دانشگاه تربیت مدرس
دانشکده کشاورزی
گروه پرورش وتولید طیور

پایان‌نامه کارشناسی ارشد

عنوان پایان‌نامه

اثر آنتی بادی اختصاصی زرده تخم مرغ(*IgY*) علیه *اشریشیاکلی* در جوجه های گوشتی

نگارش و پژوهش:

مریم شفیعی

استاد راهنما:

دکتر شعبان رحیمی

استاد مشاور:

دکتر محمد امیر کریمی ترشیزی

خرداد ۹۲

بسم الله الرحمن الرحيم

تایید اعضای هیأت داوران حاضر در جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

اعضای هیأت داوران نسخه ی نهائی پایان نامه خانم مریم شفیعی تحت عنوان : اثر آنتی بادی اختصاصی زرده تخم مرغ (IgY) علیه *اشریشیاکلی* در جوجه‌های گوشتی را از نظر فرم و محتوی بررسی نموده و پذیرش آن را برای تکمیل درجه کارشناسی ارشد پیشنهاد می کنند.

اعضای هیأت داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه ی علمی	امضاء
۱- استاد راهنما	دکتر شعبان رحیمی	استاد	
۲- استاد مشاور	دکتر محمد امیر کریمی ترشیزی	استاد یار	
۳- نماینده شورای تحصیلات تکمیلی	دکتر فرید شریعتمداری	استاد	
۴- اساتید ناظر: ۱- داخلی	دکتر فرید شریعتمداری	استاد	
۲- خارجی	دکتر تقی زهرایی صالحی	استاد	

بسمه تعالی

آیین نامهٔ چاپ پایان نامه(رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبیّنبخشی از فعالیتهای علمی-پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

مادّه ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به **دفتر نشر آثار علمی** دانشگاه اطلاع دهد.

مادّه ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل پایان نامهٔ کارشناسی ارشد/ رسالهٔ دکتری نگارنده در رشته پرورش و تولید طیور است که در سال ۱۳۹۲ در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرّس به راهنمایی جناب آقای دکتر شعبان رحیمی، مشاورهٔ جناب آقای دکتر محمد امیر کریمی ترشیزی از آن دفاع شده است"

مادّه ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به **دفتر نشر آثار علمی** دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

مادّه ۴ در صورت عدم رعایت مادّه ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

مادّه ۵ دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادّه ۴ را از محلّ توقیف کتابهای عرضه شدهٔ نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

مادّه ۶ اینجانب مریم شفیعی دانشجوی رشته پرورش و تولید طیور مقطع کارشناسی ارشد تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: مریم شفیعی

تاریخ و امضاء: ۱۳۹۲/۰۴/۰۸

آیین‌نامه حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهشهای علمی

دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست‌های پژوهشی و فناوری دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسانها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیأت علمی، دانشجویان، دانش‌آموختگان و دیگر همکاران طرح، در مورد نتایج پژوهشهای علمی که تحت عناوین پایان‌نامه، رساله و طرحهای تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد زیر را رعایت نمایند:

ماده ۱- حق نشر و تکثیر پایان نامه/ رساله و درآمدهای حاصل از آنها متعلق به دانشگاه می باشد ولی حقوق معنوی پدید آورندگان محفوظ خواهد بود.

ماده ۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان‌نامه/ رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی باید به نام دانشگاه بوده و با تایید استاد راهنمای اصلی، یکی از اساتید راهنما، مشاور و یا دانشجو مسئول مکاتبات مقاله باشد. ولی مسئولیت علمی مقاله مستخرج از پایان نامه و رساله به عهده اساتید راهنما و دانشجو می باشد.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش‌آموختگی بصورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان‌نامه/ رساله نیز منتشر می‌شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده ۳- انتشار کتاب ، نرم افزار و یا آثار ویژه (اثری هنری مانند فیلم، عکس، نقاشی و نمایشنامه) حاصل از نتایج پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرحهای تحقیقاتی کلیه واحدهای دانشگاه اعم از دانشکده ها، مراکز تحقیقاتی، پژوهشکده ها، پارک علم و فناوری و دیگر واحدها باید با مجوز کتبی صادره از معاونت پژوهشی دانشگاه و براساس آئین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه یافته ها در جشنواره‌های ملی، منطقه‌ای و بین‌المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان‌نامه/ رساله و تمامی طرح‌های تحقیقاتی دانشگاه می باشد، باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده ٥- این آیین‌نامه در ٥ ماده و یک تبصره در تاریخ ۸۷/٤/۱ در شورای پژوهشی و در تاریخ ۸۷/٤/۲۳ در هیأت رئیسه دانشگاه به تایید رسید و در جلسه مورخ ۸۷/۷/۱۵ شورای دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب در شورای دانشگاه لازم‌الاجرا است.

