ، مایع رویی را به عنوان پادگن بکار برد. آزمایش AGP را به صورت نیمه کمی^{۴۲} نیز می‌توان انجام داد. بدین صورت که رقت‌های دو برابر سرم را تهیه کرده و آخرین رقت بوجود آورنده‌ی خط رسوبی را به عنوان عیار سرم در نظر گرفت. پادتن‌های رسوبی علیه ویروس IBD از 7 تا 10 روز پس از عفونت تا مدت یک سال قابل شناسایی می‌باشد. اگر طی 14 تا 21 بعد از واکنش‌سناسیون هنوز نتیجه‌ی آزمایش AGP منفی باشد ، یعنی واکنش‌سناسیون به طور صحیح انجام نشده و اگر زودتر مثبت شود یعنی آلودگی با ویروس بیماری‌زای IBD رخ داده است (47، 48 و 54).

آزمایش خنثی‌سازی ویروس روش دیگری جهت شناسایی و تعیین عیار پادتن‌های ضدویروس IBD در سرم خون می‌باشد. در این روش ابتدا از سرم ، رقت‌های دو برابر متوالی تهیه شده و درون میکروپلیتی که حاوی یک لایه کشت سلولی 24 ساعته فیبروبلاست جنین مرغ است، افزوده می‌شود. سپس برای هر گودی میکروپلیت ، مقدار معینی ویروس اضافه شده و به مدت 5 روز در دمای

1-Group-Specific Soluble Antigens
2-Sensitivity
3-Specificity
4-Semiquantitative