بسم الله

الرحمن

الرحيم

١١٢٨٩٦

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکتری عمومی دامپزشکی

عنوان

تاثیر بره موم برپاسخ ایمنی هومورال دربرابر واکسن کشته بیماری آنفلوانزا تحت تیپ(H9N2)

درجوجه های گوشتی

نگارش

اعظم باجلان

دکتر منصور میاحی

(استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهیدچمران اهواز) استاد راهنما

دکتر مسعودرضا صیفی

(استاد دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهیدچمران اهواز) مشاور

دکتر رمضانعلی جعفری

(استادیاردانشکده دامپزشکی دانشگاه شهیدچمران اهواز) داور

دکترمسعود قربانپور

(دانشیار دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهیدچمران اهواز) داور

۱۳۸۸/۳/۱۰

مرکز اطلاعات و مدارک علمی ایران

شهریورماه ۱۳۸۷

۱۱۲۵۹۶

بسمه تعالی

دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه دکترای حرفه ای دامپزشکی)

بدینوسیله گواهی می شود پایان نامه خانم **اعظم باجلان** دانشجوی رشته دکتری دامپزشکی ازدانشکده دامپزشکی به شماره دانشجویی ۸۱۵۸۰۶ تحت عنوان :

تاثیر بره موم برپاسخ ایمنی همورال دربرابر واکسن کشته بیماری آنفلوانزا(تحت تیپ H9N2) درجوجه های گوشتی

جهت اخذ درجه دکترای دامپزشکی درتاریخ ۸۷/۶/۲۶ توسط هیات داوران موردارزشیابی قرارگرفت وبا درجه **بسیارخوب** تصویب گردید.

	مرتبه علمی	امضاء
۱- اعضاء هیات داوران :		
الف- استادراهنما: دکترمنصورمیاحی	استاد	
ب- استادمشاور: دکترمسعودرضاصیفی	استاد	
ج- داوراول: دکتررمضانعلی جعفری	استادیار	
د- داوردوم: دکترمسعود قربانپور	دانشیار	
ه- نماینده تحصیلات تکمیلی دانشگاه (استادناظر): دکترنجف زاده	استادیار	
۲- مدیرگروه: دکترفریدون صابری افشار	دانشیار	
۳- معاون پژوهشی ونماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده:دکتررحیم حاجی حاجیکلاهی	دانشیار	
٤- مدیرکل تحصیلات تکمیلی دانشگاه : دکترعبدالرحیم	استادیار	

۱۳۸۸/۳/۱۰

تقدیم به اولین

با گذشت ترین

امید بخش‌ترین

صبورترین استادم

مادرم

تقدیم به همسرم که دنیاست

و

برادرم که بی همتاست

با تشکر فراوان

از اساتید گرانقدرم ، دکترمیاحی و دکتر صیفی که افتخار شاگردیشان را داشتم و در طول انجام این مطالعه زحمات زیادی را متقبل شدند.

از اساتید بزرگوارم ، دکتر جعفری و دکتر قربانپور که صادقانه و با حوصله در جهت هر چه بهتر شدن نتیجه ، داوری پایان نامه را به عهده داشتند.

ازاستاد صبورم ، دکتر نجف زاده که نظارت بر جلسه دفاع از پایان نامه به عهده ایشان بود.