تقدیم به

پدر و مادر عزیزم

که در لحظه های سجودشان هیچگاه مرا از یاد نبردند.

تقدیر و تشکر

سپاس تو را که راه را نشانم دادی و اهدنا الصراط المستقیم و سپاس تو را که آموختن را به من آموختی که من علمنی عرفاً فقد صیرنی عبدا.

سپاس تو را که روحت را در من دمیدی و وجودم دادی و سپاس تو را که علمت را به من دادی و آموخته شدم.

سپاس تو را که لذت دیدن طلوع را به من دادی و سپاس تو را که سیاهی ندانستن را ازمن زدودی و هزاران سپاس برای تو و تو.....

بر خود لازم می دانم از زحمات ارزشمند استاد راهنمای گرامی جناب آقای دکتر شعبان رحیمی تشکر کنم. و همچنین از جناب آقای دکتر محمد امیر کریمی ترشیزی به خاطر کمک های بی دریغشان به عنوان استاد مشاورتقدیر وتشکر می کنم.و مراتب سپاس خود را به حضور اساتید گرامی آقایان دکتر فرید شریعتمداری و دکتر واعظ ترشیزی تقدیم می دارم.

چکیده

هدف از انجام این تحقیق بررسی تأثیر مصرف ایمونوگلوبین *Y (IgY)* اختصاصی *اشریشیاکلی* سروتیپ *O2: K1*، برمیزان تکثیر باکتری در محتویات ایلئوم، تاثیر آن بر مرفولوژی مخاط روده، شمار هتروفیل به لنفوسیت و نسبت آلبومین به گلوبولین سرم خون بوده و همچنین وزن بدن، مصرف خوراک و ضریب تبدیل غذایی نیز مورد ارزیابی قرار گرفته است. درآزمایش اول، مرغ‌های تخم‌گذار تترا-اس ال قهوه‌ای *(TSL)* باآنتی‌ژن کامل *اشریشیاکلی* سروتیپ *O2:K1* ایمن شدند. در تزریق نخست، از ۲۵۰ میکروگرم ازآنتی‌ژن همراه با ۲۵۰ میکروگرم ادجوانت کامل فروند استفاده شد. دوز یادآور، سه مرتبه ودرفواصل ۱۴ روز، تزریق دوم و سوم با ماده ادجوانت ناقص فروند و تزریق چهارم بدون ادجوانت انجام شد. خون‌گیری و جمع‌آوری تخم‌مرغ‌ها۱۰روزپس از نخستین تزریق آنتی‌ژن انجام گرفت. درآزمایش دوم،۱۸۰قطعه جوجه نرگوشتی یک‌روزه (سویه کاپ) در۶ گروه، شامل ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۱۰ قطعه پرنده به مدت ۴۲ روز پرورش داده شدند گروه های آزمایشی شامل گروه ۱کنترل مثبت با تلقیح باکتری+ بدون دریافت آنتی‌بادی، گروه ۲کنترل منفی بدون تلقیح باکتری+ بدون دریافت آنتی بادی، گروه ۳ تلقیح باکتری+ دریافت آنتی‌بادی در جیره غذایی، گروه ۴ تلقیح باکتری+ دریافت آنتی بادی در آب آشامیدنی، گروه ۵ دریافت آنتی بادی در آب آشامیدنی، گروه ۶ دریافت آنتی‌بادی در جیره غذایی نتایج نشان داد که شمارش باکتری درایلئوم گروه‌هایی که آنتی‌بادی اختصاصی ضد *اشریشیاکلی*دریافت کرده‌اند به طورمعنی‌داری نسبت به گروه کنترل مثبت کاهش یافت ($P<۰/۰۵$). همچنین آنتی بادی اختصاصی سبب بهبود سلامت روده در گروه های دریافت کننده آنتی بادی نسبت به گروه کنترل مثبت(تلقیح باکتری بدون دریافت آنتی بادی) گردید. ($P<۰/۰۵$) گروه کنترل منفی و گروه دریافت کننده آنتی بادی در آب آشامیدنی بیشترین افزایش وزن بدن را نسبت به سایر گروه ها داشتند ($p< ۰/۰۵$) در بین گروه‌های مختلف از نظر میانگین مصرف خوراک

روزانه، ضریب تبدیل غذایی اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($p< ۰/۰۵$) بیشترین نسبت آلبومین به گلبولین در گروه کنترل مثبت و کمترین آن در گروه های دریافت کننده آنتی بادی در آب آشامیدنی و جیره غذایی مشاهده گردید.

واژگان کلیدی: *اشریشیاکلی*، ایمونوگلوبولین Y ، پودر زرده، عملکرد، جوجه گوشتی

فهرست مطالب

عنوان ..... صفحه
فصل ۱ ..... ۲
۱-۱- مقدمه ۲
۱-۲- موضوع *پژوهش* ۶
۱-۳- اهداف پژوهش ۷
فصل ۲ مروری بر منابع ۱۰
۲-۱- اشریشیاکلی ۱۰
۲-۱-۱- طبقه بندی ۱۱
۲-۱-۲- خصوصیات شکلی ۱۲
۲-۱-۳- خصوصیات کشت ۱۳
۲-۱-۴- سروتایپینگ و ساختار پادگنی ۱۳
۲-۱-۵- آنتی ژن دیواره میکروبی یا آنتی ژن *O* ۱۴
۲-۱-۵-۱- لیپید *A* ۱۴
۲-۱-۵-۲ بخش مرکزی یا قسمت اساسی آنتی ژن ۱۴
۲-۱-۵-۳- آنتی ژن *K* ۱۵
۲-۱-۶- آنتی ژن *H (Flagellar antigen)* ۱۵
۲-۱-۷ بیماریهای ناشی از سویه های بیماری زای *E.coli* در پرندگان (*APEC*) ۱۶
۲-۱-۸- فاکتورهای بیماری زایی *APEC* ۱۸
۲-۲- ایمنوگلبولین ها ۲۲
۲-۲-۱- پادگن ۲۲
۲-۲-۲- پادتن ۲۳
۲-۲-۳- سیستم ایمنی ۲۴
۲-۲-۴- سیستم ایمنی مادرزادی ۲۵
۲-۲-۵- سیستم ایمنی اکتسابی ۲۶
۲-۲-۶- ایمنی غیرفعال در مقابل ایمنی فعال ۲۷
۲-۲-۷- آنتی‌بادی زرده و ایمنی غیرفعال ۲۸
۲-۲-۸- ایمنوگلبولینها در ماکیان ۲۸
۲-۲-۹- ساختار مولکول *IgY* ۲۹
۲-۲-۱۰- تنوع ایمنوگلبولینها در ماکیان ۳۰
۲-۲-۱۱- خصوصیات بیوشیمیایی *IgY* ۳۱