عنوان..... شماره صفحه

فصل اول /مقدمه و هدف

مقدمه و هدف.....۲

فصل دوم/مروری بر منابع

الف - کلیاتی درباره بیماری آنفلوانزا ۵

الف –۱ -تاریخچه بیماری ۵

ب -سبب شناسی ۸

ب–۱ -طبقه‌بندی ۸

ب –۲ -خصوصیات ریخت‌شناسی ویروس ۹

ب-۳ -ترکیبات شیمیایی.....۱۰

ب-۴-مقاومت به عوامل فیزیکی و شیمیایی.....۱۰

ب-۵-نامگذاری ویروس های آنفلوانزا.....۱۱

ج-بیماریزایی ویروس آنفلوانزا.....۱۲

ج-۱-عوامل وابسته به ویروس.....۱۳

ج-۲-عوامل وابسته به میزبان..... ۱۳

د-خصوصیات پادگنی ویروس..... ۱۴

د-۱-پادگن های داخلی..... ۱۴

د-۲- پادگن های خارجی یا سطحی ۱۴

د-۳-تنوع پادگنی..... ۱۵

د-۳-۱تغییرات جزئی پادگنی..... ۱۵

د-۳-۲-تغییرات اساسی پادگنی..... ۱۵

ه-همه گیری شناسی..... ۱۶

و -ابتلای انسان به آنفلوانزای پرنده ۱۸

ز-انتقال بیماری..... ۲۰

ح-نشانه های بیماری..... ۲۱

ح-۱-دوره کمون..... ۲۱

ح-۲-نشانه های بیماری..... ۲۱

ح-۳-جراحات کالبد گشائی..... ۲۲

ح-۴-یافته های هیستوپاتولوژی..... ۲۴

ط-ایمنی زائی..... ۲۵

ط-۱ -ایمنی در برابر ویروس آنفلوانزا ۲۶

ط-۱-۱ -ایمنی غیر اختصاصی ۲۶

ط-۱-۲ -ایمنی اختصاصی ۲۶

ی-شناسائی ویروس آنفلوانزا..... ۲۷

ی-۱-آزمایش های شناسائی تیپ..... ۲۸

ی-۱-۱-آزمایش ایمنودیفوزیون در ژل آگار..... ۲۸

ی-۱-۲-آزمایش الیزا..... ۲۸

ی-۱-۳-آزمایش پادتن درخشان مستقیم و غیر مستقیم..... ۲۸

ی-۲-آزمایش های شناسائی تحت تیپ..... ۲۹

ی-۲-۱-آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون ۲۹

ی-۲-۲-آزمایش ممانعت از نور آمینیداز..... ۲۹

ک-آزمایش های سرولوژی در میزبان..... ۲۹

ک-۱- آزمایش ایمنودیفوزیون در ژل آگار..... ۲۹

ک-۲-آزمایش الیز ا..... ۳۰

ک-۳- آزمایش HI..... ۳۰

ک-۴- آزمایش NI..... ۳۱

ل- تشخیص تفریقی..... ۳۱

م-درمان..... ۳۱

ن-پیشگیری و کنترل..... ۳۲

ن-۱-رعایت ایمنی زیستی..... ۳۲

ن-۲-واکسیناسیون..... ۳۳

ن-۳-کنترل..... ۳۸

ص-معرفی بره موم ۳۸

ص-۱-ویژگی های فیزیکی بره موم ۳۹

ص-۲-ترکیبات بره موم ۳۹

ص-۳-اثرات فیزیولوژیکی بره موم ۴۰

ص-۴-محتوای مواد معدنی و ویتامین ها..... ۴۰

ص-۵-خواص بره موم..... ۴۱

فصل سوم/مواد وروش کار

الف –مواد مصرفی ۴۵

ب -وسایل مورد استفاده ۴۵

ج -آماده سازی محل نگهداری جوجه‌ها ۴۶

د -طرح آزمایش ۴۷

هـ -روش خونگیری و جدا کردن سرم ۴۸

و-۱ -تهیه گلبول قرمز شسته شده ۰/۵ درصد..... ۴۸

و-۲ -تعیین عیار آنتی‌ژن ویروس آنفلوانزا با آزمایش HA..... ۴۹

و-۳-آزمایش ممانعت از هماگلوتیناسیون(HI)..... ۵۰

ح -روش تجزیه و تحلیل آماری ۵۱

ز-روش تهیه عصاره هیدروالکلی بره موم..... ۵۱

فصل چهارم/نتایج

نتایج..... ۵۲

فصل پنجم/بحث و نتیجه‌گیری

بحث و نتیجه‌گیری ۵۵

پیشنهادات ۶۱

منابع ۶۲

فهرست جداول

عنوان.....شماره صفحه

جدول ۴-۱: مقایسه میانگین و انحراف معیار میانگین عیار پادتن ویژه واکسن آنفلوانزا بر مبنای لگاریتم ۲ در جوجه های گوشتی..... ۵۳

جدول ۴-۲ :مقایسه میانگین و انحراف معیار میانگین عیار پادتن ویژه واکسن آنفلوانزا در حالت استفاده و عدم استفاده ازبره موم در جوجه های گوشتی.....۵۴