۲-۳- عدم فعالسازی سیستم کمپلمان ۳۲
۲-۴- تولید پادتن ۳۲
۲-۴-۱- ایمونیزاسیون ۳۴
۲-۵- روشهای جدا سازی ایمنوگلوبولین *Y* ۳۵
۲-۶- *کاربرد IgY* به عنوان یک وسیله‌ی ایمنولوژیک ۳۶
۲-۶-۱- تشخیص‌های پزشکی ۳۶
۲-۶-۲- *IgY* به عنوان یک لیگاند جاذب ایمنی ۳۹
۲-۶-۳- استفاده خوراکی از ایمنوگلبولین ها ۴۰
۲-۷- روشهای ایمن سازی مورد استفاده ۴۷
۲-۸- روشهای خالص سازی ۴۷
۲-۹- روش های آنالیز مورد استفاده ۴۸
۲-۹-۱- تست الیزا (*ELISA*) ۴۸
فصل ۳ مواد و روش ها ۵۰
۳-۱- آزمایش اول ۵۰
۳-۱-۱- تولید باکترین *اشریشیاکلی* ۵۰
۳-۱-۲- آماده سازی باکتری برای تلقیح ۵۰
۳-۱-۳- تهیه آنتی بادی ۵۱
۳-۱-۴- زمان و نحوه خونگیری از مرغ ۵۲
۳-۱-۵- استخراج پادتن از زرده تخم مرغ ۵۲
۳-۱-۶- تهیه پودر زرده حاوی آنتی بادی اختصاصی اشریشیاکلی سروتیپ *O2:K1* ۵۲
۳-۲- آزمایش مهار رشد باکتری *اشریشیاکلی* سویه *O2:K1* در حضور آنتی بادی اختصاصی. ۵۳
۳-۲-۱- پروتکل استخراج آنتی بادی *Polson et al., 1980* ۵۳
۳-۲-۲- آزمون مهار رشد باکتری اشریشیاکلی توسط *IgY* ۵۴
۳-۳- آزمایش دوم ۵۴
۳-۳-۱- آزمایشهای مزرعه ای ۵۵
۳-۳-۱-۱- محل و زمان انجام آزمایش ۵۵
۳-۳-۱-۲- آماده سازی سالن ۵۵
۳-۳-۱-۳- مدیریت پرورش ۵۵
۳-۳-۱-۴- برنامه واکسیناسیون ۵۶
۳-۳-۱-۵- مدل آماری طرح ۵۶
۳-۳-۱-۶- گروه های آزمایشی ۵۷
۳-۳-۱-۷- تلقیح باکتری ۵۸

۳-۳-۲- متغیرهای اندازه گیری شده در رابطه با عملکرد ۵۸
۳-۳-۲-۱- اندازه گیری وزن بدن ۵۸
۳-۳-۲-۲- افزایش وزن ۵۸
۳-۳-۲-۳- اندازه‌گیری میزان خوراک مصرفی ۵۹
۳-۳-۲-۴- ضریب تبدیل غذایی ۶۰
۳-۴- شمارش باکتری محتویات ایلئوم پرندگان ۶۰
۳-۵- نسبت هتروفیل به لنفوسیت ۶۱
۳-۵-۱- رنگ آمیزی رایت (*Wright's staining*) ۶۱
۳-۵-۲- روش رنگ آمیزی رایت ۶۱
۳-۵-۳- مشاهده لام‌ها در زیر میکروسکپ ۶۲
۳-۶- تعیین غلظت پروتین کل ،آلبومین و گلوبولین سرم خون ۶۲
۳-۷- بررسی مورفولوژی روده باریک (ژژونوم) ۶۲
۳-۷-۱- آماده سازی نمونه‌ها ۶۳
۳-۷-۲- رنگ‌آمیزی نمونه‌ها ۶۴
۳-۷-۳- مشاهده نمونه‌ها در زیر میکروسکوپ ۶۵
فصل ۴ نتایج و بحث ۶۷
۴-۱- بخش اول ۶۷
۴-۱-۱- آزمایش مهار رشد باکتری اشریشیاکلی در حضور آنتی بادی اختصاصی ۶۷
۴-۲- بخش دوم ۶۸
۴-۲-۱- شمارش باکتری در محتویات ایلیوم پرندگان ۶۸
۴-۲-۲- بررسی صفات پرز ژژونوم در ۴۲ روزگی ۷۵
۴-۳- بررسی نسبت هتروفیل به لنفوسیت ۷۹
۴-۴- بررسی عملکرد ۸۱
۴-۴-۱- بررسی میانگین افزایش وزن روزانه ۸۱
۴-۴-۲- میانگین مصرف خوراک روزانه ۸۱
۴-۴-۳- بررسی ضریب تبدیل غذایی ۸۲
۴-۵- بررسی فاکتورهای سرمی خون پرندگان ۸۳
۴-۶- بحث ۸۴
۴-۷- نتیجه گیری کلی ۸۷
۴-۸-پیشنهادات ۸۸

فهرست جداول

عنوان ..... صفحه

جدول۲-۱ IgY خاص بر علیه انوع باکتری ها و بیماری های ویروسی درانسان، حبوان و کشاورزی..... ۴۴

جدول۳- ۱ برنامه و نحوهٔ واکسیناسیون در آزمایش..... ۵۶

جدول۳-۲ آبگیری نمونه ها با الکل اتیلیک..... ۶۳

جدول ۳-3 مراحل رنگ‌آمیزی نمونه‌ها..... ۶۴

جدول ۴-۱ تست مهاررشدباکتری اشرشیاکلی سویه$O2:K1$درشرایط برون تنی..... ۹۰

جدول ۴-۲ شمارش میکروبی محتویات ایلئوم در سن ۲۱ و ۴۲ روزگی..... ۹۲

جدول ۴-۳ اثرتیمارهای آزمایشی بر مرفولوژی پرز ژژونوم در ۴۹ روزگی..... ۹۳

جدول ۴-۳ اثرتیمارهای آزمایشی بر مرفولوژی پرز ژژونوم در ۴۹ روزگی..... ۹۴

جدول ۴-۵میانگین افزایش وزن بدن (گرم)..... ۹۵

جدول ۴-۶ میانگین خوراک مصرفی(گرم)..... ۹۶

جدول ۴-۷ ضریب تبدیل غذایی جوجه های گوشتی..... ۹۷

جدول ۴-۸ اثراستفاده از آنتی بادی اختصاصی بر اجزای پروتئین سرم خون..... ۹۸

فصل اول

فصل ۱

۱-۱- مقدمه

صنعت طیور در قرن ۲۱ با چالش‌های جدیدی روبرو می‌باشد. سازمان غذا وکشاورزی (FAO, 2003) اعلام کرد که جمعیت جهان تا سال۲۰۵۰ میلادی به ۹/۳ میلیارد نفر خواهد رسید. این در حالی است که میزان زمین‌های قابل کشت نیز از ۰/۲۶ هکتار به ۰/۱۵ هکتار به ازای هر نفر کاهش خواهد یافت. انتظار می‌رود تا سال ۲۰۳۰میزان نیاز مردم به گوشت مرغ و خوک دو برابر میزان کنونی باشد. بر اساس طرح‌های بین المللی مصرف گوشت مرغ از ۱۱ کیلوگرم در سال ۲۰۰۰ به ۱۶ کیلوگرم به ازای هر نفر در سال ۲۰۲۰ خواهد رسید(Rosegrant *et al.*,1999)، که بیان‌گر یک افزایش ۴۵ درصدی در مصرف سالانه می‌باشد. برای تامین نیاز بشر به گوشت مرغ تا سال ۲۰۵۰بایستی میزان تولید بیش از دو برابر کنونی افزایش یابد.

برای دست یابی به این هدف بایستی طول دوره رشد جهت رسیدن به وزن ۲/۳ کیلوگرم، حداقل ۱۰ روز نسبت به دوره معمول پرورش جوجه‌های گوشتی کاهش یابد[۱] بعلاوه، صنعت طیور برای نائل آمدن به این هدف نیازمند دسترسی به خوراک ارزان قیمت، بهبود سطح ایمنی و محصولات خود می‌باشد. علاوه براین عدم استفاده از داروهای محرک رشد باعث شده است که دسترسی به این هدف مشکل گردد(Adams, 2002). از سوی دیگر پیشگیری و درمان بیماری‌ها اولین نگرانی حاکم بر پرورش حیوانات اهلی و طیور می‌باشد. بنابراین تولید کنندگان، دامپزشکان و متخصصین پرورش حیوانات اهلی از جمله متخصصین علم تغذیه، فیزیولوژی و ژنتیک با تمرکز بر کاهش هزینه مصرفی در جهت افزایش مقاومت حیوانات در مقابل امراض، میزان سود نهایی را افزایش می‌دهند. در واقع، مصرف کنندگان محصولات دامی به میزان زیادی تحت تاثیر هزینه ناشی از بهبود سلامت حیوان قرار

[۱] *Dr. J.Hardiman, Vice President Of Research And Development, Cobb-Vantress Inc., Personal Communication, 2005*

می‌گیرند. در نتیجه، بیشتر تلاش ها و هزینه ها به طور مستقیم در جهت کاهش شدت بیماری‌ها صورت می‌گیرد.