چکیده پایان‌نامه

نام خانوادگی: باجلان	**نام:**اعظم
عنوان پایان‌نامه: تأثیر بره موم بر پاسخ ایمنی هومورال در برابر واکسن کشته بیماری آنفلوانزا(تحت‌تیپ H9N2) در جوجه های گوشتی	
استاد راهنما: دکتر منصور میاحی	
درجه تحصیلی: دکتری عمومی	**رشته:** دامپزشکی **گرایش:** دامپزشکی
دانشگاه: شهید چمران اهواز	
دانشکده: دامپزشکی	
تاریخ فارغ‌التحصیلی: ۱۳۸۷/۶/۲۶	**تعداد صفحه:** ۶۹
کلید واژه‌ها: بره موم، واکسن آنفلوانزا، محرک ایمنی، جوجه گوشتی	

بره موم از تولیدات فرعی زنبور عسل می باشد این ماده شامل ۲۵درصد موم،۵۰درصد صمغ،۵۰درصدروغن های فرار و۱۰درصد گرده گل می باشد. از تجزیه شیمیا ئی آن ترکیباتی مانند فلاونویید ها استخراج می شود که گزارشات زیادی در خصوص اثرات مثبت فلاونویید ها بر روی سیستم ایمنی وجود دارد. این مطالعه بر آن است تا تأثیر کاربرد یک ماده محرک سیستم ایمنی به نام بره موم را بر روند تولید پادتن علیه واکسن کشته آنفلوانزا مورد بررسی قرار دهد. بدین منظور ۱۲۰قطعه جوجه گوشتی یک روزه تهیه وبه طور تصادفی به۴ گروه مساوی A، B، Cو D تقسیم شدند.جوجه های گروه Aو B در روزهای ۷و۱۴ ، به ترتیب میزان ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلو گرم وزن بدن عصاره الکلی بره موم دریافت کردند. جوجه های گروه C ،فقط علیه بیماری آنفلوانزا واکسینه شدند. جوجه های گروه D ، علیه بیماری آنفلوانزا واکسینه نشدند و بره موم نیز دریافت نکردند. در روزهای صفر، ۷، ۱۴ و ۳۵ بعد از واکسیناسیون از ۱۰ قطعه از هر گروه به طور تصادفی خونگیری به عمل آمد و عیار پادتن ویژه واکسن آنفلوانزا به وسیله آزمایش ممانعت از هما گلوتینا سیون(HI) تعیین گردید. این بررسی نشان داد استفاده از بره موم تأثیر مثبتی بر ایمنی هومورال در برابر واکسن کشته آنفلوانزا داردو استفاده از آن باعث افزایش عیار پادتن ویژه آنفلوانزای پرندگان می شود.

فصل اول

مقدمه و هدف

افزایش جمعیت از یک سو و تامین پروتئین غذای جوامع از سوی دیگر موجب گشته تا برای رفع نیازهای تغذیه‌ای تلاش مستمری صورت گیرد. در این بین توجه به پرورش طیور به عنوان یکی از مهمترین منابع تامین‌کننده پروتئین مورد نیاز، مدنظر کشورهای مختلف قرار گرفته است. در کشور ما نیز در سالهای اخیر پرورش طیور از رشد بسیار بالایی برخوردار بوده است. این رشد سریع با مشکلات خاص خود همراه است که یکی از موارد نگران‌کننده مساله بیماری‌های طیور می‌باشد که بدون شک توجه خاص به آن، هم ازجنبه اقتصادی و جلوگیری از اتلاف سرمایه تخصص یافته و هم از لحاظ بهداشتی باید مورد نظر قرار گیرد.