در این بین کاهش بار میکروبی جمعیت کلی‌فرم‌ها به خصوص اشریشیاکلای از اهمیت خاصی برخوردار است. باکتری اشریشیاکلای از خانواده باکتری گرم منفی،متعلق به خانواده انترو باکتریاسه می‌باشد و یکی از گونه‌های اصلی باکتریایی در روده باریک پستانداران بوده که تحت عنوان فلور روده شناخته می‌شود. با این حال برخی از سویه‌های خارج روده‌ای که به عنوان پاتوژن خارج روده‌ای شناخته شده‌اند (Apec[1]) سبب بیماری کلی‌باسیلوز در پرندگان می‌شوند (Delicato *et al*., 2003; Rodriguez-siek *et al*., 2005).

سروتیپ‌هایی که سبب عفونت خارج روده‌ای می‌شوند طیف وسیعی از بیماری‌ها از جمله عفونت دستگاه ادراری، مننژیت در نوزادان و سپتیسمی را ایجاد می‌نمایند(Rodriguez-Siek *et al*., 2005a; Ewers *et al*., 2004; Zhao *et al*., 2009).

سویه‌های پاتوژن خارج روده‌ای *اشریشیاکلی* که به عنوان سویه‌های درگیر در بیماری‌های انسانی و بیماری کلی‌باسیلوز طیور محسوب می‌شوند، شامل سروتیپ های O1، O2 و O78 می‌باشند. بیماری‌های ناشی از این سروتیپ ها ابتدا با عفونت دستگاه تنفسی شروع شده و پس از عبور از موانع بافتی وارد جریان خون شده و منجر به سپتیسمی در اندام‌های داخلی و بیماری سپسیس (sepsis) در مرغ و گوسفند می‌شوند (Gophna *et al*., 2001).

بیماری کلی باسیلوز عموما مربوط به ماکیان بوده و اشاره به هرگونه عفونت موضعی و سپتیسمی داشته که به طور کامل و یا تا حدودی توسط *اشریشیاکلی* ایجاد می‌شود به طوری که این بیماری مهلک علت اصلی مرگ و میر و تلفات در صنعت طیور در سراسر جهان می‌باشد. درچند سال

[1]- *Avian Pathogenic E. coli*

اخیر بروز و شدت کلی‌باسیلوز طیور به سرعت افزایش یافته و ممکن است به یک مشکل جدی در صنعت طیور تبدیل شود. در عفونت‌های ویروسی (ایجاد شده در انسان و حیوانات)، عفونت‌های مایکوپلاسمایی و یا تنش‌های زیست محیطی، پاتوژن *اشریشیاکلی*(Apec)، سروتیپ‌های۱ ,O78 , O2,O(مخصوصا سروتیپO۲, O۷۸) بیش از ۸۰٪ درصد علل عفونت ثانویه را در این بیماری‌ها شامل می‌شود (Ewers *et al*., 2004; Gomis *et al*., 2001; Altekruse *et al*., 2002).

پاتوژن‌های خارج روده‌ای *اشریشیاکلی* به علت مقاومت دارویی قابل انتقال به پلاسمیدها مشکل بزرگی برای بهداشت انسانی می‌باشند و علل اصلی مرگ و میر در بین بیماران دارای نقص سیستم ایمنی (بیماران مبتلا به ایدز و سرطان، افراد مسن وکودکان) می باشد. رویکرد پیشگیری وکنترل عفونت (Apec) در صنعت طیور شامل بهبود روش های بهداشتی، واکسیناسیون، استفاده از روش‌های حذف رقابتی و ضد میکروبی می‌باشد بنابراین با توجه به افزایش مقاومت دارویی و باقی ماندن این مواد در تولیدات طیور بایستی به فکر روش‌های جایگزین بود (Gomis *et al*., 2003; La Ragione *et al*., 2004; Knezevic and Petrovic, 2008).

استفاده از تخم مرغ به عنوان حامل فاکتورهای بیولوژیک مختلف در چند دهه اخیر مورد توجه قرار گرفته و از آن جایی که تخم مرغ در سبد غذایی انسان‌ها به طور معمول استفاده می‌شود تحقیقات در مورد تخم مرغ‌های غنی سازی شده با آنتی بادی‌های اختصاصی جهت درمان و کاهش میزان مصرف داروها و آنتی بیوتیک‌ها به طور وسیع در حال انجام است.

گونه‌های مختلف موجودات استراتژی متفاوتی در ارتباط با تولید پادتن[۱] ها بر علیه پاتوژن‌ها دارند. نخستین بار در سال ۱۸۹۳، کلمپر[۲] وجود ایمنی اکتسابی از نوع غیر فعال[۳] را با بیان انتقال

[۱] -*Antibody*

[۲] -*Klempere*

[۳] -*Passive*

ایمنی در برابر سم تتانوس[۱] از مرغ به جوجه های حاصل از آن را به اثبات رسانید (Klempere *et al*., 1893).

ایمنوگلوبولین Y(IgY) مهم‌ترین پادتن موجود در تخم مرغ[۲] طیور[۳] است. از IgY می‌توان بجای پادتن‌های پستانداران در تحقیقات معمول استفاده کرد و اخیرا استفاده از آن در ایمنوتراپی[۴] نیز مرسوم شده است. در مقایسه با پادتن های پستانداران، IgY خصوصیات بیوشیمیایی خاصی دارد و جداسازی ساده آن از تخم مرغ استرس ناشی از انتقال و خونگیری را برطرف کرده است (Carlander, 2002).

ایمنوگلوبولین‌های طیور در سه کلاس IgA، IgM و IgY(IgG) طبقه بندی می‌شوند. زرده تخم مرغ فاقد IgA و IgM و سفیده فاقد IgY می‌باشد. نخست IgY از سرم مادر به رسپتورهای مربوطه بر روی اووسیت متصل شده و در زرده تجمع می‌یابد، مشابه حالتی که پادتن ها از طریق جفت پستانداران به جنین منتقل می‌شود، در مرحله دوم IgY از کیسه زرده به جنین در حال رشد منتقل می‌شود. فرایند انتقال این مولکول از سرم به زرده بدون هیچ انتخابی صورت می‌گیرد و مقدار آن به تناسب غلظت مولکول در سرم مادری می‌باشد(Li *et al*., 1998; Carlander, 2002). غلظت IgY در تخم مرغ mg ۴۰۰-۱۰۰ است. مولکول IgY به عنوان پادتن سرم پرندگان، خزندگان و دوزیستان شناخته شده، در حالی که IgG فقط در پستانداران مشاهده می‌شود. قطعه Fab [۵] در مولکول IgY به ناحیه اپی تپ آنتی ژن متصل می‌شود، این آنتی ژن اختصاصی می‌تواند باکتری، ویروس، مواد سمی یا سرطان زا باشد (Carlander, 2002; Tini *et al*., 2002). عملکرد بالقوه IgY در

---

[۱] -*Tetanus*

[۲] -*The major immunoglobulin found in the egg*

[۳] -*Gallus domesticus*

[۴] -*Immunotherapy*

[۵] -*Fragment antigen binding*

مقایسه با IgG پستانداران، استفاده از آن را به عنوان یک داروی پیشگیری کننده و یک مکمل ایمنی خوراکی علاوه بر یک مکمل غذایی کاربردی، بهبود داده است (Sim *et* ، 2001; Carlander، 2002 *al.*, 1994; Frendscho

مقدار بسیار کمی از آنتی ژن (1µg) را می توان جهت تحریک پاسخ ایمنی بکار برد و تفاوت انفرادی کمی در میزان غلظت IgY در زرده تخم مرغ وجود دارد. مطالعه دو نژاد مرغ و نژاد حاصل از تلاقی آنها نشان داد همبستگی ژنتیکی در رابطه با میزان IgY وجود دارد که از آن می توان در افزایش غلظت IgY از طریق انتخاب ژنتیکی استفاده کرد. ایمنوگلوبولین درمانی از ایجاد میکروارگانیسم‌های مقاوم در برابر آنتی بیوتیک‌ها می‌کاهد. استفاده از IgY به عنوان جایگزینی برای آنتی بیوتیک‌ها و ابزاری در تحقیقات در حال گسترش است (Carlander, 2002).