بیماری آنفلوانزای پرندگان در زمره مشکلاتی است که زیانهای سنگین به طیور اهلی وارد ساخته است. عامل این بیماری، ویروسی از خانواده ارتومیکسوویریده است. در ایران در سال ۱۳۷۷، بیماری آنفلوانزا ناشی از تحت تیپ (H9N2) دراطراف تهران شایع گردید، سپس به سرعت در اکثر نقاط کشور انتشار یافت. با توجه به خسارات زیادی که این بیماری به واحدهای پرورش، بخصوص جوجه‌های گوشتی وارد آورده است. لازم است در جهت شناسایی دقیق و همه جانبه بیماری و همچنین ارائه راه‌حل‌های مقابله با آن، پژوهش و مطالعات وسیعی انجام گیرد. بعد از واگیری اولیه آنفلوانزا تحت تیپ (H9N2) در کشورمان، واکسیناسیون به عنوان یک راهکار جهت کنترل بیماری مطرح و مورد استفاده قرار گرفت. واکسن‌های آنفلوانزای کشته مصرفی عیار پادتن بالایی تولید نمی‌کنند و به نظر می‌رسد عدم تحریک اولیه سیستم ایمنی توسط واکسن،علت اصلی پایین بودن عیار پادتن می‌باشد. بطور کلی از آنجا که میان عیار پادتن بر ضد بسیاری از ویروس‌ها و میزان محافظت در برابر بیماری ارتباط مستقیمی وجود دارد، دانشمندان با استفاده از مواد تقویت کننده سیستم ایمنی، همراه با واکسن، همواره

سعی در افزایش عیار پادتن ضد ویروس‌ها دارند. یکی از این مواد بره موم می‌باشد. پژوهش حاضر تاثیر این ماده بر روند تولید پادتن ضد ویروس آنفلوانزا تحت تیپ (H9N2)در جوجه‌های گوشتی را مورد بررسی قرارمی دهد.

فصل دوم

مروری بر منابع

الف- کلیاتی در باره بیماری آنفلوانزا

بیماری آنفلوانزای طیور[1] یک بیماری ویروسی است که توسط ویروس آنفلوانزای تیپ A از خانواده ارتومیسکوویریده[2] ایجاد می‌گردد. این تیپ در طیور، انسان و دیگر پستانداران ایجاد بیماری می‌کند. این ویروس‌ها دستگاه تنفس و گوارش بسیاری از گونه های پرندگان را درگیر می‌کنند ولی بیماریزایی آنها در گونه‌های مختلف پرندگان متفاوت می‌باشد. گونه‌های پرندگان وحشی معمولاً بیماری بالینی را نشان نمی‌دهند اما برخی از ویروس‌های آنفلوانزا در ماکیان، بوقلمون و مرغ شاخدار سبب بیماری شدید و حتی مرگ و میر می‌شوند.

الف-۱- تاریخچه بیماری

طاعون ماکیان[3] یا آنفلوانزای طیور اولین بار در سال ۱۸۷۸ در ایتالیا توسط پیرونسیتو[4] به عنوان یک بیماری خطرناک میان ماکیان تعریف شد. سپس در سال ۱۹۰۱ پالایش پذیر بودن عامل بیماری و در سال ۱۹۳۰ ارتباط بین آنفلوانزای طیور و پستانداران تشخیص داده شد. این یافته‌ها به شناسائی یک سری از ویروس‌های آنفلوانزای طیور منجر شد که از نظر سرم‌شناسی از ویروس‌های عامل طاعون ماکیان متمایز بودند. سویه‌هایی که بیماری خفیف ایجاد می‌کردند، تحت عنوان ویروس آنفلوانزای تیپ A نامگذاری شدند. بعدها مشخص شد که ویروس‌های تیپ A نیز موجب شکل حاد بیماری در ماکیان می‌شوند (۱۵) . این بیماری در ایالات متحده امریکا برای اولین بار در سال ۲۵-۱۹۲۴ تشخیص داده

---

[1] -Avian Influenza
[2] - Orthomyxoviridae
[3] - Fowl plague
[4] - Perroncito

شده و در سال ۱۹۲۹ دو مرتبه رخ داد که در هر دو مورد بیماری ریشه‌کن شد. در سال ۸۴-۱۹۸۳ اپیدمی بزرگی از آنفلوانزای طیور به شدت بیماری زا (HPAI) [1] در شمال شرقی ایالات متحده بروز کرد که ریشه‌کنی این بیماری بیش از ۲ سال طول کشید و در طی این مدت حدود ۱۷ میلیون پرنده معدوم گردید. تا سال ۱۹۸۶ در ایالات متحده اپیدمی بزرگی از آنفلوانزای طیور با بیماریزای حاد دیده نشد ولی سویه‌هایی با بیماریزایی کم (LPAI) [2] وجود داشت که خسارات قابل توجهی را به صنعت پرورش ماکیان وارد می‌کرد. الکساندر [3] واگیری آنفلوانزا را از سال ۱۹۷۵ تا ۱۹۸۵ در نقاط مختلف شامل کشورها ی استرالیا (۱۹۸۵و۱۹۷۵)، انگلستان (۱۹۷۹)، ایالات متحده امریکا (۱۹۸۴-۱۹۸۳) و ایرلند (۱۹۸۴-۱۹۸۳) توصیف کرده است (۹).

در آوریل سال ۱۹۸۳ در ایالات پنسیلوانیا [4] از ایالات متحده امریکا از ماکیانی که مبتلا به بیماری حاد تنفسی با مرگ ومیر صفر تا ۱۵ درصد و کاهش تولید تخم بودند، ویروسی جدا شد که متعلق به تحت تیپ H5N2 بود و بر اساس آزمایشاتی که انجام گرفت این ویروس در گروه ویروسهای بسیار بیماریزا قرار نگرفت. عوارض عفونت با این ویروس در ۶ گله آلوده ادامه داشت تا اینکه در اکتبر ۱۹۸۳ میزان مرگ و میر به ۸۹-۵۰ درصد افزایش یافت و علایمی چون افسردگی شدید، لرزش و توقف کامل تولید تخم بروز کرد. ویروس جدا شده از این پرندگان، همان سویه H5N2 بود ولی این مرتبه بر اساس آزمایشات به عمل آمده به عنوان یک سویه بسیار بیماریزا معرفی شد (۹). اولین ویروس آنفلوانزا در بوقلمون در سال ۱۹۶۳ در امریکای شمالی جدا شد. گله‌های متعددی از بوقلمون‌ها به این ویروس آلوده بودند. اغلب تصور بر این بود که این ویروسها به وسیله پرندگان آبزی مهاجر وارد چرخه زندگی

---

[1] - High pathogenic Avian Influenza (HPAI)
[2] - Low Pathogenic Avian Influenza (LPAI)
[3] - Alexander
[4] - Pennsylvania

بوقلمون‌ها می‌شوند. در یک مورد ویروس H1N1 جدا شده از خوکها را از بوقلمون جدا کردند. این سویه را از بوقلمون‌های دارای نشانه‌های تنفسی و کاهش تولید تخم، جدا کردند (۹).

این ارتباط خوک و بوقلمون نشان داد که ویروسهای پستانداران می‌توانند موجب آلودگی و بیماری در پرندگان شوند(۱و۱۵). نمونه‌هایی از واگیری آنفلوانزا در مناطق مختلف جهان در سالهای اخیر شامل شیوع ویروس آنفلوانزا تحت تیپ H7N3 در منطقه کوئینزلند[1] استرالیا در سال ۱۹۹۴ و واگیری آنفلوانزای ناشی از سویه H5N1 در هنگ‌کنگ در سال ۹۸-۱۹۹۷ می‌باشد. از دسامبر ۱۹۹۹ تا آوریل ۲۰۰۰ در ایتالیا، ۴۱۳ مورد همه‌گیری آنفلوانزا اتفاق افتاد. در این مدت ۱۴ میلیون پرنده در اثر این بیمای تلف شدند.

در آغاز سال ۲۰۰۴ شیوع آنفلوانزای طیور با بیماریزایی بالا تحت تیپ H5N1 در کشورهای کامبوج، چین، اندونزی، ژاپن، لائوس، کره جنوبی، تایلند و ویتنام گزارش شد (۱۸). در ایران در تیرماه ۱۳۷۷ یک نوع بیماری با نشانه‌هایی شبیه بیماری نیوکاسل در چندین واحد پرورش و نگهداری مرغ تخم‌گذار و مرغ مادر گوشتی، باعث تلفات و افت تولید گردید. پس از نمونه برداری های لازم توسط سازمان دامپزشکی کشور و ارسال نمونه‌ها به مراکز تشخیص داخل و خارج از کشور، ویروس آنفلوانزا تحت تیپ (H9N2) از نمونه‌های ارسالی جدا گردید. نام کامل ویروس(H9N2)259/1998/ ایران/ ماکیان/A قرار داده شده و جزء ویروس‌های کم حدت طبقه‌بندی گردید. کانون‌های اولیه بیماری، استان‌های تهران و قزوین بودند اما به تدریج سایر استان‌ها هم‌آلوده شدند. امروزه در اکثر نقاط ایران این بیماری شایع است (۱ و ۱۵).

[1] - Quinzland