۱-۲- موضوع پژوهش

عدم واکنش متقاطع IgY با سیستم کمپلمان پستانداران و وابستگی[۱] بالای آن برای پروتئین پستانداران، عدم تولید بقایای سمی در محیط، بر خلاف آنتی بیوتیک‌ها، از مهم ترین مزایای تولید آن در طیور محسوب می‌گردد(Carlander، 2002; Hendriksen, 2002). مصرف پادتن‌های اختصاصی بر علیه پاتوژن‌های میزبان هم در انسان و هم در حیوانات، به عنوان روش جالبی به منظور ایجاد ایمنی غیر فعال و افزایش مقاومت در مقابل عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود (Mine *et al.*, 2002; Kruger, 2004).

یک پادتن با اتصال به ضمایم مولکولی آنتی ژن که بازوی چسبندگی پاتوژن برای اتصال به گیرنده‌های سطحی اندام‌های میزبان می‌باشند، آن را به اسارت خود در می‌آورد (کرمانشاهی و همکاران، ۱۳۸۳؛ Carlander, 2002).

---

[۱] -*Affinty*

مطالعه در زمینه IgY و استفاده از آن در شرایط آزمایشگاهی و یا بر روی موجود زنده از چندین جنبه جالب توجه می‌باشد و نه تنها به خاطر تفاوت‌های بیوشیمیایی در مقایسه با IgG پستانداران، بلکه استفاده از آن در پیشگیری از عفونت‌ها به عنوان جانشین آنتی بیوتیک‌ها یا توام با آنها مد نظر بوده است. سطوح پایین آنتی‌ژنی مورد نیاز جهت ایجاد پاسخ ایمنی و تولید پادتن (µg ۱)، جمع آوری آسان تخم مرغ‌ها، هزینه پایین پرورش مرغ در مقایسه با پستانداران بزرگ، تکنیک ساده خالص سازی و نشان دار کردن IgY، اجرای بهتر آزمایش‌های ایمنولوژیکی، پتانسیل بالای IgY در پیشگیری و درمان، وجود تفاوت‌های درون فردی اندک و وجود همبستگی ژنتیکی در ارتباط با صفت غلظت پادتن در زرده تخم‌مرغ، عدم فعال سازی سیستم کمپلمان انسان توسط IgY، عدم نیاز به خونگیری از حیوان و کاهش استرس در حیوان، عدم واکنش با رسپتورهای انسانی به عنوان مسبب اصلی پاسخ‌های التهابی و حساسیت پوستی و عدم تولید بقایای سمی در محیط بر خلاف آنتی بیوتیک‌ها، از مهم‌ترین مزیت های تولید پادتن‌های پلی‌کلونال در طیور محسوب می‌شوند (Carlander, 2002; Tini *et al.*, 2002; Mine and Kovacs-Nolan, 2002; Bartz *et al.*,1980; Meulenaer *et al.*, 2001; Gassmann *et al.*, 1990; Shin *et al.*, 2002; Narat, 2003) .

۱-۳- اهداف پژوهش

افزایش شیوع باکتری اشریشیاکلی بین انسان و طیور در دهه‌ی اخیر و همچنین افزایش مقاومت باکتریایی در برابر مصرف آنتی بیوتیک‌های مرسوم، نیاز به استفاده از روشی که مکمل و یا حتی جایگزین آنتی‌بیوتیکها ضروری‌تر جلوه می‌نماید. مصرف آنتی‌بادی‌های اختصاصی (سرم درمانی) علیه پاتوژن‌های میزبان در انسان و حیوانات، به‌عنوان روش جالبی به‌منظور ایجاد ایمنی پاسیو (غیر فعال) و افزایش مقاومت در مقابل عوامل بیماری‌زا محسوب می‌شود.